

**Univerzita Hradec Králové**

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

**Testování přípravků s obsahem tenzidů a detergentů pomocí testů  
toxicity**

Bakalářská práce

Jméno: Gabriela Kultová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Vedoucí práce: Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D.

Oponent práce: Ing. Lucie Trnková, Ph.D.

Hradec Králové

2016

## **Zadání bakalářské práce**

Jméno: Gabriela Kultová  
Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie  
Název závěrečné práce: Testování přípravků s obsahem tenzidů a detergentů pomocí testů toxicity  
Název závěrečné práce v AJ: Testing of the products with the content of surfactants and detergents by toxicity tests.

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Hradci Králové dne

Jméno a příjmení

## **Poděkování:**

Ráda bych poděkovala vedoucímu práce Ing. Vladimíru Dvořákovi, Ph.D za odbornou pomoc a rady při zpracování bakalářské práce. Poděkování patří i doc. Mgr. Petru Boguschovi, Ph.D. za pomoc při zhotovení fotek *Daphnia magna*.

## **Anotace:**

KULTOVÁ, G *Testování přípravků s obsahem tenzidů a detergentů pomocí testů toxicity*. Hradec Králové, 2016. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D., 83 s.

Bakalářská práce je zaměřena na testy toxicity škodlivých látek, které působí na vodní organismy. Pro zjišťování toxicity budou použity běžné prací prášky, které na základě výsledků budou porovnány s ekologickými. Na porovnání budou využity bakteriální bioluminiscenční testy na bakterii *Vibrio fischeri* a testy akutní toxicity na vodním členovci *Daphnia magna*. Prací prášky mohou mít značný dopad na vodní organismy, protože obsahují tenzidy a detergenty, které mají negativní odezvu na vodní organismy. Síť odpadních vod je stále omezená a jejich efektivita v čištění není vždy na úrovni, a proto se tyto látky mohou vyskytovat ve vodním prostředí.

**Klíčová slova:** ekotoxikologické testy, test akutní toxicity, bakteriální bioluminiscenční test, *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*

## **Annotation:**

KULTOVÁ, G *Testing of the products with the content of surfactants and detergents by toxicity tests*. Hradec Králové, 2016. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Ing. Vladimír Dvořák, Ph. D. 83 p.

This Bachelor thesis is mainly focused on toxicity tests of hazardous and noxious substances which acts on aquatic organisms. Ordinary washing powders will be compared with ecological washing powders by using bacterial bioluminescence tests on bacteria *Vibrio fischeri*, and acute toxicity tests on aquatic arthropods *Daphnia magna*. Washing powders may have significant impacts on aquatic organisms because they contain surfactants and detergents which have negative impacts on aquatic organisms. The wastewater network is still limited and the cleaning efficiency is not always perfect, this is the reason why these substances can occur in the aquatic environment.

**Key words:** ecotoxicological test, acute toxicity test, bacterial bioluminescence test, *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	9
<b>2</b>	<b>Teoretická část</b> .....	12
2.1	Ekotoxikologie .....	12
2.1.1	Definice oboru .....	12
2.1.2	Cíl ekotoxikologie .....	13
2.1.3	Význam ekotoxikologických testů .....	14
2.2	Ekotoxikologické testy .....	16
2.2.1	Druhy testů .....	18
2.2.1.1	Test akutní toxicity na vodním obratlovcí - <i>Oncorhynchus mykiss</i> .....	19
2.2.1.2	Test akutní toxicity na vodním členovci <i>Daphnia</i> sp. ....	19
2.2.1.3	Test chronické toxicity na vodním členovci <i>Daphnia</i> sp. ....	20
2.2.1.4	Bakteriální luminiscenční test .....	21
2.2.2	Využití testů toxicity na vodních organismech .....	21
2.3	Biochemická podstata toxických účinků a ochranné mechanismy .....	22
2.4	Účinky na úrovni organismu .....	22
2.5	Faktory ovlivňující toxicitu látek .....	24
2.6	Modelový živočich pro experimentální práci .....	25
2.6.1	<i>Daphnia magna</i> .....	25
2.6.2	<i>Vibrio fischeri</i> .....	29
2.7	Testované látky .....	30
<b>3</b>	<b>Praktická část</b> .....	33
3.1	Metodika .....	33
3.1.1	Příprava živného roztoku .....	33
3.1.2	Příprava testované látky .....	33
3.1.2.1	Ředění testovaných látek pro testy na <i>Daphnia magna</i> a <i>Vibrio Fischeri</i> .....	34
3.1.3	Použité testované látky .....	34
3.1.4	Průběh testů .....	37
3.1.4.1	<i>Daphnia magna</i> .....	37
3.1.4.2	<i>Vibrio fischeri</i> .....	38
<b>4</b>	<b>Výsledky</b> .....	39
<b>5</b>	<b>Diskuze</b> .....	61
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	65
<b>7</b>	<b>Seznam použité literatury</b> .....	67

<b>8</b>	<b>Seznam norem, obrázků a fotografií.....</b>	<b>72</b>
8.1	Seznam norem.....	72
8.2	Seznam fotografií.....	73
8.3	Seznam obrázků.....	74
<b>9</b>	<b>Přílohy.....</b>	<b>75</b>



# 1 Úvod

Téma mé bakalářské práce "Testování přípravků s obsahem tenzidů a detergentů pomocí testů toxicity" bylo zvoleno z mého zájmu o toxicitu a jejich působení na živé organismy. Po vyhodnocení bude možné zjistit, jaké koncentrace látek v pracím prášku obsažené jsou pro organismy přípustné a které je ohrožují. Každý organismus má různé tolerance vůči těmto látkám, proto budou zvoleny ekotoxikologické testy dvou druhů a na základě výsledků budou porovnány. Testování bude založeno na různých typech pracích prášků (tekuté, ekologické, sypké, bělidla) a po vyhodnocení bude možné zjistit, jestli je mezi nimi nějaký výrazný rozdíl ve složení a jejich působení na testované organismy.

Organismy jsou v průběhu svého života vystavovány působení řady stresových faktorů, které mohou nejen zpomalovat jejich životní funkce, ale také poškozovat jednotlivé orgány a v krajním případě vést až k uhynutí organismu. Stresové faktory mohou být biotické (útok patogenního organismu, negativní působení okolních organismů, stárnutí) nebo abiotické povahy - intenzivní světlo, pesticidy, teplo, chlad, mráz, sucho (Luhová et al. 2005).

Toxické látky jsou jasné příklady činitelů, které stres vyvolávají. Ve skutečnosti toxické látky jsou v interakci s "přirozenými" stresovými faktory. Mezi stresové faktory patří osmotická hodnota, kyselost, extrémní teplota, nedostatek výživy (Straalen 2003).

Prací prášky obsahují nebezpečné chemické látky v podobě tenzidů, detergentů a dalších. Tyto tenzidy obsažené v komerčních přípravcích působí bezprostředně na každého jedince (Šmidrkal 1999).

Nejčastěji se při procesech využívají jako dispergátory, emulgátory, detergenty, stabilizátory, smáčedla, aditiva apod. Mezi hlavními oblastmi, kde se tyto látky používají, patří především kosmetika, čistící a mycí prostředky a také k výrobě pesticidů.

Při umývání přichází lidská pokožka do přímého styku s tenzidem, který je obsažen v mýdle nebo sprchovém gelu a po umytí tento tenzid přechází do odpadní vody. Zde má značný vliv na vodní organismy (řasy, ryby, bezobratlí, mikroorganismy), protože při průniku do buňky napadá biomembránu a poškozuje její biologickou funkci. Lipidy, ze kterých je membrána složena, obsahují stejně jako tenzidy hydrofilní a hydrofobní části a tím je umožněna jejich vzájemná interakce, při které se zhroutí molekulární struktura

biomembrány. Vedle vlastní toxicity tenzidy způsobují pění, které má za následek snížení koncentrace kyslíku ve vodě. Vytvoření pěny na vodní hladině zabraňuje prokysličování vody vzdušným kyslíkem a brání průniku světla. Pokles světelné intenzity má vliv na fotosyntetizující rostliny, což nese za následek snížení rozpuštěného kyslíku ve vodě a uhynutí vodních organismů (Soukupová 2009).

Při zvýšeném obsahu fosfátů dochází k eutrofizaci, kde může způsobovat zdravotní potíže (alergie, cyanotoxiny, apod.) a z těchto důvodů se tyto látky staly závažným problémem (Burkhard 2000).

Tenzidy jsou organické látky, které jsou schopny se hromadit již při nízké koncentraci na fázovém rozhraní a tím snižovat mezifázovou energii soustavy. Detergent je směs tenzidů a dalších látek, která má detergenční vlastnosti a detergence je schopnost převádět nečistotu z pevného povrchu do objemné fáze roztoku (Šmidrkal 1999).

Tenzidům a detergentům je v legislativě České republiky i Evropské unie věnována zvláštní pozornost. Výjimečné postavení, které tenzidy v legislativní oblasti zauímají ve srovnání s jinými chemickými látkami, souvisí zejména s jejich masivním a plošným používáním. Vytváření legislativy, která upravuje nakládání s tenzidy a detergenty, reguluje jejich pohyb na trhu a zajišťuje ochranu životního prostředí a lidského zdraví v souvislosti s jejich používáním, započalo v Evropské unii v 70. letech 20. století a v České republice asi o 20 let později. Ode dne vstupu České republiky do Evropské unie (1. 5. 2004) je právní úprava EU závazná též pro ČR (Hejnicová et al. 2011).

Tenzidy se dají dělit na iontové a neiontové a podle iontového charakteru účinné složky se iontové tenzidy dále dělí na aniontové, kationtové a amfolytické tenzidy. Mezi nejčastěji používané patří mýdlo, lineární sek-alkylbenzensulfonát, oxyethylenát mastného alkoholu, alkylpolyglykolsulfát, alkylsulfát a další (Soukupová 2009).

Složení nečistoty nelze ovlivnit, lze však použít biologicky rozložitelný mycí prostředek (Šmidrkal 1999). Autorka Soukupová (2009) uvádí ve své vědecké práci, že k zjištění přítomnosti tenzidů ve vodách se používají různé metody. Mezi nejpoužívanější patří: titrační metody, fotometrické metody, polarografické metody, elektroforetické metody, nespecifické metody, chromatografické metody.

Znečišťování vod a negativní ovlivňování vodních živočichů nespočívá jenom v používání neekologických pracích prášků s vysokým obsahem tenzidů, ale patří tam i další toxické látky. Mezi rozšířené látky vypouštěné do vod patří léčiva a hormonální

látky. Tyto látky se úplně nevstřebají a jsou vyloučeny z těla ven ve stejné formě nebo prostřednictvím jejich metabolitů do odpadních vod.

Bylo zjištěno, že některá antimikrobiální činidla jsou detekována v prostředí, protože jsou špatně metabolizována v těle nebo degradována v čističkách odpadních vod. Tyto antimikrobiální látky mohou mít nepříznivý vliv na citlivé mikroorganismy v této oblasti, což může způsobit poruchu ekosystému (Eguchi et al. 2004).

Při posuzování dopadu konkrétních přípravků na životní prostředí se však také nelze příliš spoléhat jen na údaje spojené s objemem jejich distribuce, neboť tyto nevypovídají nic o obsahu a účinnosti jednotlivých léčivých látek, degradabilitě a biologické aktivitě, která může po transformaci výchozí látky i několikanásobně vzrůst. Dvě skupiny léčiv si zaslouží zvýšenou pozornost díky možným expozičním důsledkům. První z nich představují antibiotika, která v nízkých koncentracích při chronické expozici vyvolávají větší odolnost u patogenních bakterií, což může mít v budoucnu zásadní dopad na způsob a možnosti léčby některých onemocnění. Druhou skupinu tvoří perorální hormonální kontraceptiva, která jsou prokazatelně schopna negativně ovlivňovat reprodukční schopnosti (Kafka et al. 2008).

Tenzidy se řadí mezi organické mikropolutanty a ty představují jeden z nejvýznamnějších problémů současné environmentální chemie a ekotoxikologie. Konvenční čistírny odpadních vod sice dobře odbourávají organické běžné znečištění, ale obtížně se vyrovnávají s permanentně zvýšenými hladinami těchto látek, které jsou stále uvolňovány do prostředí (Bláha 2015).

## 2 Teoretická část

### 2.1 Ekotoxikologie

#### 2.1.1 Definice oboru

Ekotoxikologie vznikla složením dvou slov ekologie a toxikologie. Toxikologie je lékařský vědní obor, který studuje vliv a osud toxických látek v člověku a ekotoxikologie rozšiřuje tuto vědu ještě o další živé organismy. Spíše jde o negativní působení na biosystémy, jelikož živý organismus není jenom izolovaná jednotka, souvisí s tím i další organismy v jeho prostředí i prostředí samotné (Anděl 2011).

Zkoumá vliv chemikálií na ekosystém mimo člověka. Zabývá se jejich pohybem, možnostmi odstranění a prevencí škodlivých účinků na ekosystém (Cvikýřová 2010). Autor Moriarty (1988) uvádí ve své studii, že ekotoxikologie zejména zkoumá, jaký mají znečišťující látky dopad na populace méně často na jedince samotné. Sub letální účinky a změny životního prostředí mohou mít velký negativní vliv na velikost populace.

V důsledku toho se zavedly základní principy tohoto vědního oboru: experimentální testování, analýza vztahu mezi dávkou a účinkem, efekt koncentrací, kde je pozorován 50% účinek - EC50 (Straalen 2003).

Pojem ekotoxikologie zavedl francouzský vědec René Truhaut v roce 1969 (Škarková 2010). Ten ji definoval jako "studium nepříznivých účinků chemikálií s cílem chránit přírodní druhy a společenstva". V širším smyslu se jedná o testování toxicity na jednu nebo více oblastí přírodního ekosystému. Souhrnně lze říci, že ekotoxikologie se zkoumáním účinků polutantů na společenstva snaží chránit celý ekosystém, a ne pouze určitou jeho část (Kočí 2002).

Tato věda nevznikla jenom spojením dvou vědních oborů, ale odebírá poznatky i z jiných vědních oborů jako chemie, fyziky, geologie, klimatologie, geografie, lékařství a mnoha jiných (Anděl 2011). Autor Kočí (2002) uvádí, že se jedná o disciplínu snoubící chemický a biologický přístup k monitoringu životního prostředí. Oba dva přístupy se zde vhodným způsobem doplňují a umocňují tak výpovědní hodnotu výzkumu (Kočí 2002).

Ekotoxikologie v posledních letech nabyla na významu z toho důvodu, že lidé svou činností stále více narušují a poškozují přírodu ve svůj blahobyt, ale přitom si tím ničí i vlastní zdraví. Čím dál více se používají umělá hnojiva, pesticidy a další chemické látky,

kteřé mají sice pozitivní vliv na hojnou úrodu, ale má to negativní vliv na okolní přírodu a tím i na lidi. Pole, na kterém je hnojivo, pesticidy a jiné chemické látky navezeny nezůstanou jen na jednom místě. Není to ohraničený a uzavřený prostor a proto dochází k úniku těchto chemických látek do okolí ať už větrem, dešťovým splavem či zvěří. To má za následek kontaminaci prostředí látkami, které v přírodě dlouho setrvávají a ovlivňují biosystém.

Tuto vědu lze rozdělit na dvě úrovně - prospektivní a retrospektivní. Přičemž prospektivní ekotoxikologie se zabývá prevencí znečištěných látek (testování chemických látek před jejich uvedením na trh a zkoumání rizik s nimi spjatých). Klíčovou metodikou prospektivní ekotoxikologie jsou laboratorní ekotoxikologické testy (Anděl 2011).

Dříve nebyla účinnost chemických látek dobře prozkoumána, ale od roku 2007 kdy vstoupil v platnost systém REACH (Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals) bylo zavedeno hodnocení chemických látek. Retrospektivní ekotoxikologie se zabývá už hodnocením dopadů chemických látek. Využívá poznatky při terénních studiích, které tyto látky v prostředí vyvolaly. Zabývá se hodnocením vlivů chemických látek, které byly na trh uvedeny před datem 18. 9. 1981 (Anděl 2011).

### **2.1.2 Cíl ekotoxikologie**

Cílem ekotoxikologie jako vědního oboru je studium a rozšiřování poznatků o působení chemických látek na živé systémy na všech úrovních od buňky až po biosféru (Anděl 2011).

Součástí je hodnocení chemických látek a prevence před poškozením biosystémů, zkoumání vlastností chemických látek na živých organismech a jakou míru škodlivosti to na nich zanechává.

Autor Kočí (2002) uvádí, že cílem oboru je vyvíjet takové metody, které umožňují sledovat nepříznivý vliv látek na živé organismy a jejich společenstva za standardních reprodukovatelných podmínek. Metody musí umožnit srovnání účinků různých látek či různých organismů mezi sebou a především srovnání odpovídajících výsledků z různých laboratoř. Dle autorky Ballnérové (2009) je cílem oboru vyvíjet metody, které umožňují sledovat nepříznivý vliv látek na živé organismy za standardních a reprodukovatelných

podmínek. Metody musí umožnit srovnání účinků různých látek mezi sebou a především srovnání odpovídajících výsledků z různých laboratoří.

Provádění ekotoxikologických testů v laboratořích slouží nejen k stanovení maximální přípustné koncentrace látky, při které ještě nejsou narušeny životní funkce testovaného organismu, ale také charakterizace a kvantifikace toxických účinků testované látky při překročení této koncentrace (Dobešová 2010).

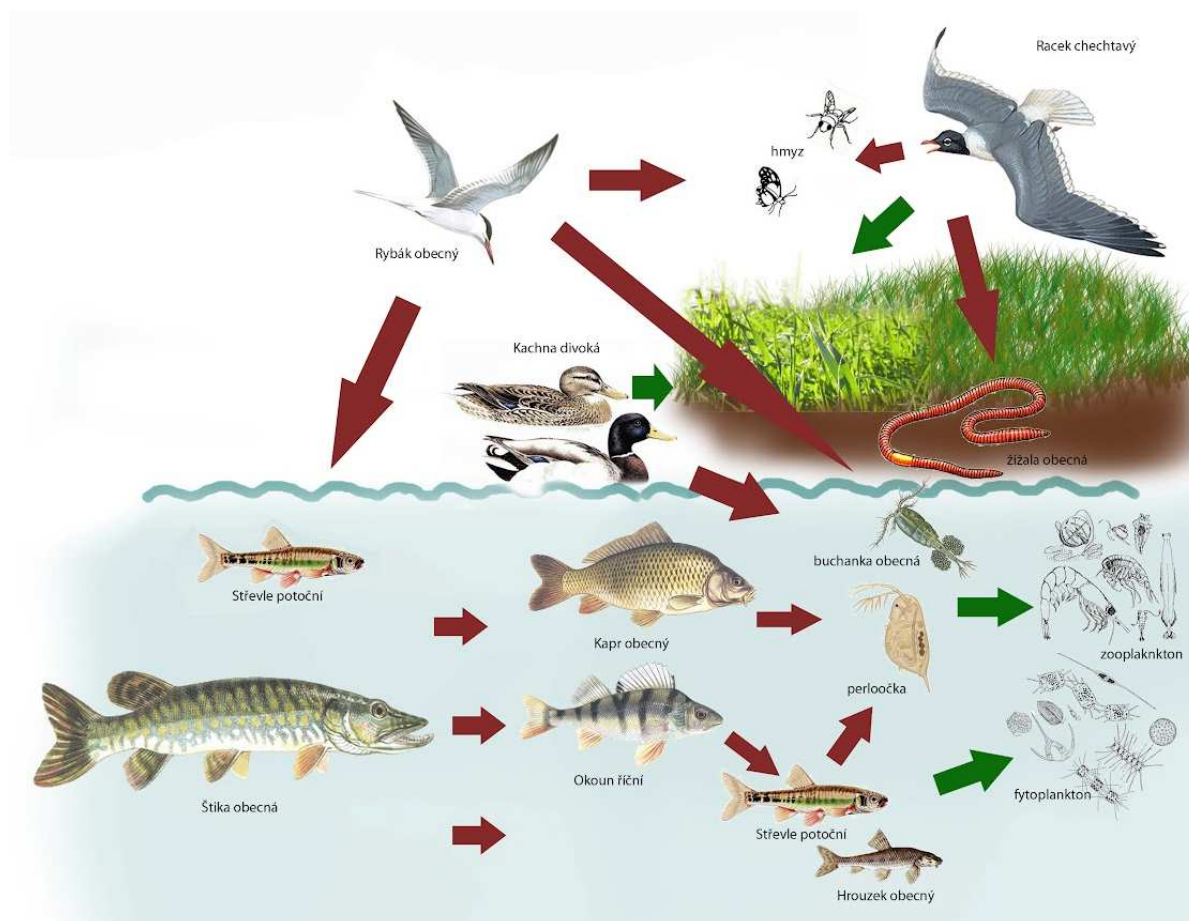
### **2.1.3 Význam ekotoxikologických testů**

Hlavním cílem ekotoxikologie je poznání interakcí mezi živými organismy a chemickými látkami přítomnými v prostředí na všech úrovních biologické organizace (Obr. č. 1) s cílem využít tyto poznatky pro účelnou ochranu živých organismů, jejich populací, společenstev a ekosystémů před chemickým znečištěním (Kočí, Mocová 2009).

Dalším významem ekotoxikologických testů je zjištění ekotoxicity chemických látek na testovaných organismech.

Ekotoxicita se definuje jako toxický účinek znečišťující látky, který potlačuje nebo zcela ničí život v ekosystémech. Jde tedy o nepříznivý účinek na testovací organismus vyvolaný toxickou látkou nebo jejich směsí. Závisí na působení koncentrace a času a je ovlivňována proměnnými veličinami (teplota, pH, chemické složení a další). V extrémních případech může být organismus až usmrcen. Existují dvě základní kategorie toxických vlivů, akutní a chronická.

Ekotoxicitu mají odpady, které představují nebo mohou představovat akutní nebo pozdní nebezpečí pro jednu nebo více složek životního prostředí. Jako nebezpečný se hodnotí odpad, jeho vodný výluh vykazuje ve zkouškách akutní toxicity alespoň pro jeden z testovacích organismů při určené době působení testovaného odpadu na testovací organismus tyto hodnoty: LC(EC, IC)50 na 10 ml/l (Jadrná 2010).



**Obr. č. 1:** Potravní řetězec - sladkovodní vody (Hoffmann, 2012)

Akutní toxicita nastává při velké dávce jedu a krátkém trvání. V případě stanovení akutní toxicity s využitím biotestů je zpravidla určena na expozici, tedy době vystavení v rozsahu 24 – 48 hodin pro bezobratlé a 96 hodin pro ryby. Naopak u chronické toxicity je nízká dávka látky po dlouhou dobu působení, řádově několik stovek hodin (týdny až měsíce). Zde je účinek většinou subletální, to znamená, že účinek se projeví až po delší době působení, např. po několika měsících nebo rocích působení. Často zde dochází ke kumulaci toxických látek v těle organismu. Tento dlouhodobý účinek může být výrazně ovlivněn změnami probíhající u organismu během expozice (změny v růstu, v metabolismu, v přijímání potravy, v reprodukci (Pavličková 2011).

Legislativní toxicita nepostihuje všechny možné toxické účinky látek na životní prostředí. Jedná se o úzký soubor 4 testů (řasa, perloočka, ryba, rostlina), jež jsou vhodné především pro testování toxicity látek ve vodě rozpustných. Široké spektrum toxických látek je ve vodě špatně nebo málo rozpustné, není proto možné výše

zmíněnými testy jejich toxicitu stanovovat, ačkoli takové látky toxické být mohou (Kočí 2006).

#### **Používání ekotoxikologických testů:**

- pro posouzení rizikovosti průmyslových odpadů a kalů
- stanovení akutní toxicity chemických látek a chemických přípravků
- pro stanovení toxického rizika znečištění pitných, podzemních, povrchových a odpadních vod
- pro získání prvotních informací a poznatků při haváriích spojených s únikem toxických látek do vodních toků a nádrží (EMPLA, 2012)

#### **Používání bakteriálních testů toxicity:**

- pro rychlé stanovení toxicity všech druhů vod
- pro orientační rychlé posouzení rizikovosti průmyslových odpadů a kalů
- pro posouzení případné kontaminace půdy, vlivu skládek na okolní půdy a vody
- pro získání prvotních informací a poznatků při haváriích spojených s únikem toxických látek do vodních toků a nádrží (EMPLA, 2012)

Látky mohou na organismy působit různým způsobem. Obecně lze říci, že je ovlivňují buď negativně či pozitivně. Látka v určité koncentraci může způsobovat smrt organismu, zpomalovat jeho vývoj či ovlivňovat metabolické funkce, na druhé straně může způsobovat jako nadměrný nárůst či rozmnožování, což je rovněž nežádoucí (Kočí, Mocová 2009).

## **2.2 Ekotoxikologické testy**

Základním nástrojem ekotoxikologické práce jsou testy toxicity sloužící k zjištění či odhadu možného toxického vlivu testovaných látek či směsných vzorků na živé organismy a v obecnější rovině na životní prostředí. Test toxicity je experimentální metoda, pomocí které hledáme odpověď organismu na expozici toxickou látkou. Z hlediska praktické aplikace se dějí do dvou hlavních skupin: i) testy toxicity cílené na odhad možných toxických účinků na člověka; ii) testy toxicity, od kterých očekáváme



informace na možné nepříznivé účinky látek a jejich směsí na životní prostředí (Kočí 2006).

Jedná se o laboratorní testy, při kterých se v klasickém toxikologickém uspořádání testuje vliv jedné čisté chemické látky (chemického individua) na jeden druh organismu (Anděl 2011). Autor Leber et al. (2012) uvádí, že testy toxicity jsou experimentální metody, pomocí kterých se zjišťuje reakce organismu na expozici toxickou látkou za standardních reprodukovatelných podmínek - na živém materiálu v laboratorních podmínkách.

Podstatou "ekotoxikologické" laboratorní práce jsou testy toxicity, jež slouží k zjištění či odhadu možného toxického vlivu testovaných látek na živé organismy. Testy toxicity jsou nespecifické, to znamená, že zachycují celkové toxické účinky všech látek přítomných v testovaných vzorcích bez nutné bližší znalosti jejich složení či chemické struktury (Kočí 2002).

Ačkoli chemické metody měření ve vodních systémech poskytují nějaké informace o pravděpodobné toxicitě vody pro vodní organismy, nedávají ale přímé kvantitativní údaje o nežádoucím biologickém účinku. Biologické testy nebo testy toxicity jsou obecné testy, které používají živé organismy jako ukazatele kontaminující vodní systémy (Davies, Stauber 2000).

Lidská společnost produkuje velké množství látek, které svými účinky ovlivňují kvalitu životního prostředí. Vedle toxických látek je možné se dnes setkat i s látkami, které nejsou ve své podstatě jedovaté, jejichž vlastnosti však způsobují či podporují jiné negativní jevy. Mezi takové odpadní látky lze počítat nutrienty (živiny), které svojí narůstající koncentrací v povrchových vodách zvyšují jejich trofii - úživnost. V této souvislosti lze hovořit o „zamoření živinami“ - eutrofizaci, které se projevuje řadou symptomatických změn vodního ekosystému, změnami v kvalitě vody nebo ovlivněním ekologické rovnováhy (Burkhard et al. 2010).

Hlavním následkem zvýšené eutrofizace vod je nadměrný rozvoj fytoplanktonu (zelených řas a sinic). Velké množství těchto organismů ve vodě má negativní vliv na jakost vody jednak během svého života svými životními pochody a jednak po úhynu, kdy dochází k jejich rozkladu (Macháč, Vojáček 2015).

Jedná se o proces obohacování prostředí o živiny, zejména dusík a fosfor. Vede ke zvýšené primární produktivitě a má mnoho dopadů na dynamiku, strukturu a fungování ekosystému (Jadrná 2015). Autorka Gawrónska et al. (2007) uvádí, že eutrofizace

povrchových vod se stala přetrvávajícím problémem naší civilizace, a proto se na její potlačení zkouší různé metody, např. použití absorpčních látek.

Testování možných ekotoxických účinků látek vypouštěných do prostředí má význam nejen z hlediska ochrany životního prostředí, ale i hospodářský. Poškození funkčnosti ekosystémů přítomných toxických látek vede ke snížení jejich schopnosti plnit pro člověka důležité funkce - poskytování kvalitní pitné vody či čistého vzduchu, eliminace škodlivých látek rozkladem či imobilizací a poskytování biotických surovin, dřeva, zemědělských produktů atd.; (Kočí, Mocová 2009)

Nevýhodou těchto testů je, že se provádějí v laboratořích a to znamená za jiných podmínek a jiných situacích než by se dělo samovolně v přírodě. Do těchto testů se totiž nezahrnují různé mezidruhové interakce a jiné ekologické faktory, které by měli vliv na konečný výsledek (Kočí, Mocová 2009).

Ekotoxicitu ovlivňuje interakce kontaminantů s nanočásticemi. Chování částic je ovlivněno jejich velikostí, tvarem a povrchovým nábojem. Tyto nanočástice mají tendenci se shlukovat v tvrdé a mořské vodě a jsou značně ovlivněny konkrétním typem organických látek nebo jiných přírodních částic přítomných ve sladké vodě. Dále je mohou ovlivňovat abiotické látky jako pH, slanost a jiné (Crane et al 2008).

### **2.2.1 Druhy testů**

Více než 50000 chemických látek, z nichž většina jsou xenobiotika, jsou v běžném používání a nové jsou pravidelně přidávány do oběhu. Vážné obavy vyvolává především vypouštění těchto cizorodých látek nebo jejich metabolitů do životního prostředí (Dutka et al. 1990)

Jejich škodlivý vliv na životní prostředí lze posoudit přes akutní a chronické testy toxicity. Mikrobiální biologické testy jsou používány pro sledování toxicity odpadních vod a pro monitorování kvality vody (Bitton et al. 1992).

Biotest nazývaný také jako bioassay je definován jako "zkouška" využívající biologický systém, který zahrnuje expozici organismu testovaným materiálem a stanovuje odpověď organismu. Biotest je snad starý několik tisíc let. Již faraoni používali "služeb" ochutnávače, aby se uchránili před traviči. Ve středověku se podezřelý pokrm zkoušel na psovi či vězni a v dnešní době se jako testovací organismy používá široká škála organismů jako bakterie, sinice, řasy, vyšší rostliny, vodní a půdní organismy,

mechy, lišejníky, ale také teplokrevní obratlovci, ptáci, volně žijící zvěř a ve zdůvodněných případech i primáti (Maršálek 2008).

Principem biotestu je kontakt (akutní, chronický apod.) testované látky, směsného či přírodního vzorku za určitých, předem definovaných a kontrolovatelných podmínek s detekčním systémem (zkušebním organismem, tkání, populací, společenstvem apod.). Z jeho reakce potom usuzujeme, zda testovaná látka je toxická, zda vzorek vody obsahuje využitelné živiny, zda je za těchto podmínek sledovaná substance rozložitelná (Maršálek 2008).

### **2.2.1.1 Test akutní toxicity na vodním obratlovcí - na rybě *Oncorhynchus mykiss***

Pstruh duhový pochází ze Severní Ameriky. Jedná se o rybu, která má načervenalý pruh na ve středu těla, který se táhne v celé linii pstruha.

Test spočívá ve sledování inhibice růstové rychlosti rybího plůdku při 14 a 28 denní expozici toxické látky. Do každé koncentrace se dávkuje po označkování 16 ryb. Ve zvolených časových intervalech se provádí měření přírůstku hmotnosti a délky ryb (Kočí, Mocová 2009).

Jedinci se k testování vybírají náhodně, avšak za dodržení pohlaví 1:1. Předem se aklimatizují v ředící vodě při zachování stejných podmínek -  $(23 \pm 2) ^\circ\text{C}$  a osvětlení 12 až 16 hodin denně (Ballnérová 2009).

### **2.2.1.2 Test akutní toxicity na vodním členovci *Daphnia magna***

*Daphnia magna* je často používána v toxikologických studiích a při monitorování životního prostředí vodních systémů z mnoha důvodů. Jedním z nich je jejich citlivost na toxiny a také jsou důležitou součástí zooplanktonu mnoha jezer (Tomasiks, Warren 1996) Dafnie mají krátké, obvykle parthenogenetické, životní cykly a snadno se udržují v laboratorních podmínkách (Baldwin et al. 2012).

Principem testu je změna pohyblivosti či úmrtnost perlooček v závislosti na koncentraci testované látky. Jelikož lze jen velmi obtížně určit, zda se jedná o mortalitu či imobilizaci jedince, posuzuje se na základě tohoto testu pouze imobilizace perlooček, tedy jejich znehybnění. Stanovuje se střední efektivní koncentrace, při které 50 % jedinců je expozicí vzorku imobilizováno. Jako u všech testů je prováděna také kontrola (Dobešová 2010).

Test se provádí na živých perloočkách při teplotě 20-25 C po dobu 48 hodin, kde se sleduje jejich imobilizace - pohyblivost a úmrtnost (Anděl 2011). Současně se nasadí testovací organismy do ředící vody bez testované látky - kontrola a v intervalu 24 hodin se kontroluje stav perlooček a zaznamenávají se uhynulí a imobilizovaní jedinci v jednotlivých koncentracích a v kontrole (Beklová et al. 2010).

Imobilizace je definována jako makroskopicky pozorovatelná neschopnost samostatného prostorového pohybu hrotnatek do 15 sekund po krouživém zamíchání kádinkou. Jako imobilizované organismy hodnotíme například i jedince, kteří pohybují tykadly 2. páru, ale samostatného pohybu nejsou schopni (Anděl 2011).

### **2.2.1.3 Test chronické toxicity na vodním členovci Daphnia (reprodukční test)**

Testy chronické toxicity s příslušníky rodu *Daphnia* byly zahájeny začátkem roku 1970 a v dnešní době jsou běžně používány (Biesinger et al. 1972). Autor Adema et al. (1978) uvádí, že reprodukční test na korýši *Daphnia magna* lze snadno provést do tří týdnů, ale pro efektivnost výsledků je lepší testy opakovat.

Perloočky jsou vystaveny po dobu 21 dní účinku různých koncentrací testované látky rozpuštěné v ředící vodě. V intervalu 24 hodin je sledován stav perlooček, v jednotlivých koncentracích a je zaznamenán stav uhynulých perlooček a současně nově narozených, které se odloví (Beklová et al. 2010).

Hrotnatky je potřeba krmit a ve vhodných intervalech jim vyměňovat roztoky, aby se zamezilo druhotné kontaminaci exkrementy a případnému rozkladu testovaných látek. Výměna roztoků se provádí třikrát týdně (Kočí, Mocová 2009).

Vliv testované látky na reprodukční parametry perlooček lze rovněž vyjádřit počtem přeživších rodičovských jedinců, počtem žijícího potomstva vyprodukovaného na jedince a den od počátku reprodukce, dobou potřebnou pro produkci prvního potomstva, četností a velikostí potomstva v jednotlivých vrzích, pomocí tzv. reprodukčního indexu, počtem abortovaného nebo uhynulého potomstva (Beklová et al. 2010).

Testy ekotoxicky nadále dělíme podle různých kritérií. Jedná se například o délku doby testování, druh organismu a jeho životní prostředí. Dále rozlišujeme biologickou úroveň a uspořádání testovacího systému (Osinová 2011).

#### **2.2.1.4 Bakteriální luminiscenční test**

Principem bakteriálního bioluminiscenčního testu toxicity je změna luminiscence mořských světélkujících bakterií *Vibrio fischeri* vyvolána negativním působením toxického vzorku (Beklová et al. 2010). Podle Kočího a Mocové (2009) patří test mezi nejrychlejší metody stanovení toxicity vzorků či látek vzhledem k rychlé odezvě.

Množství emitovaného světla se měří luminometrem LUMISTox 300 před a po přidání testované látky a ze změny intenzity světla se spočítá toxický účinek. Ten závisí na koncentraci testované látky a na době kontaktu toxikantu s bakteriální suspenzí. Bioluminiscence je enzymový proces závislý na teplotě, proto se inkubace s toxikantem i měření provádí v temperovaném prostředí při teplotě 15C (Beklová et al. 2010).

#### **2.2.2 Využití testů toxicity na vodních organismech**

Testy toxicity na organismech vodního prostředí mají svou nezastupitelnou úlohu při hodnocení nově vyvinutých a do praxe zaváděných chemických látek a přípravků včetně pesticidů i při klasifikaci odpadů určených ke skládkování. Tyto testy mají rovněž velký význam pro hodnocení odpadních vod a při hledání a usvědčování původců havárií na povrchových a podzemních vodách (Beklová, M. et al. 2010).

Při testech toxicity se nesleduje pouze závislost úhynu organismů na koncentraci testované látky. Podle druhu testovacího organismu se sleduje také imobilizace, reprodukční schopnost, růst apod. (Kočí, Mocová 2009).

Při hodnocení akutní toxicity chemických látek, přípravků a odpadů, případně odpadních vod (obecně vzorku) se zajišťují hodnoty LC50 (letální koncentrace pro 50% testovacích organismů - v testech na rybách), hodnoty EC50 (efektivní koncentrace pro 50% testovacích organismů, tj. koncentrace, která vyvolá 50% úhyn, či imobilizaci testovacích organismů - v testech na zástupcích zooplanktonu, dále efektivní koncentrace, která vyvolá 50% snížení luminiscence mořských světélkujících bakterií) a hodnoty IC50 (případně ErC50, tj. inhibiční nebo efektivní koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou (Beklová, M. et al. 2010).

Ekotoxikologické indexy jsou veličiny kvantitativně charakterizující účinky látek na organismy a jsou považovány jako výstup testů toxicity. Tyto indexy slouží k popisu míry toxického účinku, k hodnocení přijatelnosti látek pro ekosystémy, ke srovnání toxických účinků různých látek vzájemně a k jejich třídění do různých tříd nebezpečnosti (Kočí, Mocová 2009).

Snahou ekotoxikologů je hodnotit potenciální nebezpečí pro vodní ekosystém jako celek. Při vyšetřování havárií na povrchových vodách se hodnotí vzorky vody z hlediska přítomnosti toxické látky počtem uhynulých organismů ve srovnání s kontrolou (Beklová, M. et al. 2010).

## **2.3 Biochemická podstata toxických účinků a ochranné mechanismy**

Pokud dojde ke vstupu toxikantu dovnitř buňky, bude podroben některým biochemickým procesům s cílem toxikant degradovat a následně vyloučit z těla, nebo jej uložit v podobě neškodné pro ostatní buněčné pochody.

Ochranné mechanismy snižují koncentrace toxických látek v buňkách organismu, mezi které se řadí detoxikace. Detoxikace má 2 fáze.

### **1) I. fáze detoxikace**

Toxické látky po vstupu do organismu často indikují činnost enzymů podílejících se na jejich metabolizaci. Cílem biotransformačních procesů je zavádět na molekuly lipofilních toxikantů polární funkční skupiny a tím zvýšit jejich rozpustnost ve vodě. Nejčastějšími reakcemi jsou oxidace (probíhají pomocí monoxygenázového systému), redukce (redukce karbonylové skupiny, dvojná vazba, sulfoxidů, aromatických sloučenin a další) a hydrolýza - podílí se na detoxikaci esterů, amidů, hydrazidů a mnohých pesticidních látek.

### **2) II. fáze detoxikace**

Tato fáze spočívá v reakci metabolitu s konjugačním činidlem za vzniku konjugátu. Vzniklý konjugát je obvykle dobře rozpustný ve vodě a většinou méně toxický než metabolit a je vyloučen z těla obvyklou cestou (Kočí, Mocová 2009).

## **2.4 Účinky na úrovni organismu**

Po vstupu jedu do organismu, ať již přes trávicí trakt, kůži nebo dýchací systémy, dochází k jeho disturbci krví uvnitř organismu až k jednotlivým orgánům. Tím dochází k interakci toxikantu s cílovým orgánem. Tato interakce může a nemusí být pro organismus příznivá (Kočí, Mocová 2009).

## **Genotoxicita**

Nukleové kyseliny (DNS - desoxyribonukleová kyselina, RNA - ribonukleová kyselina) jsou nositeli genetické informace u živých organismů a zajišťují její manifestaci. Ovlivnění nukleových kyselin toxikanty může mít pro organismus závažné důsledky, které se projevují zvýšenou četností mutací, vznikem vývojových deformací a vývojem nádorů (Anděl 2011).

Skupina genotoxických faktorů zahrnuje široké spektrum fyzikálních, chemických a biologických faktorů. Chemické faktory představují nejvýznamnější a nejvíce sledovanou skupinu genotoxických faktorů. Jedná se o sloučeniny antropogenního i přírodního původu, které se vyznačují schopností reagovat s DNA, či jsou prekurzory látek s těmito účinky, které jsou aktivovány v procesu metabolické transformace (Kočí, Mocová 2009).

## **Růst**

Růst je důležitým projevem v ontogenetickém vývoji organismů a je integrujícím znakem, který ukazuje na prosperitu daného organismu v daném prostředí. Současně zde hrají významnou roli ostatní faktory prostředí, především dostatek živin.

## **Rozmnožování**

Rozmnožování je základním znakem živých organismů, směřuje k němu vývoj a růst předchozích stádií. Současně se jedná o velmi citlivou fázi z hlediska vlivů ekologických faktorů včetně toxikantů.

## **Imunitní systém**

Imunitní systém zajišťuje obranu organismu proti mikroorganismům, parazitům, cizorodým makromolekulám a nádorovým buňkám. Jeho oslabení toxikanty vede často k následným chorobám, které mají letální charakter (Anděl 2011).

## **Anatomicko-morfologické reakce**

V některých případech je vliv toxikantu na organismus tak rozsáhlý, že se účinky projeví na změnách v celkové anatomické stavbě a morfologii organismu (Anděl 2011).

- Barevné změny a nekrózy na asimilačních orgánech rostlin.
- Změny ve vnitřní struktuře orgánů.
- Malformace ve vývoji živočichů.

## **Změny chování**

Změna v chování organismu patří mezi další projevy intoxikace. Tyto behaviorální změny byly na organismech zkoumány především v chování ovlivňující příjem potravy a na pozornost organismu (Kočí, Mocová 2009).

Ve vztahu k působení toxikantů můžeme rozlišit tyto základní skupiny projevů, které se zároveň využívají v bioindikaci (Anděl 2011):

- Netypické projevy, často spojené se sníženou koordinací pohybu - souvisí většinou s poškozením nervové soustavy
- Zpomalené a nedostatečné pohyby spojené se sníženou vitalitou a zvýšenou chronickou únavou organismu - souvisí s celkovým poškozením organismu, s nedostatkem energie, projevuje se např. neschopností ulovit kořist, pomalým během aj.
- Narušení instinktivního chování ve vztahu k ostatním příslušníkům populace - jedná se především o sexuální chování

## **2.5 Faktory ovlivňující toxicitu látek**

Při provádění ekotoxikologických a jiných testů je nutné dbát na pravidla. I když se postupuje podle norem, může se stát, že se dojde k fiktivnímu výsledku a pokus se musí provést znova. Tyto odchylky mohou být způsobeny různými faktory (Kočí, Mocová 2009).

### **Koncentrace, dávka**

Nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím sílu toxického působení je koncentrace toxikantu v prostředí a následně i v organismu. I velmi toxická látka nemusí být nebezpečná, jestliže její koncentrace působící uvnitř organismu bude dostatečně nízká, nebo když nebude transportována na místo svého účinku (Kočí, Mocová 2009).

Ve většině případů platí, že v určitém dávkovém rozmezí vyvolá větší dávka také větší reakci. Násobení dávky účinek zvyšuje lineárně, můžeme se však setkat i s exponenciálním růstem. Znamená to, že aplikujeme-li stejnou dávku účinné sloučeniny, ale v koncentrovanějším roztoku, dostaneme nižší hodnotu LD<sub>50</sub> (Prokeš et al. 2005).



LD50	Kategorie
> 15g/kg	Prakticky netoxické
5 - 10 g/kg	Málo toxické
0,5 - 5 g/kg	Mírně toxické
0,05 - 0,5 g/kg	Silně toxické
5 - 50 mg/kg	Extrémně toxické
< 5 mg/kg	Supertoxické

**Tab. 1:** Rozdělení kategorií toxických látek podle množství (Prokeš et al. 2005)

### **Doba a způsob expozice**

Dá se očekávat, že čím delší bude expozice účinku na živý organismus, tím horší budou následky. Dlouhodobá kontinuální expozice je mnohem škodlivější než expozice okamžitá, krátkodobá (Kočí, Mocová 2009).

### **Intenzita světla, teplota a pH**

Intenzita světla, teplota a pH mohou ovlivnit výsledky už z toho důvodu, že všechny tyto veličiny ovlivňují toxicitu chemických látek pro vodní živočichy. S rostoucí intenzitou světla a teploty zpravidla roste i toxicita (Štěpánková 2009).

Vliv intenzity světla je významný zejména u tak zvaných fototoxických látek, jejichž toxicita narůstá právě s intenzitou slunečního svitu (Kočí, Mocová 2009).

Vliv pH je méně předvídatelný, neboť toxicita může klesnout s rostoucí pH nebo mlže dosáhnout největší hodnoty na některé ze středních hodnot pH (Štěpánková 2009).

## **2.6 Modelový živočich pro experimentální práci**

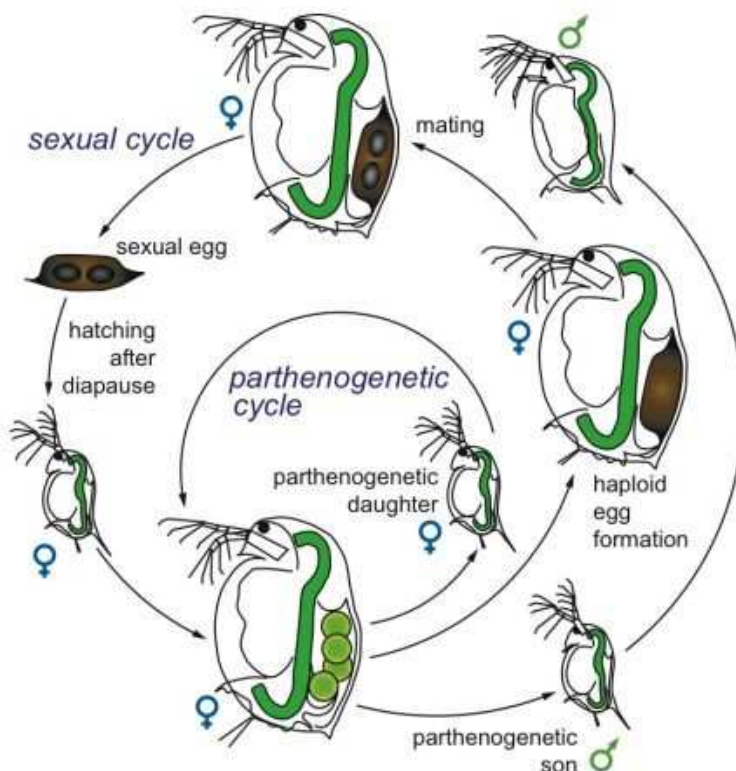
Pro naše účely byly vybrány dva organismy - *Daphnia magna* a *Vibrio fisheri*, jenž splňují několik vlastností modelového živočicha: měl by mít malou velikost a krátkou generační dobu, být velmi plodný a snadno chovatelný a mělo by s ním jít dobře manipulovat (Petrušek 2010).

### **2.6.1 *Daphnia magna***

Jako klíčový konzument řas a sinic a zároveň důležitá potrava mnoha ryb plní funkci spojovacího článku mezi primární produkcí fytoplanktonu a vyššími trofickými úrovněmi ve volné vodě (Petrušek 2010). Podle autora Kočího a Mocové (2009) jsou hrotnatky typickými příslušníky zooplanktonu nejrůznějších typů vod, od drobných tůní

po velká jezera a údolní nádrže či mírně tekoucí vody, které se v prostředí vyskytují ve všech životních stádiích (Foto. 14).

V životním cyklu (Obr. 2) má významné místo heterogonie (střídání bisexuální a partenogenetické generace) vázaná na podmínky prostředí. Partenogenetické samice se množí v příznivých podmínkách (Rosypal et al. 2003).



**Obr. 2:** Životní cyklus *Daphnia magna* (Ebert 2005)

Potomci jsou geneticky identičtí se svou matkou a za normálních okolností jsou všichni, nebo alespoň naprostá většina z nich, samičího pohlaví (Petrušek 2010).

Začne-li se prostředí měnit, například neúměrně stoupá teplota, ubývá vody a tůň či rybníček vysychá, či naopak teplota klesá a krátí se délka světelného dne, či rapidně ubývá potravy, perloočky začnou klást haploidní vajíčka, ze kterých se líhnou samci, oplozují samice a ze zygoty tak vznikají vajíčka resistantní. Ta se nacházejí ve skleritizované plodové komůrce (ephippium - Foto. 21) v hřbetní části těla perloočky (Smrž 2013). Jakmile nastanou vhodné podmínky, tak se z vajíček líhnou samice.

Jelikož tělo hrotnatek kryje dvouchlopňová chitinová kutikula tvořící zevní kostru, rostou, stejně jako všichni členovci, jen za občasného svlékání. Stará kutikula při

svlékání praská, živočich z ní vylézá a ponechává za sebou prázdné chitinové pouzdro, zvané exuvie (Kočí, Mocová 2009).

Carapax je z velké části tvořen polysacharidem - chitinem a má dvojitou stěnu ve které se vyskytuje hemolymfa (Ebert 2005). Dle autora Smrže (2013) carapax vytváří na břišní straně dutinu, ve které se pohybují končetiny s žaberními přívěsky, které navíc filtrují potravu - jednobuněčné řasy a bakterie - z vody.

Trávicí soustava je tvořena trubkovým střevem, které se skládá ze tří částí: jícen a střevy. Podle strávené potravy se přizpůsobí i jejich barva. Pokud se krmení skládá ze zelené řasy, *Daphnia* bude mít odstín do zelena nebo žluta, pokud strávila bakterie, bude mít nádech do bíla až lososovitě růžova (Ebert 2005).

Samotné srdce představuje celou cévní soustavu, kde je ostiemi dovnitř nasávána hemolymfa a je vypuzována zpět do těla (Kočí, Mocová 2009).

Srdce se nachází na dorsální straně a při 20 stupních Celsia tepe až 200 krát za minutu. Při nižších teplotách se frekvence tepů snižuje. Nervový systém se skládá z mozkového ganglionu, který se nachází v blízkosti střeva a v blízkosti očí (Ebert 2005)

Celé tělo (Foto. 19) se skládá z antenul (Foto. 17 a 18), které obsahují svazek štětín na konci - smyslový orgán. Ve vodním prostoru se hrotnatka pohybuje skákavým pohybem, který vzniká pohybem silně větvených tykadél druhého páru (Kočí, Mocová 2009).

Na obrázku (Obr. 3) lze si všimnout základních částí těla perlooček. Na pravé straně jsou znázorněny vnitřní orgány, jako je srdce, mozek, vaječníky či embrya. Na levé straně jsou zaznamenány hlavně vnější části, jako antenuly, rostrum (Foto. 15 a 16), carapax a abdomen.

Samci se od samic liší celkovou velikostí těla, ve velikosti jejich antenul a prvních končetin, které jsou vybaveny hákem sloužícím k sevření (Foto. 20). Dospělci jsou velcí 1 až 5 mm a dokážou spořádat potravu o velikosti 1-50 um. Příjem potravy z vody je přímo úměrná koncentraci potravin a rychlosti filtrování - množství přefiltrované vody za jednotku času (Ebert 2005)

Hrotnatky se vyskytují hojně ve sladkých vodách v severní polokouli Země, vyhýbají se však prudkým tokům, podzemním a silně znečištěným vodám. Význam perlooček ve vodách je značný. Při jejich silném rozmnožení je voda čistá, bez vegetačního zákalu. Ve vodárenských nádržích jsou tyto organismy žádoucí, neboť svou přítomností pomáhají udržet kvalitu pitné vody na stálé úrovni, čímž předchází vzniku technologických problémů. Perloočky také tvoří potravu mnoha vodních organismů. Pro potřebu zvýšení

počtu perlooček ve vodách, vzhledem k jejich potravnímu významu, je do vody přidáváno organické hnojivo (Dobešová 2010).

*Daphnia magna* (Foto. 12, a 13) je malý korýš, který je velmi citlivý na jakékoli změny chemického složení vodního prostředí. Proto je často používán jako bioindikátor environmentálního monitoringu vodních systémů. Jako bioindikační tvor nás může včas varovat při kontaminaci pitné vody (Fu et al. 2012).

*Daphnia magna* se řadí do kmene členovců, třídy lupenonožců a rodu *Daphnia*, jak uvádí systém.

Systém:

Super skupina: *Opisthokonta*

Třída: lupenonožci

Říše: *Animalia*

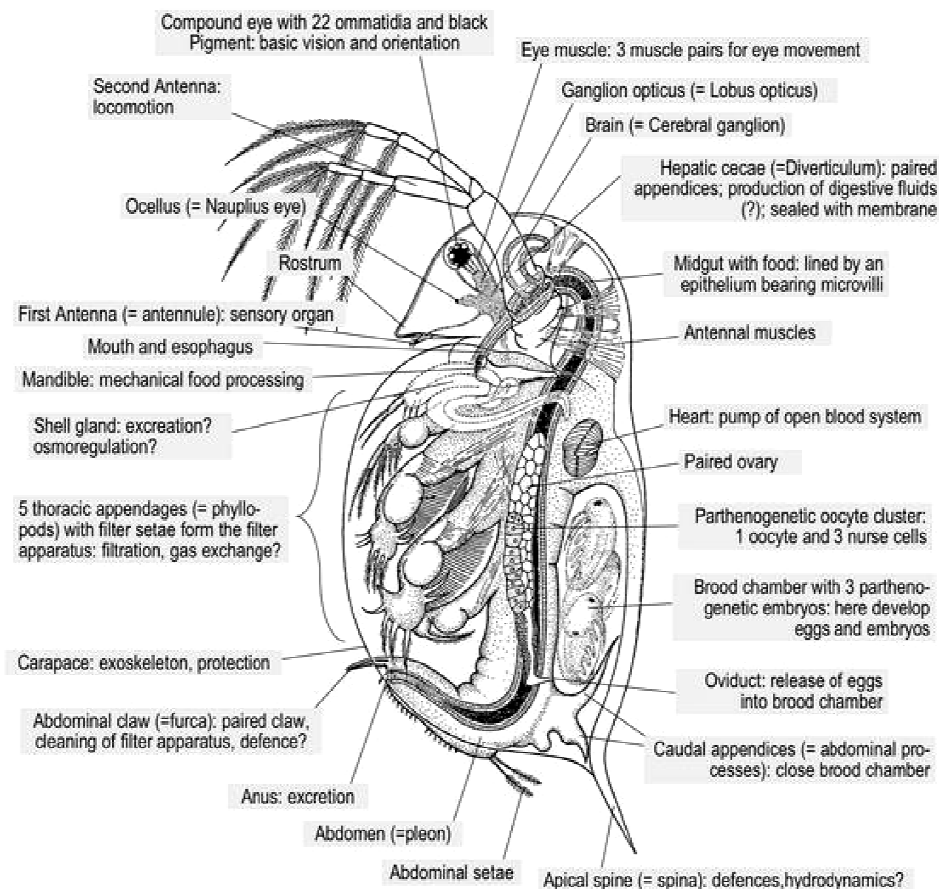
Řád: perloočky

Kmen: Členovci

Rod: *Daphnia*

Podkmen: Korýši

Druh: *Daphnia magna*



**Obr. 3:** Anatomie *Daphnia magna* (Ebert 2005)

## 2.6.2 *Vibrio fischeri*

Bakterie *Vibrio fischeri* (Obr. 4) je mořská bakterie, která je známá tím, že se používá v bioluminiscenčních testech. Žije v symbióze s některými mořskými živočichy a umožňuje jim "světélkování" (Kočí, Mocová 2009).

*Vibrio fischeri* se vyskytuje jako volně žijící bakterie v mořské vodě, nebo může žít v symbióze s několika druhy ryb a chobotnic (Graf et al. 1994). Autor Belkin et al. (2011) ve své vědecké publikaci uvádí, že výhody bioluminiscence pro mořské bakterie nebyly plně objasněny. Jedním z nejčastějších vysvětlení je, že bioluminiscence zvyšuje množení a šíření bakterií tím, že přitahuje ryby, které je konzumují na základě projevu světelného materiálu. Tato hypotéza, která je založená především na výskyt svítících bakterií v rybích vnitřnostech, nebyla testována experimentálně.

Tyto mořské bioluminiscenční bakterie zvyšují exponenciálně svoji populace uvnitř světelného orgánu chobotnice (*Euprymna scolopes*). Během noci světélkování chobotnice využívají k predaci nebo jako strategii k boji (Lostro, Petrun 2012).

Funkcí bioluminiscenčních bakterií je vyzařovat světlo v biologických systémech. Jejich světélkování může hrát důležitou roli v jejich fyziologii a ekologii. Luciferáza, která je původcem světélkování má u bakterií úzký vztah s dýchací soustavou (Hastings et al 1985). Dle autora Ferriho et al. (2008) se bioluminiscenční testy stávají běžnou součástí hodnocení vzorků z životního prostředí a lze pomocí nich testovat například vzorky vody (výluhu), půdy a sedimentů.

Bakterie *Vibrio fischeri* patří mezi kmen *Proteobacteria*, jak uvádí systém.

Systém:

Kmen: *Proteobacteria*

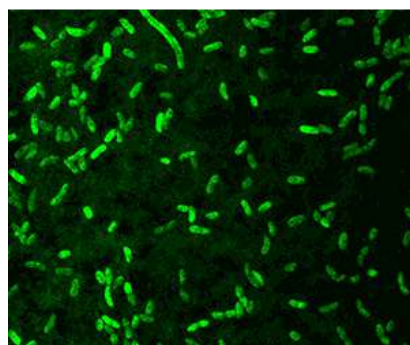
Čeleď: *Vibrionaceae*

Třída: *Gammaproteobacteria*

Rod: *Vibrio*

Řád: *Vibrionales*

Druh: *Vibrio fischeri*



**Obr. 4:** *Vibrio fischeri* (Nelson a Sycuro 2011)

## 2.7 Testované látky

Obecně nazýváme pracím prostředkem určitou formu (práškovou, gelovou aj.), která společně s vodou pomáhá k odstranění skvrn, nečistot a zápachu. Prací prostředek má dvě hlavní složky: základní složky pracího prostředku a nadstandardní složky. Každý prací prostředek se většinou liší svým složením v závislosti na tom, z jakého cenového segmentu pochází. Prací prostředky z nejvyšší cenové kategorie mají nejvyšší podíl tenzidu (cca. 20 %), vysoký obsah bělidel (15 až 20 %). Naopak velmi levné prací prostředky obsahují 80 až 90 % solí, jen 1 až 3 % tenzidu a téměř žádné bělicí látky (Bravená 2013)

### Tenzidy

Jsou povrchově aktivní látky, které stabilizují, anebo v případě potřeby ruší disperzní systémy, snižují tření, urychlují technologické procesy, ovlivňují fyzikálněchemické vlastnosti materiálů, aktivně se zúčastňují biochemických procesů v živých organismech (Blažej et al. 1977).

### Druhy tenzidů:

#### 1) Anionické tenzidy

V současnosti jsou to nejdůležitější tenzidy, kterých se vyrábí až 60% z celkové světové produkce. Dále se dělí podle počtu disociovaných skupin na monofunkční, bifunkční, polyfunkční a oligomerní polyfunkční tenzidy (Blažej et al. 1977).

Nejrozšířenějším tenzidem je poměrně dobře biologicky rozložitelný lineární natrium-sek-alkylbenzensulfonát, který patří mezi základní tenzid pro detergenty, tzn. práškové prací prostředky a kapalné mycí a prací prostředky. Nejstarším a nejdéle používaným anionickým tenzidem je mýdlo, tj. sodná sůl vyšších karboxylových kyselin, která je součástí v práškových pracích prostředcích, kde kromě toho působí i jako odpěňovač (Šmidrkal 1999).

#### 2) Kationické tenzidy

Jedná se o sloučeniny s jednou nebo s více funkčními skupinami. Tyto skupiny ve vodním roztoku disociují a přitom vznikají kladně nabitě organické ionty, které jsou nositelem povrchové aktivity (Blažej et al. 1977).

Tkaniny vyrobené ze syntetických textilních vláken je nutné po každém praní antistaticky upravit. Tuto úpravu zajišťují avivážní prostředky, které obsahují kationické tenzidy jež kromě avivážního účinku vykazují i významný mikrobicidní efekt. Avšak jejich rozložitelnost je oproti anionickým tenzidům obecně horší (Šmidrkal 1999).

### **3) Amfoterní tenzidy**

Jsou sloučeniny se dvěma nebo více zásaditými a kyselými funkčními skupinami, které jsou schopné disociovat ve vodním roztoku a v závislosti od podmínek prostředí poskytovat povrchově aktivní látky s anionickým nebo kationickým charakterem (Blažej et al. 1977).

Kombinace alkylprolyglykosulfátu VIII s betainem XII tvoří tenzidový základ téměř veškerých kosmetických mycích prostředků, tj. vlasových i tělových šampónů, tekutých mýdel a koupelových pěn. Kromě toho se tato kombinace tenzidů používá buď jako hlavní nebo vedlejší tenzidový systém v mycích prostředcích na nádobí (Šmidrkal 1999).

### **4) Neionické tenzidy**

Jedná se o takové sloučeniny, které ve vodním roztoku nedosicují. Vodourozpuštěnost takovýchto sloučenin umožňuje přítomnost funkčních skupin v molekule, které mají silnou afinitu k vodě (Blažej et al. 1977).

Oxyethylenáty mastných alkoholů se používají jako třetí základní tenzid v práškových pracích prostředcích (Šmidrkal 1999).

### **Rozdělení tenzidů podle toxicity (Polzerová 2012):**

**1) Vysoce toxické** – do této skupiny patří kationické tenzidy na bázi alkylpyridinových a alkyltrimethylamoniových sloučenin, z neionických tenzidů zde patří ethoxylované mastné aminy. Z anionických tenzidů zahrnuje tato skupina alkylbenzensulfonany s C12 - C14 a alkylsulfonany s alifatickým řetězcem.

**2) Velmi toxické** – do této skupiny patří většina tenzidů. Z neionických jsou to kondenzáty ethoxylovaných alkylfenolů, ethoxylované mastné alkoholy a ethoxylované mastné aminy. Z anionických přípravků zde patří např. lauryl sulfát sodný a acetyl sulfát sodný.

**3) Toxické** – do této skupiny patří z neionických tenzidů kondenzáty kyseliny stearové (Obr. 5) a kyseliny olejové s ethylenoxidem.

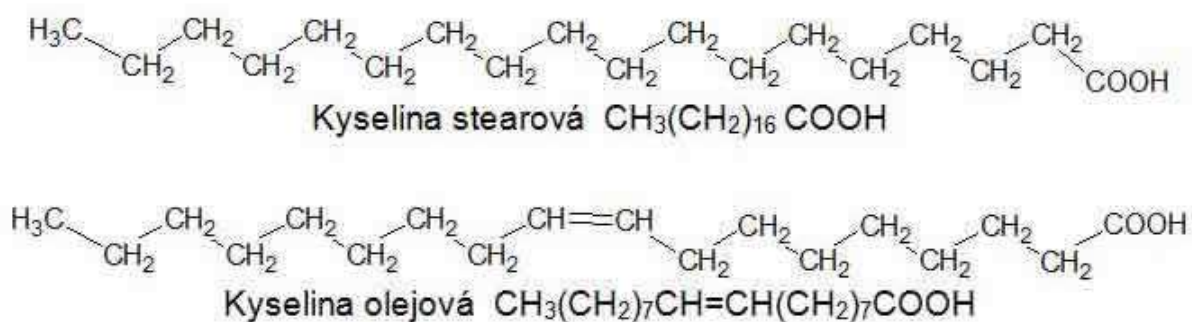
#### 4) Mírně toxické – tato skupina zahrnuje některé přípravky na bázi ethylenoxidu

##### Fosforečnany

Fosforečnany jsou soli kyseliny trihydrogenfosforečné, které vznikají neutralizací kyseliny zásadami (Lorencová 2010).

Fosfor tvoří s kyslíkem fosforečnany, které jsou přítomné v litosféře, biosféře, hydrosféře či atmosféře. Přírodním zdrojem fosforečnanů je minerál apatit  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F},\text{Cl},\text{OH})$ . Do vodního prostředí se dostává rovněž z biologické hmoty. Antropogenním zdrojem fosforečnanů jsou odpadní vody z prádelen a textilního průmyslu, komunální odpadní vody a aplikace fosforečných hnojiv v zemědělství (Burkhard et al. 2000).

Ve vodě se fosfor naváže na částice přes OH skupinu a společně s nimi se ukládá na dno právě v podobě sedimentu. Avšak při změně podmínek (resuspendace sedimentu, změna pH, redoxních podmínek) se ze sedimentu zase uvolňuje a kontaminuje vodní prostředí (Masner 2011).



**Obr. 5:** Kyselina stearová a olejová (Teplá 2013)



## 3 Praktická část

### 3.1 Metodika

#### 3.1.1 Příprava živného roztoku

Živný roztok se skládá ze čtyř sloučenin  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  a  $\text{KCl}$ , které byly následně odváženy a smíchány s 1litrem destilované vody (Foto. 1). Při přípravě roztoku bylo odměřeno 2,5 ml každé sloučeniny, které se nalili do skleněné nádoby, a nakonec se dolilo do 1 litru destilované vody.



Foto. 1: Sloučeniny použité k vytvoření živného roztoku (Kultová, 2015)

#### 3.1.2 Příprava testované látky

Bylo vybráno několik vzorků prací prášků k testování akutní toxicity na perloočkách *Daphnia magna* a k testování bioluminiscence na bakteriích *Vibrio fischeri*. Prací prášky byly rozděleny na sypké a tekuté, na ekologické a neekologické.



Foto. 2: Ukázka základních koncentrací testované látky (Kultová, 2015)

### **3.1.2.1 Ředění testovaných látek pro testy na *Daphnia magna* a *Vibrio Fischeri***

Na analytických váhách (Foto. 5 a 6) byl přesně naměřen vzorek pracího prášku 100mg, 200mg, 2000mg podle typu koncentrační řady. Každý prací prášek má jinou inhibici pohyblivosti a proto bylo nutné zjistit optimální koncentrační řadu, která by byla ideální k výpočtu IC 50. Naměřený vzorek pracího prášku se vložil do odměrné baňky (Foto. 2), která se následně dolila destilovanou vodou do litru.

Bylo nutné, aby každý prací prášek byl řádně rozpuštěný, jinak by to mohlo výrazně ovlivnit výsledky. Pro úplné rozpuštění - hlavně sypkých pracích prášků se použila míchačka s ohřevem (Foto. 3). Následně za použití laboratorního nádobí (Foto. 4) se z každého základního roztoku udělaly různé koncentrace (živný roztok + základní roztok testované látky), které se považovaly za optimální.

### **3.1.3 Použité testované látky**

#### **Perwoll-Re new color**

Speciální prací prostředek na barevné oblečení: Perwoll ReNew+ Color zabraňuje blednutí barev a uhlazuje hrubá zašedlá vlákna. Navíc s vylepšeným odstraňováním zašednutí a odstraňováním skvrn pro nejlepší barvy od Perwollu. Oblečení si tak déle udrží intenzivní barvy jako nové.

Složení: 5 - 15% aniontové povrchově aktivní látky, 5 - 15% neiontové povrchově aktivní látky, mýdlo, fosfonáty, Parfém (amyl cinnamal, butylphenyl methylpropional, citronellol, hexyl cinnamal, limonene), Benzisothiazolinone.

#### **Ariel**

Složení: 15-30% aniontové povrchově aktivní látky, <5% neiontové povrchově aktivní látky, fosfonáty, polykarboxyláty, zeolity, enzymy, parfémy.

#### **Persil**

Složení: 5-15% aniontové povrchově aktivní látky, bělicí činidla na bázi kyslíku, <5% neiontové povrchově aktivní látky, mýdlo, polykarboxyláty, fosfonáty, zeolity; enzymy, optické zjasňovače, parfém.

#### **Spee activ gel modrý**

Složení: neiontové povrchově aktivní látky méně než 5%, mýdlo, aniontové povrchově aktivní látky 5-15%, enzymy, optické zjasňovače, konzervanty, Methylisothiazolinone, Benzisothiazolinone, parfémy, Hexyl Cinnamal, Butylfenyl Methylpropional, Geraniol.

## **Dreft**

Tekutý Dreft je určen pro bezpečné praní hedvábných, vlněných a jiných jemných tkanin. Chrání vaše oblíbené oblečení před blednutím barev. Není nutné používat aviváž. Obsahuje Fiberflex, jehož složení pomáhá předcházet ztrátě tvaru a jemnosti (vlna, lycra a bavlna). Pro barevné prádlo.

Složení: 5-15% aniontové povrchově aktivní látky, <5% neiontové povrchově aktivní látky, mýdlo, Methylisothiazolinone, Benzisothiazolinone, parfémy, Benzyl Salicylate, Butylphenyl Methylpropional, Citronellol, Geraniol, Hexyl Cinnamal, Linalool.

## **Mika - tekutý prací gel na černé prádlo**

Tekutý prací prostředek svým speciálním složením zabezpečuje velkou prací účinnost i při nízkých teplotách. Černé a tmavé oděvy chrání před vyblednutím, oživuje barvy a příjemně voní.

Složení: Aqua, Anionic Surfactans <30%, Soap <15%, Phosphonates, Parfum, Preservative, Colorants.

## **Lovela sensitive**

Lovela je sensitivní tekutý prací prostředek, určen pro Vaše malé děti. Lovela vypere všechno Vaše prádlo dokonale, ale přitom tak šetrně, že může být použita i na praní prádla dětí s velmi citlivou pokožkou. Lovela byla testována pro jemnou dětskou pokožku a je doporučena "Institutem pro péči o matku a dítě" a "Sdružením Dětem zdraví" - sdružením pro pomoc dětem trpícím alergiemi.

Složení: < 5 % neiontové povrchově aktivní látky, mýdla, fosfonáty, 5- 15 % aniontové povrchově aktivní látky, Ostatní složky: parfém, optické zjasňovače, benzisothiazolinone.

## **Dedra oxydoo 100%**

Odstraňovač skvrn a plísní - univerzální bělidlo Oxydoo 100%

Složení: méně než 5% neionogenni a anionoaktivní tenzidy, více než 30% uhličitan sodný, CAS 497-17-9, ES: 207-838-8, uhličitan sodný peroxihydrát CAS 15630-89-4, ES 239-707-6, Limonene.

## **Excel eco**

Univerzální koncentrovaný prací prostředek, splňující podmínky pro propůjčení ochranné známky "Ekologicky šetrný výrobek". Jeho vlastnosti jsou dány především použitím biologicky snadno rozložitelných tenzidů a omezeného množství nebezpečných látek, které přispívá ke sníženému dopadu na vodní ekosystémy. Použití

tohoto výrobku označeného ekoznačkou, podle pokynů k dávkování, přispěje ke snížení znečišťování vod, vzniku odpadů a spotřeby energie.

Složení: méně než 5%: neiontové povrchově aktivní látky, mýdlo, enzym, parfém, konverzační látka: 30% a více: aniontové povrchově aktivní látky. Nebezpečné složky: alkylethoxysulfát sodný, alkylbenzensulfonát sodný, ethoxylovaný alkohol C12 - C14, kokoát draselný. Obsahuje enzym proteázu.

### **Ecover**

Prací prostředek na choulostivé prádlo. Výrobky Ecover jsou vyráběny v první ekologické továrně na světě, v provozu, který bere maximální ohled na životní prostředí. Jsou vyráběny na bázi minerálních látek a rostlinných složek. Ecover netestuje své výrobky na zvířatech a figuruje vzhledem ke svému přínosu k ochraně životního prostředí na čestné listině 500 vybraných firem OSN.

Složení: 5-15%: aniontové tenzidy, <5%:neiontové tenzidy, mýdlo, vonná látka (Limonen), konzervační činidlo (2bromo-2-nitropropan-1,3diol). Další: voda, chlorid sodný, kyselina citrónová.

### **Batole**

Bezfosfátový prací prostředek pro dětské prádlo. Batole prací prostředek se sníženou dermální dráždivostí vůči citlivé pokožce. Vyvážené složení zaručuje vysokou prací účinnost a minimální inkrustace. Přítomné enzymy napomáhají uvolnění nečistot bílkovinného a škrobového charakteru a tím i efektivnímu odstranění skvrn např. od trávy, krve, kakaa, omáček, kojenecké stravy apod. Optimální účinnost zaručuje použití avivážního prostředku Batole.

Složení: Méně než 5% neionické tenzidy, enzymy, křemičitany, polykarboxyláty, aktivátor bělení, regulátor pH, karboxymethylcelulóza, speciální přísada, odpěňovač, optický zjasňovač, parfém, fosfonáty, 5% nebo více, avšak méně než 15% bělicí složka na bázi aktivního kyslíku, uhličitany, anionické tenzidy včetně mýdla, zeolity, 30% a více plnidlo.

### 3.1.4 Průběh testů

#### 3.1.4.1 *Daphnia magna*

Pro optimální průběh testů bylo nutné zajistit dostatečné množství testovaných perlooček, nejlépe druh *Daphnia magna* (Perloočka velká). Perloočky byly získány v zahradním jezírku, kde byly nabírány po dobu optimálních venkovních podmínek. Světelné podmínky byly nastaveny na periodu 16:8 - 16 hodin světla a 8 hodiny tmy (Fu et al. 2012).

Byly nabírány do speciálních nádob i s kalem, který se vyskytoval na dně jezírka. V univerzitní laboratoři v termostatu bylo zavedeno několik chovů, kde měly optimální světelné podmínkami a teplotu. Živiny získávaly z kalu, který byl nabrán z jezírka.

Po zhotovení živného roztoku a základního roztoku testované látky se provedl limitní test pro zjištění reakce testovaného organismu na koncentraci 100 mg/l. Na základě výsledků se zhotovil základní test, který měl optimální koncentrační řadu např.: 200; 175; 150; 125; 100; 75; 50; 25; 10 mg/l (Foto. 7 a 8). Perloočky z připraveného chovu se před nasazením dali do menší nádoby (Foto. 11), pro lepší manipulaci s nimi. Do každé kádinky (objem 150 ml) se nalilo 100 ml roztoku a nasadilo se 10 dafnií (Foto. 10). Následně se udělaly 2 kontrolní vzorky, kde byla jenom ředící voda. Všechny kádinky s nasazenými dafniemi se zakryly mikrotenovou fólií a vložily se do termostatu s nastavenou teplotou 20°C (Foto. 9). Každý test se provedl minimálně dvakrát a imobilizace a úhyn dafnií se provedly jednou denně za 24 - 48 hodin. Všechny odečtené úhyny dafnií v daných testovaných koncentracích byly zapsány do tabulek. Následně se vypočítala imobilizace a úhyn v procentech. Hodnoty EC50 se vyhodnotily u každé testované látky zvlášť.

Podrobnější přehled lze nalézt v normě ČSN EN ISO 6341 (757751) Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*)- Zkouška akutní toxicity. Vydána: květen 2013. (ISO 6341:2012).

### 3.1.4.2 *Vibrio fischeri*

Bakteriální suspenze používané pro stanovení toxicity se připravují z komerčně dostupných lyofilizovaných bakterií, které se mohou uchovávat v mrazničce při doporučené teplotě  $-18^{\circ}\text{C}$  až  $-20^{\circ}\text{C}$ . Ampule s lyofilizovanou kulturou se vyjmou z mrazničky bezprostředně před rehydratací ve vodě. Pro rehydrataci se ve skleněné zkumavce ochladil 1 ml destilované vody na teplotu  $4^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ . Celý objem ochlazené vody se přilil k lyofilizovaným bakteriím v ampuli, aby se omezilo poškození buněk během rehydratačního procesu. Nejméně po 10min čekání se ze zásobní suspenze připravila zkušební suspenze v druhé řadě zkumavek vytemperovaných na  $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Ve stejných časových intervalech (5 s až 20 s), v jakých se později změřila intenzita, se přidalo 10  $\mu\text{l}$  zásobní suspenze k 500  $\mu\text{l}$  média ve zkumavkách, vytemperovaných na  $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Směsi se ručně protřepaly.

Pro každé ředění se nasadily duplikáty při zkušební teplotě  $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Luminometr (Obr. 6) se nastavil na vhodný rozsah blízko k maximálnímu zesílení. Po adaptaci po dobu nejméně 15 min se luminometrem změřila a zaznamenala intenzita luminiscence zkušební suspenze. Protože pro všechny vzorky musela být expozice stejná, použily se při měření intenzity luminiscence ve stejných časových intervalech stopky. Vhodný byl interval 5 s až 20 s. Intenzita luminiscence ve všech zkumavkách druhé sady zkumavek, včetně kontrol, se změřila a zaznamenala volitelně po 5 min a opět po 15 min a 30 min.

Podrobnější přehled lze nalézt v normě ČSN EN ISO 11348-3: Jakost vod - Stanovení inhibičního účinku vzorků vod na světelnou emisi *Vibrio fischeri* (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) - Část 3: Metoda s lyofilizovanými bakteriemi. Vydána: květen 2009 (ISO 11348-3:2007).



**Obr. 6:** LUMIstox 300 s termostatem (Maribor 2014)

## 4 Výsledky

### ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

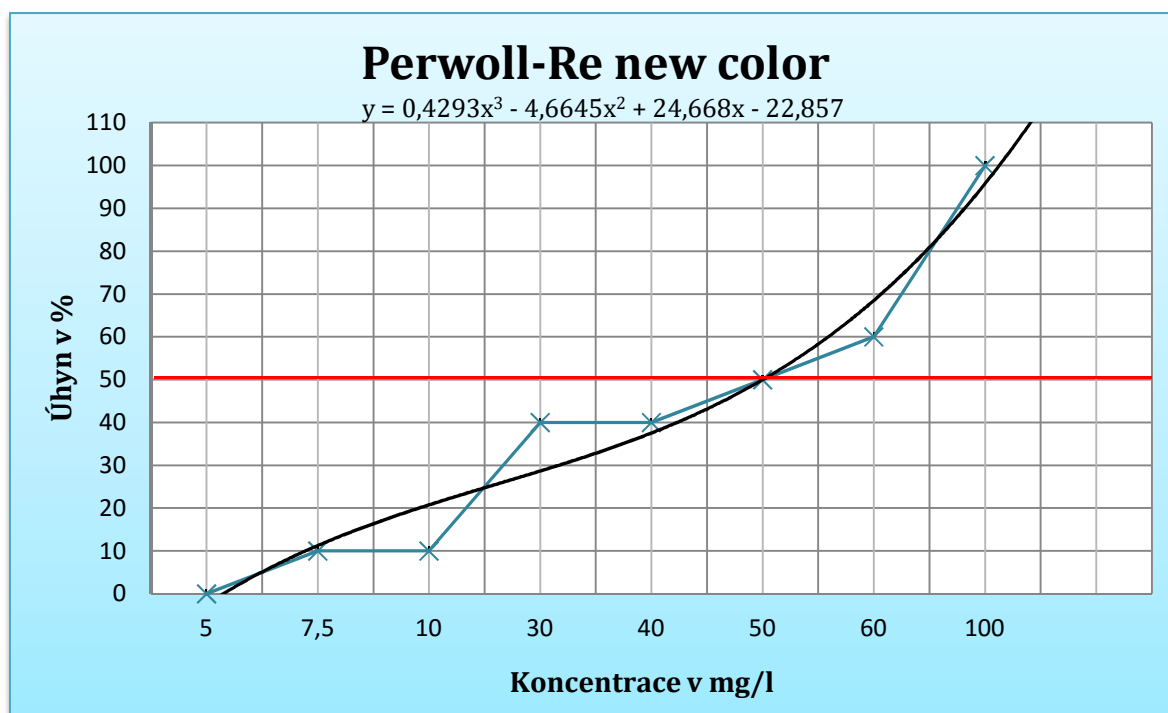
1. Test				
Perwoll-Re new color				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	100,00	10,00	10,00	100,00
2	60,00	4,00	6,00	60,00
3	50,00	3,00	5,00	50,00
4	40,00	3,00	4,00	40,00
5	30,00	0,00	4,00	40,00
6	10,00	0,00	1,00	10,00
7	7,50	0,00	1,00	10,00
8	5,00	0,00	0,00	0,00
9	2,50	0,00	0,00	0,00
10	1,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

Tab. č. 2: Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Perwoll-Re new color

Nasazení vzorku: 3.11 2015

Vyhodnocení vzorku: 4. - 5.11 2015

Výsledná hodnota EC50 = 48,57 mg/l



Graf č. 1: 1. vzorek - Perwoll-Re new color

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

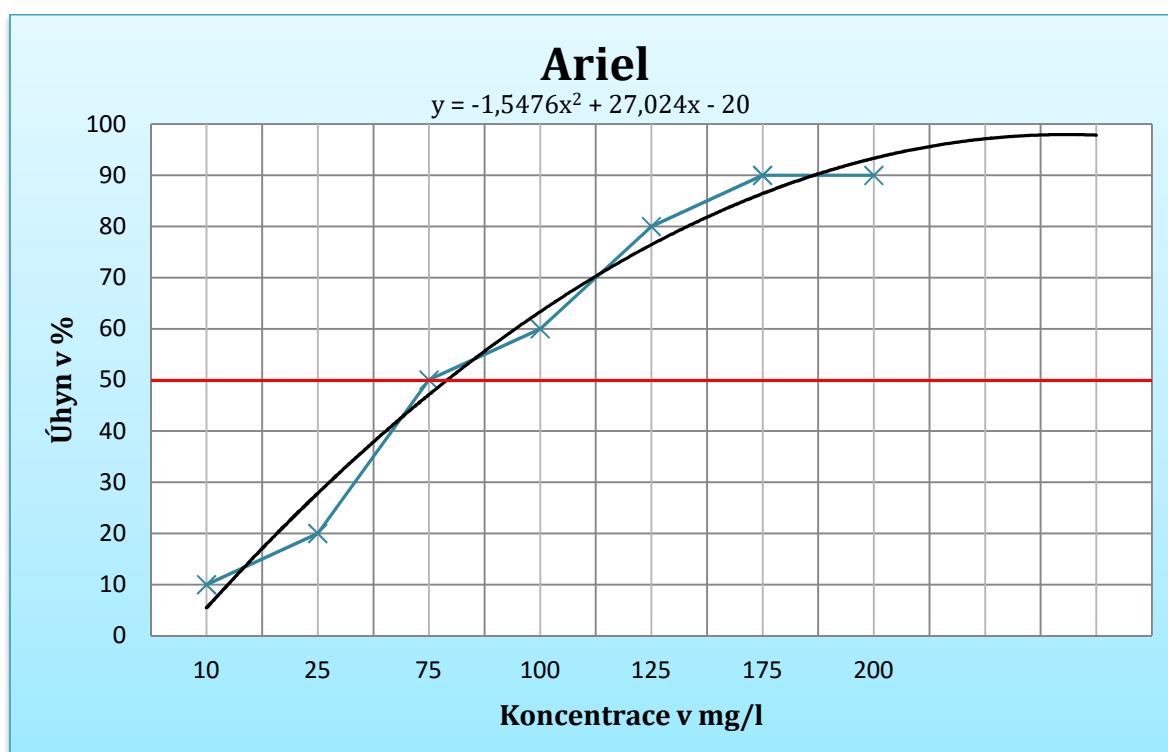
2. Test				
Ariel				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	200,00	6,00	9,00	90,00
2	175,00	6,00	9,00	90,00
3	125,00	5,00	8,00	80,00
4	100,00	4,00	6,00	60,00
5	75,00	2,00	5,00	50,00
6	25,00	1,00	2,00	20,00
7	10,00	0,00	1,00	10,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 3:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Ariel

**Nasazení vzorku:** 30.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 1. - 2.12 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 78,44mg/l**



**Graf č. 2:** 2. vzorek - Ariel



## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

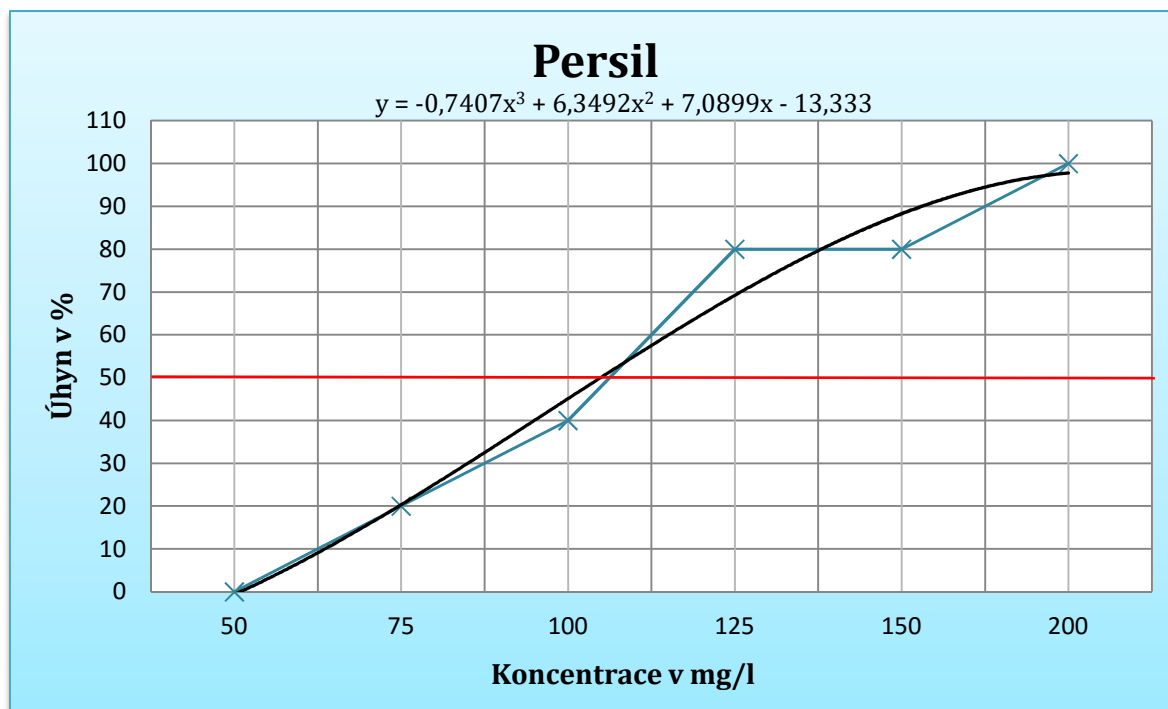
3. Test				
Persil				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	200,00	8,00	10,00	100,00
2	150,00	4,00	8,00	80,00
3	125,00	3,00	8,00	80,00
4	100,00	2,00	4,00	40,00
5	75,00	0,00	2,00	20,00
6	50,00	0,00	0,00	0,00
7	25,00	0,00	0,00	0,00
8	10,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

Tab. č. 4: Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Persil

Nasazení vzorku: 7.12 2015

Vyhodnocení vzorku: 8. - 9.12 2015

Výsledná hodnota EC50 = 108,62 mg/l



Graf č. 3: 3. vzorek - Persil

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

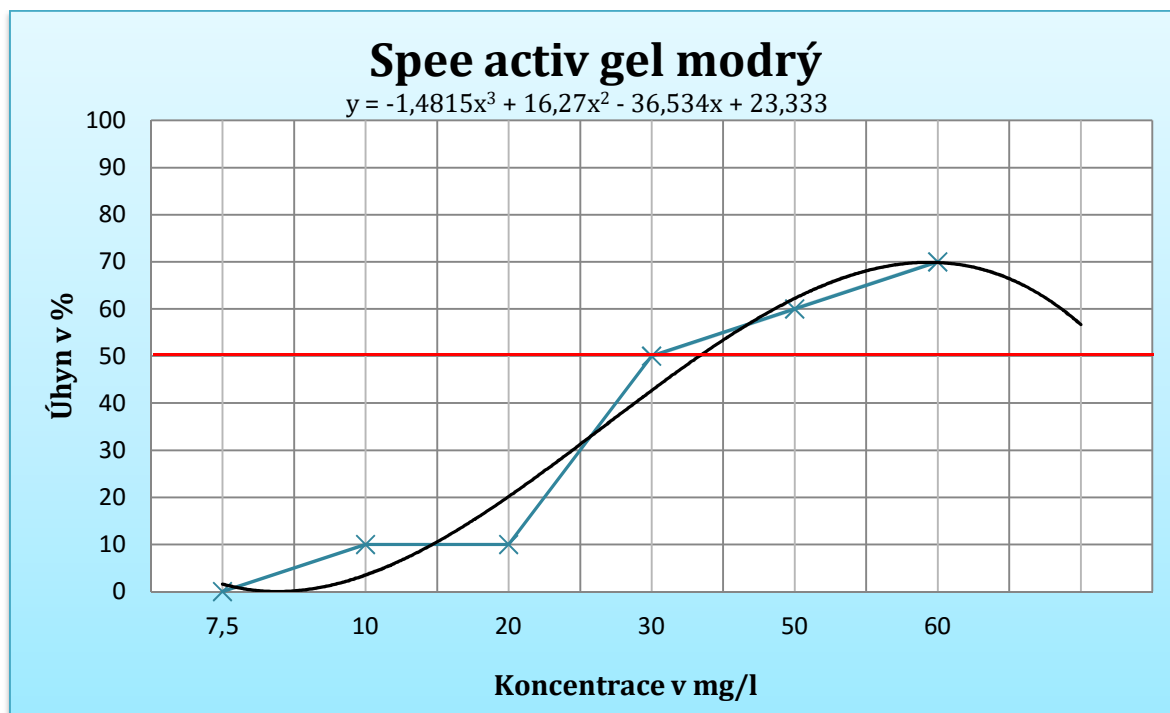
4. Test				
Spee activ gel modrý				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	60,00	6,00	7,00	70,00
2	50,00	5,00	6,00	60,00
3	30,00	1,00	5,00	50,00
4	20,00	0,00	1,00	10,00
5	10,00	1,00	1,00	10,00
6	7,50	0,00	0,00	0,00
7	5,00	0,00	0,00	0,00
8	2,50	0,00	0,00	0,00
9	1,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 5 :** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Spee activ gel

**Nasazení vzorku:** 3.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 4. - 5.11 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 28,11 mg/l**



**Graf č. 4:** 4. vzorek - Spee active gel modrý

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

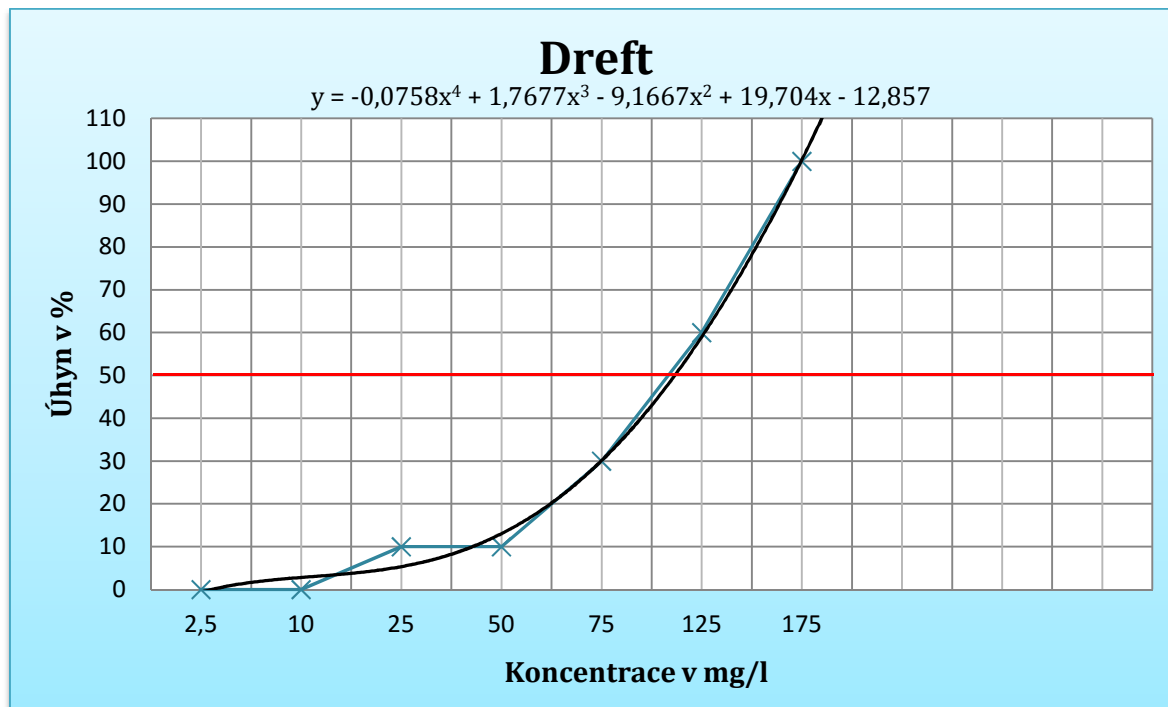
5. Test				
Dreft				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	175,00	10,00	10,00	100,00
2	125,00	6,00	6,00	60,00
3	75,00	2,00	3,00	30,00
4	50,00	1,00	1,00	10,00
5	25,00	0,00	1,00	10,00
6	10,00	0,00	0,00	0,00
7	2,50	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 6:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Dreft

**Nasazení vzorku:** 18.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 19. - 20.11 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 112,84**



**Graf č. 5:** 5. vzorek - Dreft

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

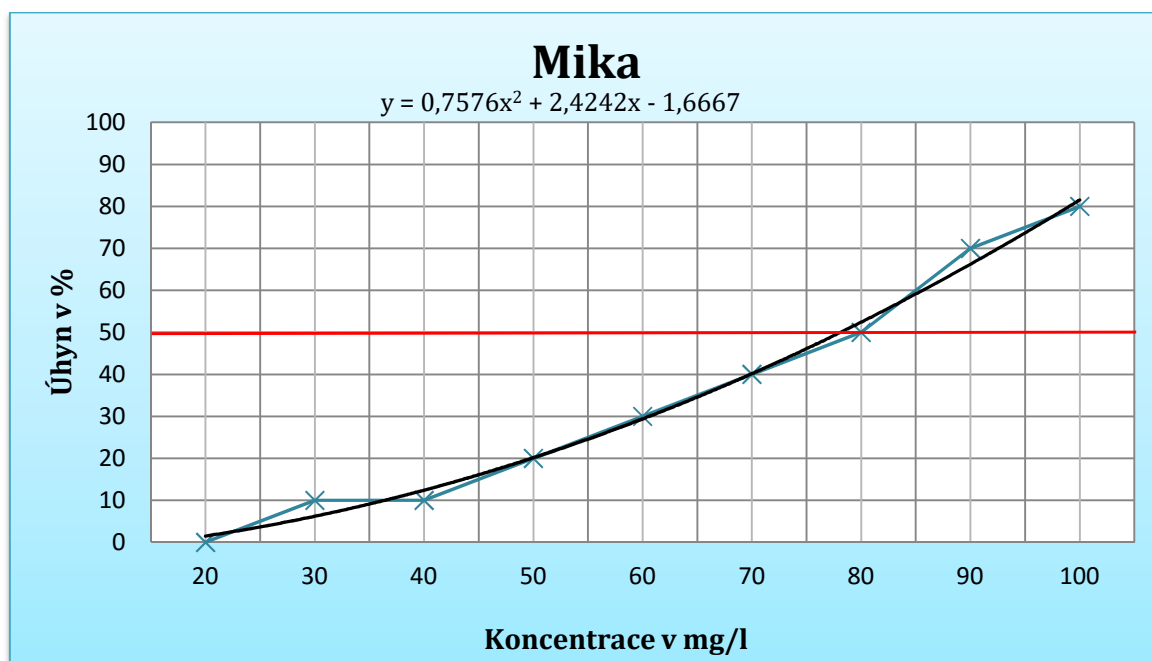
6. Test				
Mika				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	100,00	5,00	8,00	80,00
2	90,00	1,00	7,00	70,00
3	80,00	1,00	5,00	50,00
4	70,00	1,00	4,00	40,00
5	60,00	1,00	3,00	30,00
6	50,00	1,00	2,00	20,00
7	40,00	1,00	1,00	10,00
8	30,00	0,00	1,00	10,00
9	20,00	0,00	0,00	0,00
10	10,00	0,00	0,00	0,00
11	7,50	0,00	0,00	0,00
12	2,50	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 7:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Mika Gel na černé prádlo

**Nasazení vzorku:** 24.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 25. - 26.11 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 77,21 mg/l**



**Graf č. 6:** 6. vzorek - Mika - Gel na černé prádlo

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

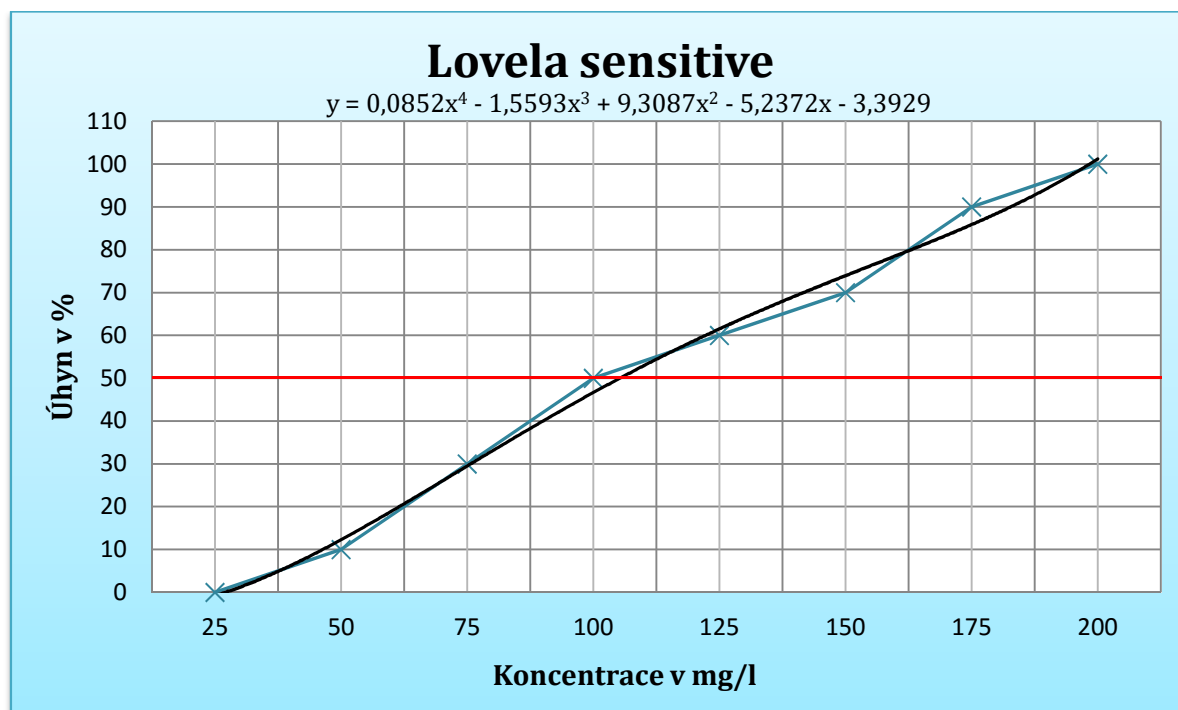
7. Test				
Lovela sensitive				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	200,00	10,00	10,00	100,00
2	175,00	5,00	9,00	90,00
3	150,00	5,00	7,00	70,00
4	125,00	4,00	6,00	60,00
5	100,00	3,00	5,00	50,00
6	75,00	3,00	3,00	30,00
7	50,00	1,00	1,00	10,00
8	25,00	0,00	0,00	0,00
9	10,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 8:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Lovela sensitive

**Nasazení vzorku:** 30.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 1. - 2.12 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 108,45 mg/l**



**Graf č. 7:** 7. vzorek - Lovela sensitive

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

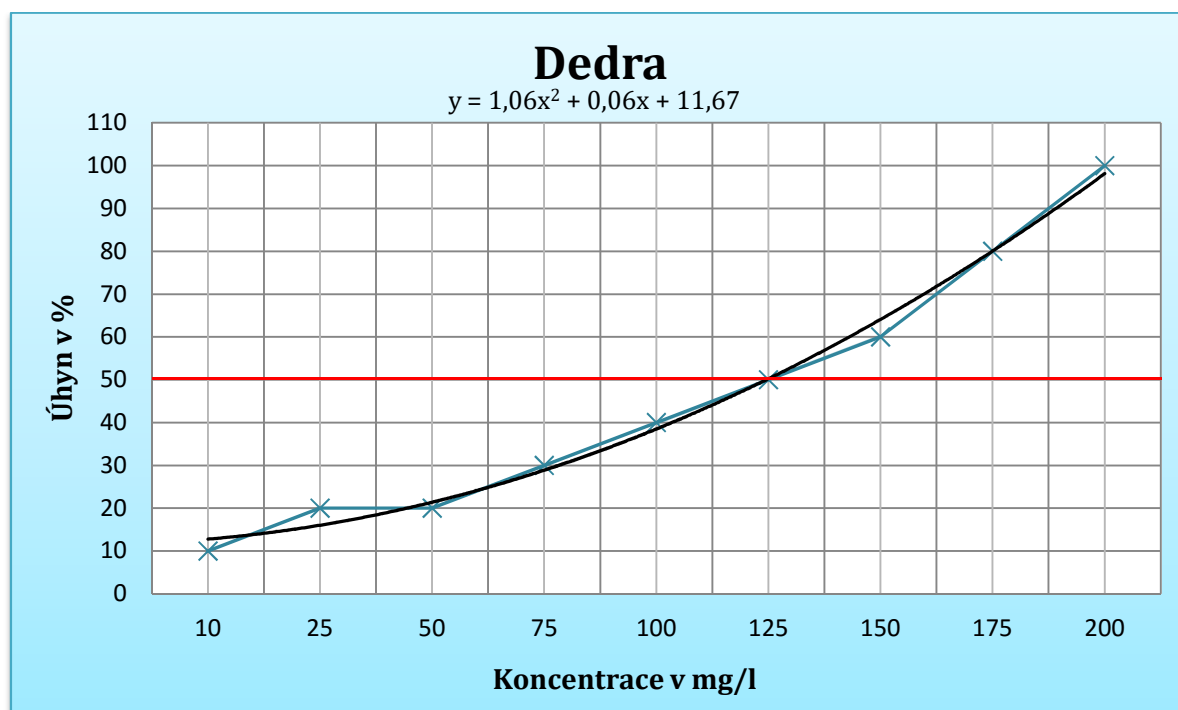
8. Test				
Dedra				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	200,00	8,00	10,00	100,00
2	175,00	3,00	8,00	80,00
3	150,00	2,00	6,00	60,00
4	125,00	1,00	5,00	50,00
5	100,00	1,00	4,00	40,00
6	75,00	0,00	3,00	30,00
7	50,00	0,00	2,00	20,00
8	25,00	0,00	2,00	20,00
9	10,00	1,00	1,00	10,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 9:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Dedra

**Nasazení vzorku:** 24.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 25. - 26.11 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 126,94 mg/l**



**Graf č. 8:** 8. vzorek - Dedra

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

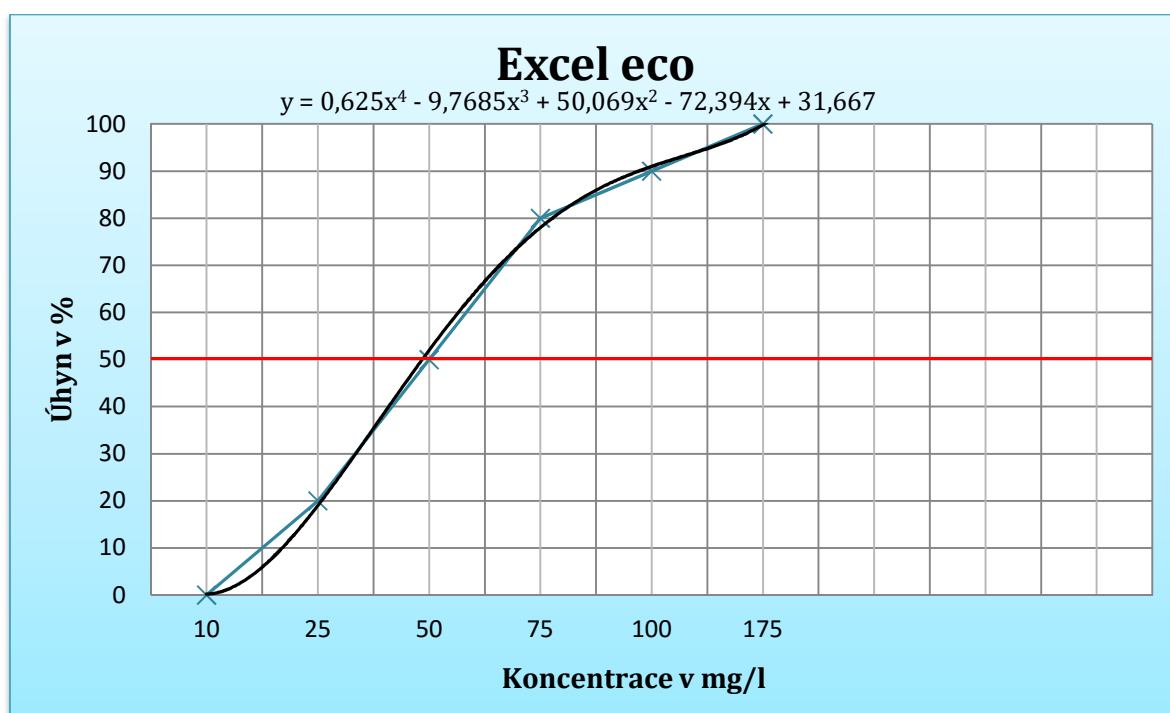
9. Test				
Excel eco				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	175,00	10,00	10,00	100,00
2	100,00	6,00	9,00	90,00
3	75,00	5,00	8,00	80,00
4	50,00	1,00	5,00	50,00
5	25,00	0,00	2,00	20,00
6	10,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 10:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Excel eco

**Nasazení vzorku:** 18.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 19. - 20.11 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 44,67 mg/l**



**Graf č. 9:** 9. vzorek - Excel eco

## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

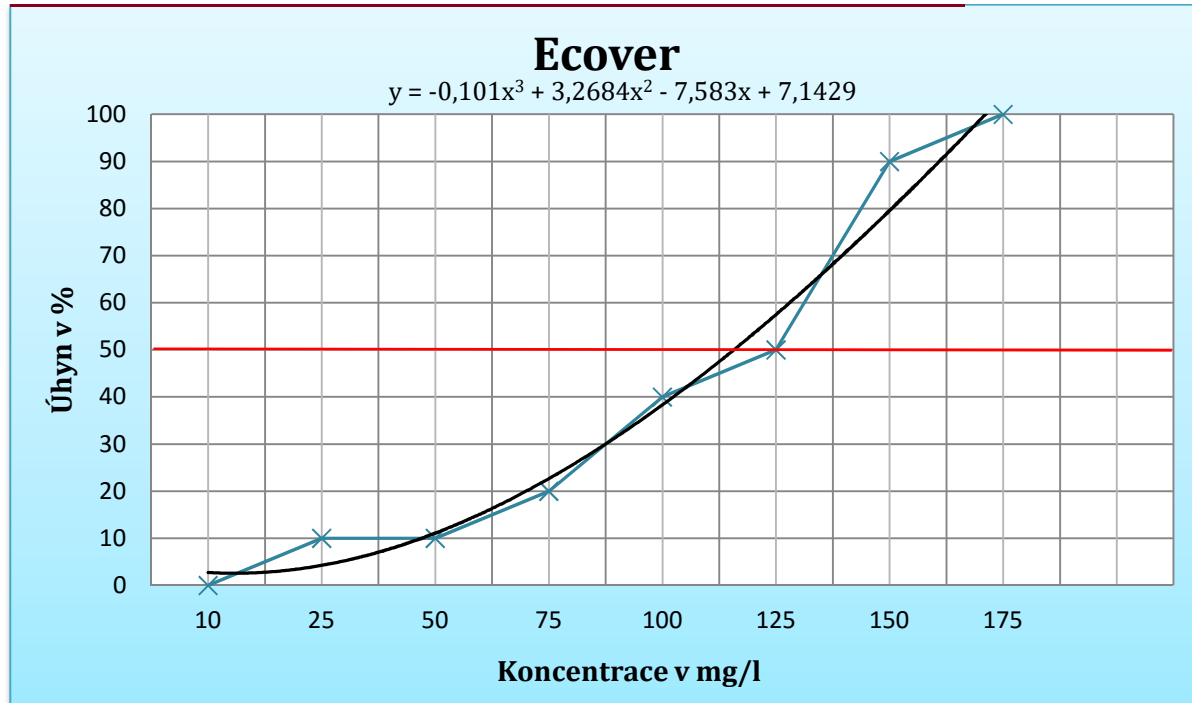
10. Test				
Ecover				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	175,00	10,00	10,00	100,00
2	150,00	7,00	9,00	90,00
3	125,00	0,00	5,00	50,00
4	100,00	2,00	4,00	40,00
5	75,00	1,00	2,00	20,00
6	50,00	0,00	1,00	10,00
7	25,00	0,00	1,00	10,00
8	10,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 11:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Ecover

**Nasazení vzorku:** 18.11 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 19. - 20.11 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 121,43 mg/l**



**Graf č. 10:** 10. vzorek - Ecover



## ZKOUŠKA INHIBICE POHYBLIVOSTI *DAPHNIA MAGNA*

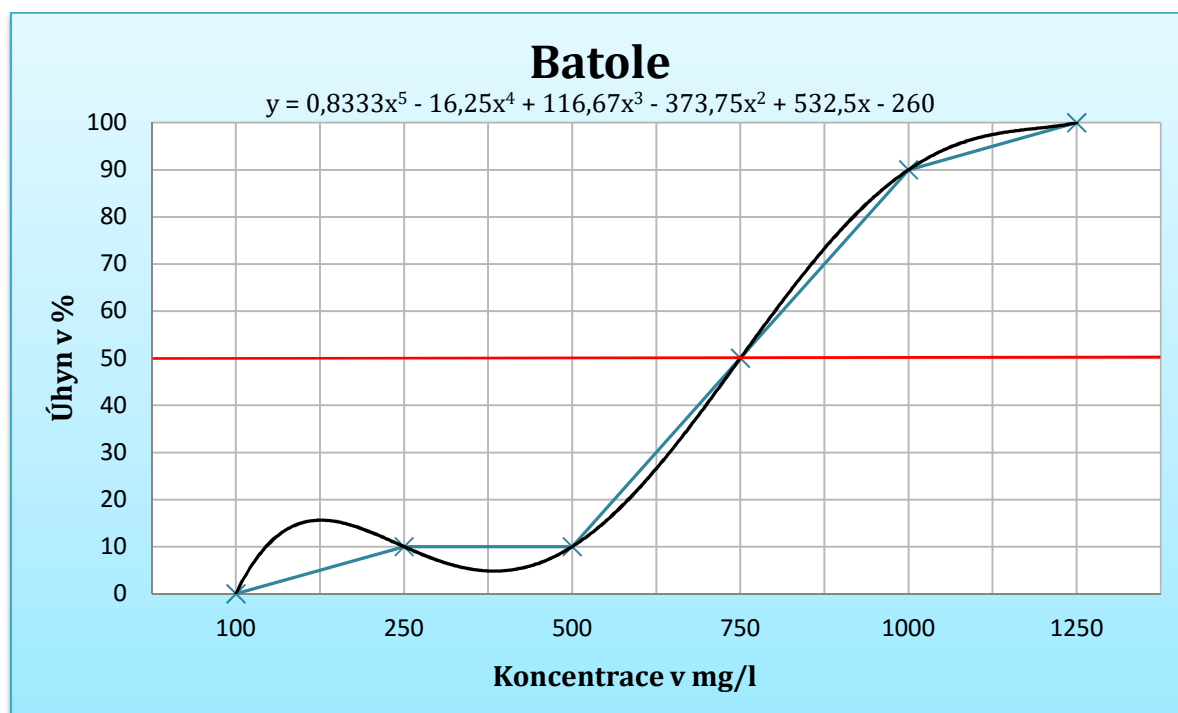
11. Test				
Batole				
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Úhyn za 24h (počet jedinců)	Úhyn za 48h (počet jedinců)	Úhyn v %
1	1250,00	8,00	10,00	100,00
2	1000,00	6,00	9,00	90,00
3	750,00	2,00	5,00	50,00
4	500,00	0,00	1,00	10,00
5	250,00	0,00	1,00	10,00
6	100,00	0,00	0,00	0,00
K1		0,00	0,00	0,00
K2		0,00	0,00	0,00

**Tab. č. 12:** Naměřené hodnoty inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* na vzorku Batole

**Nasazení vzorku:** 7.12 2015

**Vyhodnocení vzorku:** 8. - 9.12 2015

**Výsledná hodnota EC50 = 792,50 mg/l**



**Graf č. 11:** 11. vzorek - Batole

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

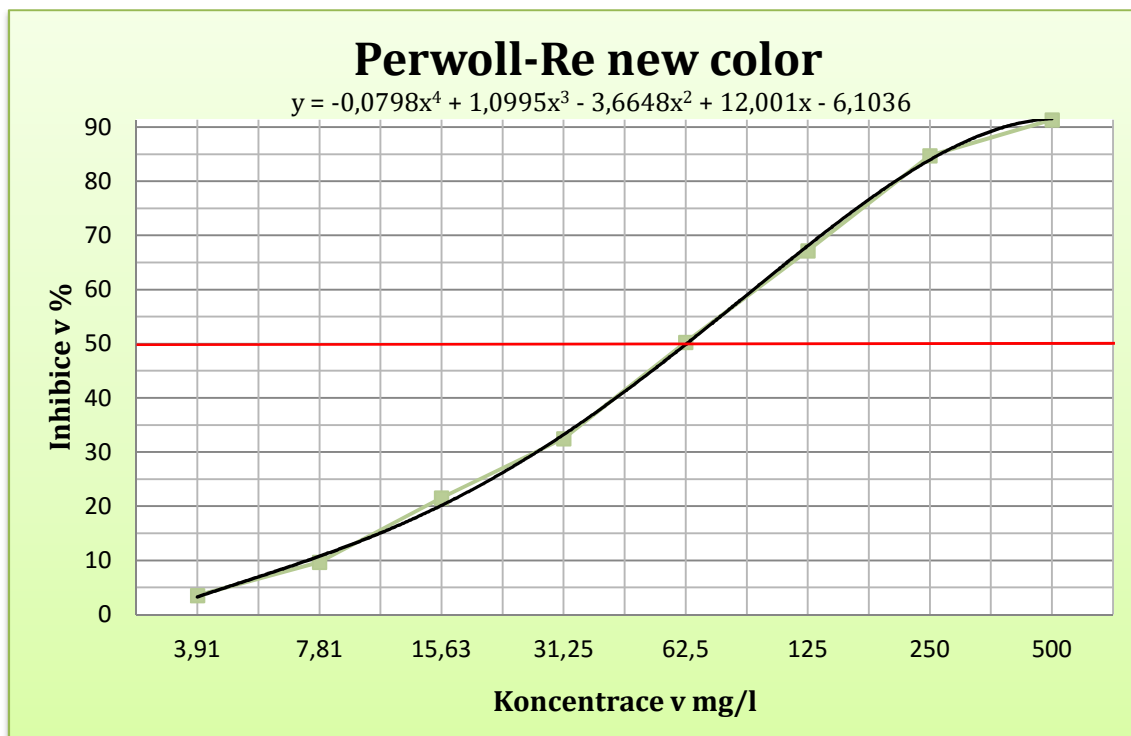
<b>1. Test</b>			
<b>Perwoll-Re new color</b>			
<b>Koncentrace číslo</b>	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence (I <sub>30</sub> )	Inhibice bioluminiscence v % (H <sub>30</sub> )
<b>1</b>	500,00	38,00	91,33
<b>2</b>	250,00	67,00	84,72
<b>3</b>	125,00	144,00	67,16
<b>4</b>	62,50	218,00	50,30
<b>5</b>	31,25	296,00	32,50
<b>6</b>	15,63	344,00	21,55
<b>7</b>	7,81	396,00	9,69
<b>8</b>	3,91	423,00	3,53
<b>K1</b>	0,00	440,00	0,00
<b>K2</b>	0,00	437,00	0,00

**Tab. č. 13:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Perwoll-Re new color

**Nasazení:** 1.4 2016

**Vyhodnocení:** 1.4 2016

**Výsledná hodnota EC50 = 60,00mg/l**



**Graf č. 12:** 1. vzorek - Perwoll-Re new color

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

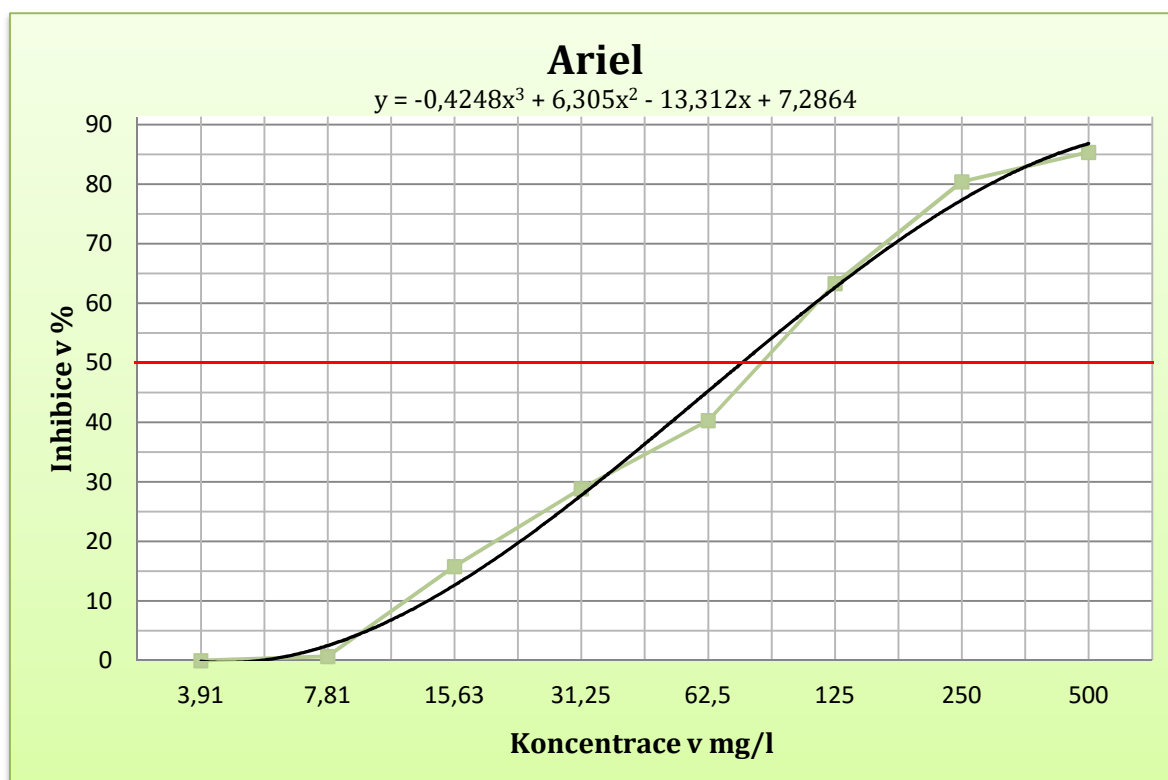
<b>2. Test</b>			
<b>Ariel</b>			
<b>Koncentrace číslo</b>	<b>Koncentrace v mg/l</b>	<b>Naměřená bioluminiscence (I<sub>30</sub>)</b>	<b>Inhibice bioluminiscence v % (H<sub>30</sub>)</b>
1	500,00	65,00	85,36
2	250,00	87,00	80,41
3	125,00	163,00	63,29
4	62,50	265,00	40,32
5	31,25	316,00	28,83
6	15,63	374,00	15,77
7	7,81	441,00	0,68
8	3,91	488,00	0,00
K1	0,00	442,00	0,00
K2	0,00	446,00	0,00

**Tab. č. 14:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Ariel

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 88,64 mg/l



**Graf č. 13:** 2. vzorek - Ariel

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

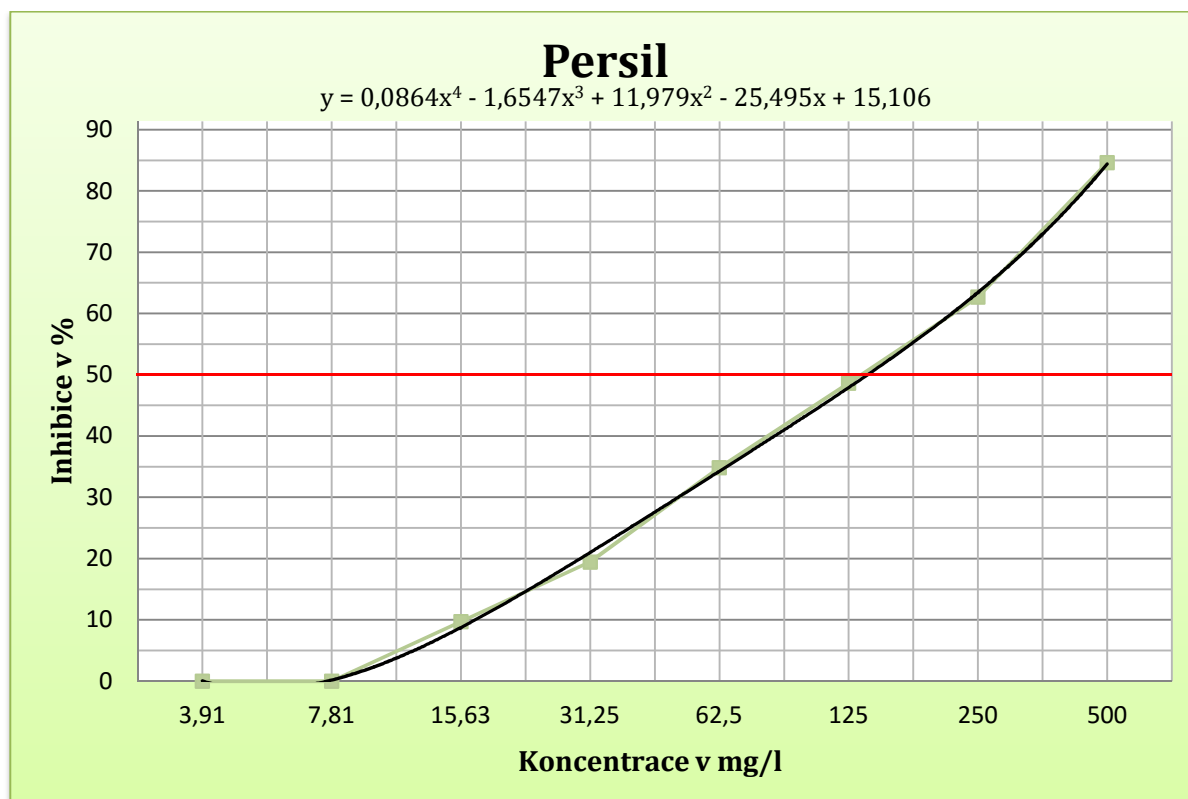
<b>3. Test</b>			
<b>Persil</b>			
<b>Koncentrace číslo</b>	<b>Koncentrace v mg/l</b>	<b>Naměřená bioluminiscence (I<sub>30</sub>)</b>	<b>Inhibice bioluminiscence v % (H<sub>30</sub>)</b>
<b>1</b>	500,00	68,00	84,62
<b>2</b>	250,00	165,00	62,67
<b>3</b>	125,00	227,00	48,64
<b>4</b>	62,50	288,00	34,84
<b>5</b>	31,25	356,00	19,46
<b>6</b>	15,63	399,00	9,73
<b>7</b>	7,81	442,00	0,00
<b>8</b>	3,91	485,00	0,00
<b>K1</b>	0,00	441,00	0,00
<b>K2</b>	0,00	443,00	0,00

**Tab. č. 15:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Persil

**Nasazení:** 1.4 2016

**Vyhodnocení:** 1.4 2016

**Výsledná hodnota EC50 = 129,03mg/l**



**Graf č. 14:** 3. vzorek - Persil

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

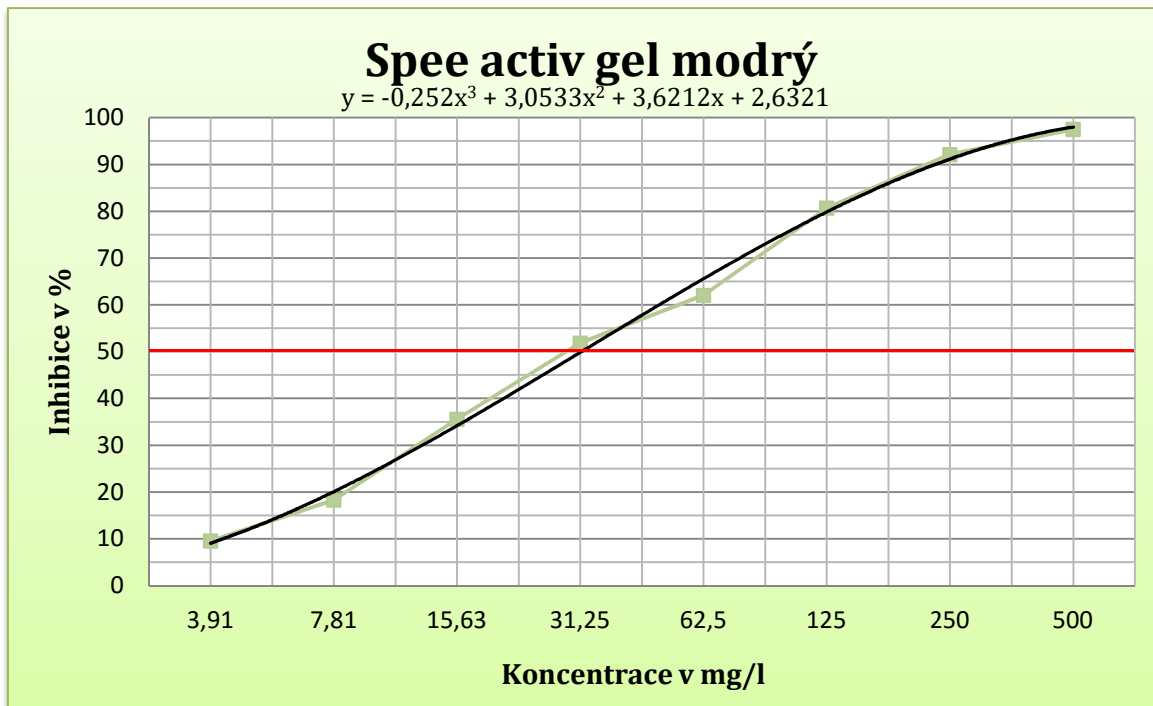
4. Test			
Spee activ gel modrý			
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence (I <sub>30</sub> )	Inhibice bioluminiscence v % (H <sub>30</sub> )
1	500,00	11,00	97,53
2	250,00	35,00	92,14
3	125,00	86,00	80,70
4	62,50	169,00	62,07
5	31,25	215,00	51,86
6	15,63	287,00	35,58
7	7,81	364,00	18,29
8	3,91	403,00	9,54
K1	0,00	445,00	0,00
K2	0,00	446,00	0,00

**Tab. č. 16:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Spee activ gel modrý

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 31,87 mg/l



**Graf č. 15:** 4. vzorek - Spee activ gel modrý

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

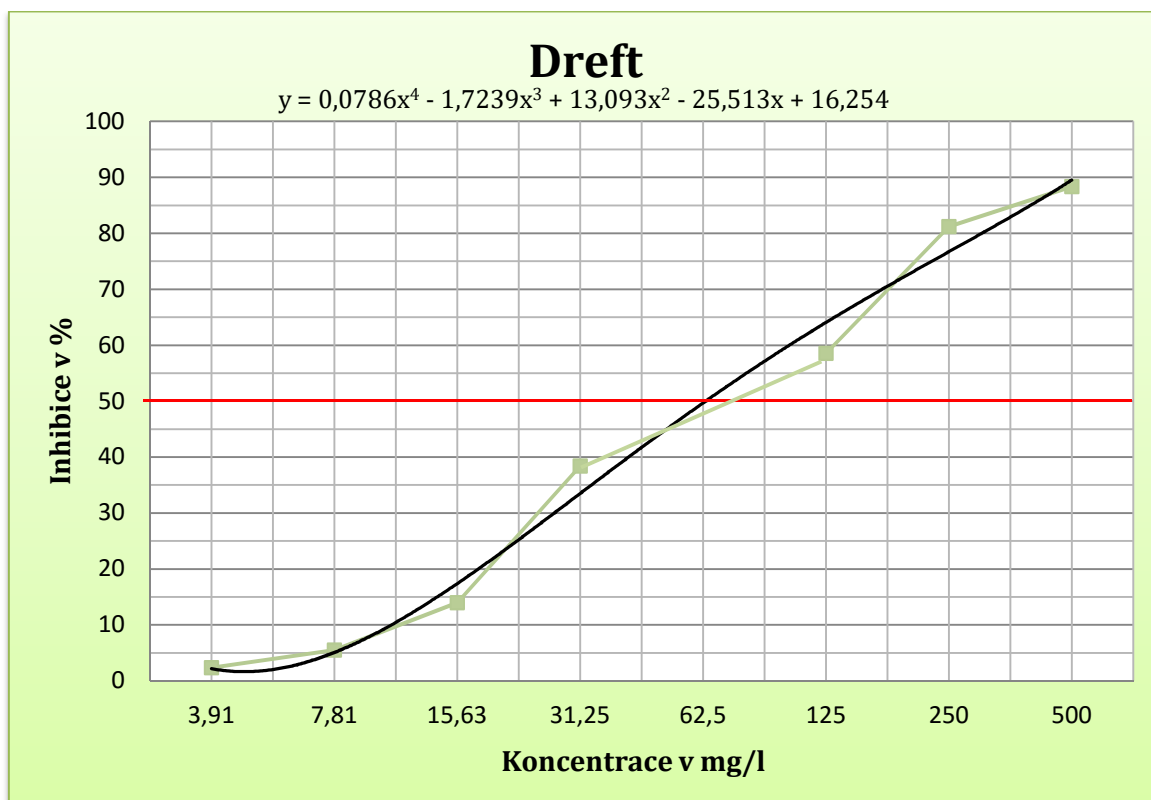
5. Test			
Dreft			
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence (I <sub>30</sub> )	Inhibice bioluminiscence v % (H <sub>30</sub> )
1	500,00	52,00	88,35
2	250,00	84,00	81,19
3	125,00	185,00	58,57
4	31,25	275,00	38,41
5	15,63	384,00	14,00
6	7,81	422,00	5,49
7	3,91	436,00	2,35
K1	0,00	445,00	0,00
K2	0,00	448,00	0,00

**Tab. č. 17:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Dreft

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 62,58 mg/l



**Graf č. 16:** 5. vzorek - Dreft

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

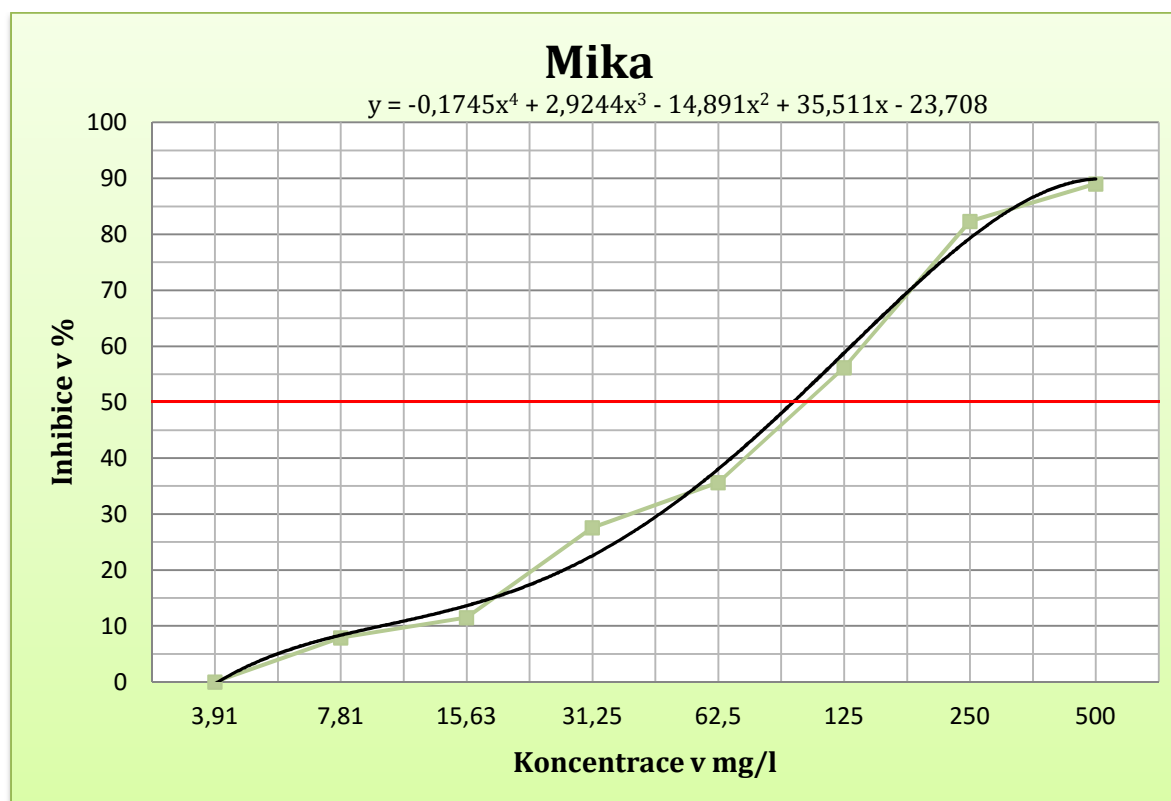
6. Test			
Mika			
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence (I <sub>30</sub> )	Inhibice bioluminiscence v % (H <sub>30</sub> )
1	500,00	49,00	89,05
2	250,00	79,00	82,35
3	125,00	196,00	56,20
4	62,50	288,00	35,64
5	31,25	324,00	27,60
6	15,63	396,00	11,51
7	7,81	412,00	7,93
8	3,91	487,00	0,00
K1	0,00	448,00	0,00
K2	0,00	447,00	0,00

**Tab. č. 18:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Mika

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 102,38mg/l



**Graf č. 17:** 6. vzorek - Mika

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

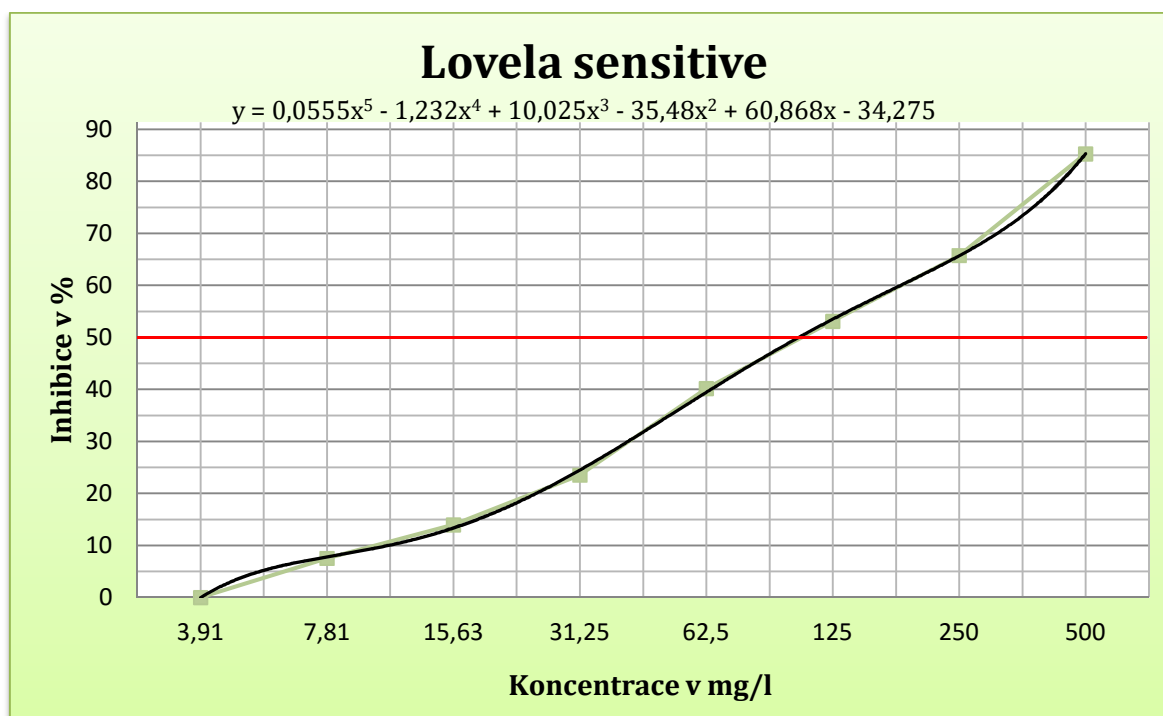
<b>7. Test</b>			
<b>Lovela sensitive</b>			
<b>Koncentrace číslo</b>	<b>Koncentrace v mg/l</b>	<b>Naměřená bioluminiscence (I<sub>30</sub>)</b>	<b>Inhibice bioluminiscence v % (H<sub>30</sub>)</b>
1	500,00	66,00	85,33
2	250,00	154,00	65,78
3	125,00	211,00	53,11
4	62,50	269,00	40,22
5	31,25	344,00	23,56
6	15,63	387,00	14,00
7	7,81	416,00	7,56
8	3,91	489,00	0,00
K1	0,00	451,00	0,00
K2	0,00	449,00	0,00

**Tab. č. 19:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Lovela sensitive

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 108,05mg/l



**Graf č. 18:** 7. vzorek - Lovela sensitive



## STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO*

### *FISCHERI*

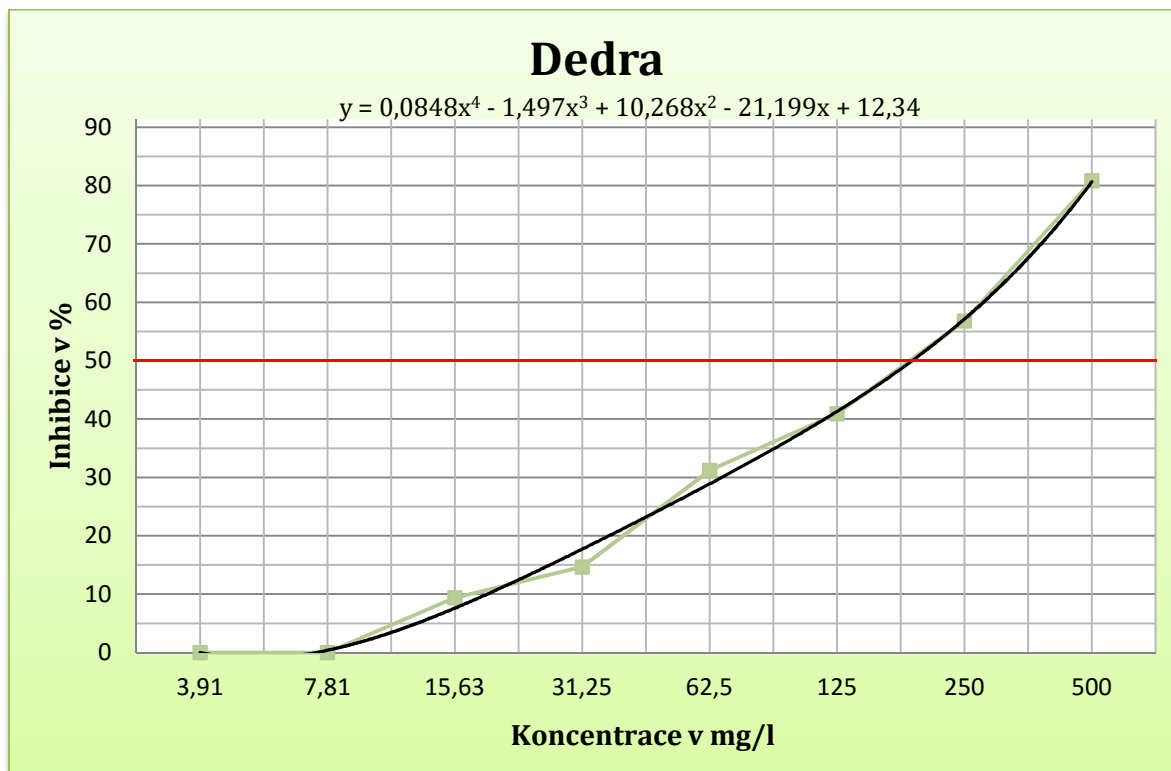
8. Test			
Dedra			
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence ( $I_{30}$ )	Inhibice bioluminiscence v % ( $H_{30}$ )
1	500,00	87,00	80,82
2	250,00	196,00	56,78
3	125,00	268,00	40,90
4	62,50	312,00	31,20
5	31,25	387,00	14,66
6	15,63	411,00	9,37
7	7,81	462,00	0,00
8	3,91	521,00	0,00
K1	0,00	454,00	0,00
K2	0,00	453,00	0,00

Tab. č. 20: Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Dedra

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 190,96 mg/l



Graf č. 19: 8. vzorek - Dedra

## STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO*

### *FISCHERI*

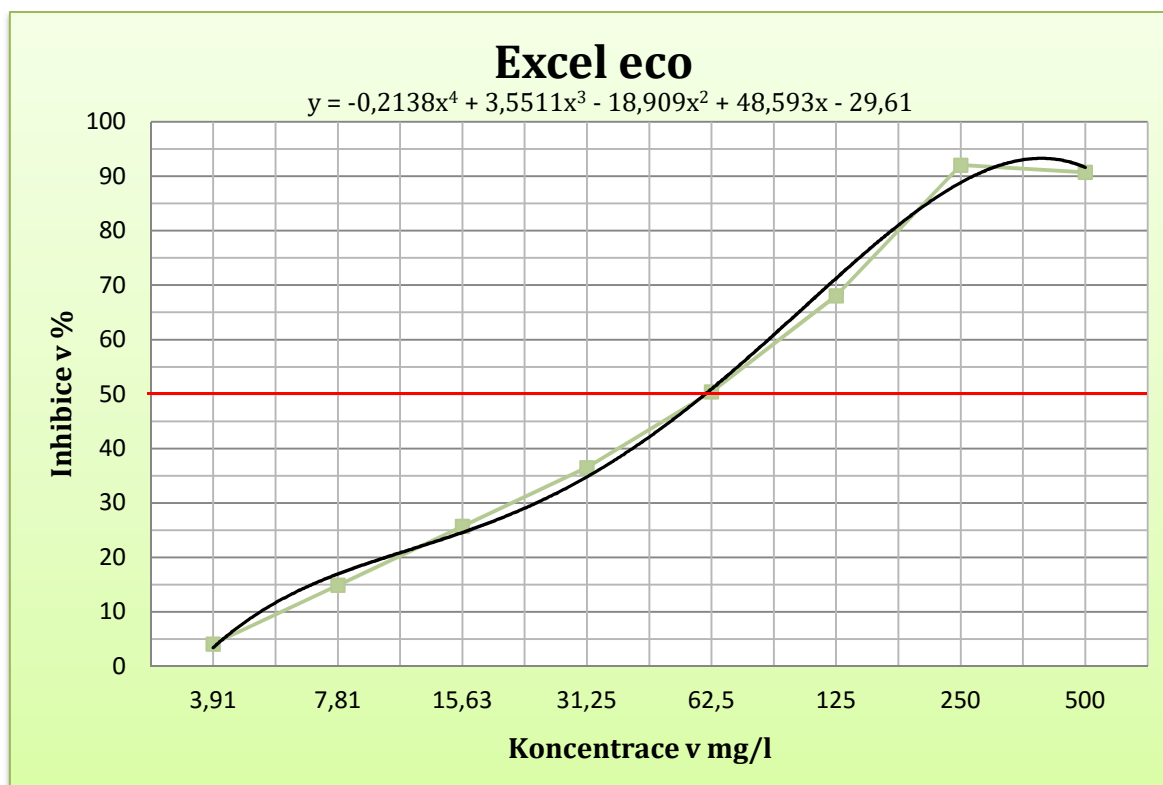
9. Test			
Excel eco			
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence (I <sub>30</sub> )	Inhibice bioluminiscence v % (H <sub>30</sub> )
1	500,00	42,00	90,74
2	250,00	36,00	92,06
3	125,00	145,00	68,03
4	62,50	225,00	50,39
5	31,25	288,00	36,49
6	15,63	337,00	25,69
7	7,81	386,00	14,88
8	3,91	435,00	4,08
K1	0,00	455,00	0,00
K2	0,00	452,00	0,00

Tab. č. 22: Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Excel eco

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 57,75mg/l



Graf č. 20: 9. vzorek - Excel eco

**STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO FISCHERI***

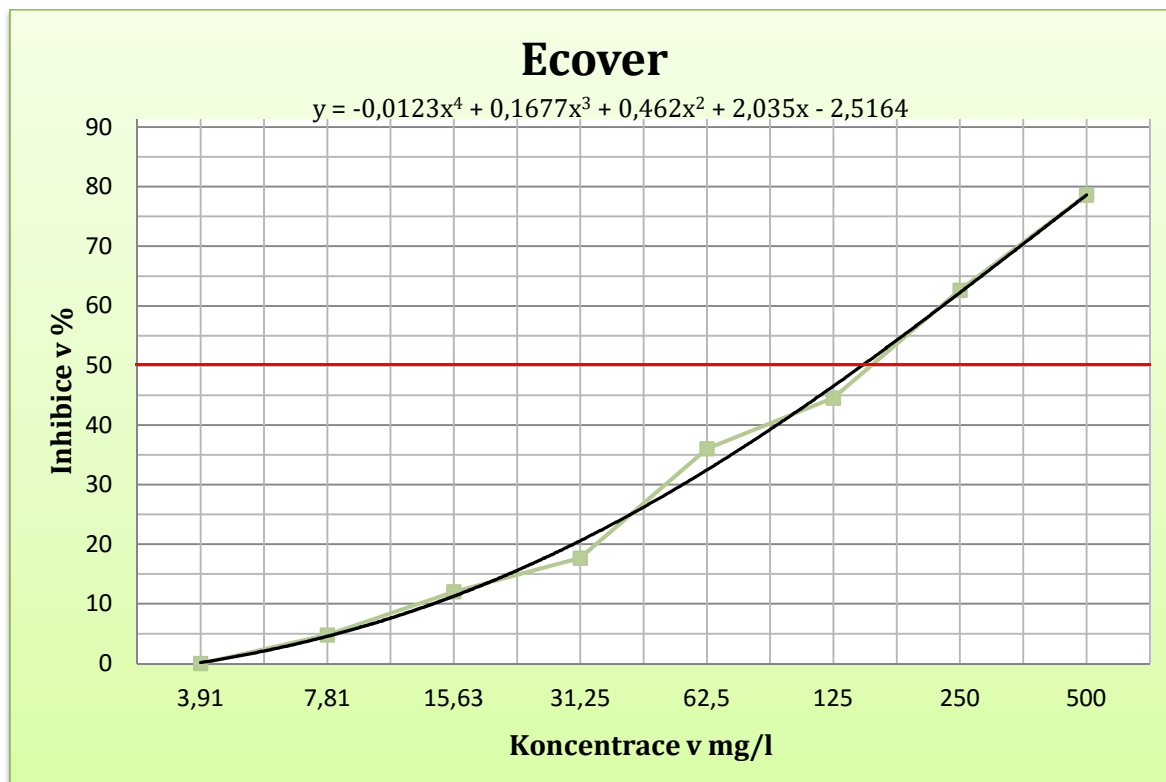
<b>10. Test</b>			
<b>Ecover</b>			
<b>Koncentrace číslo</b>	<b>Koncentrace v mg/l</b>	<b>Naměřená bioluminiscence (I<sub>30</sub>)</b>	<b>Inhibice bioluminiscence v % (H<sub>30</sub>)</b>
1	500,00	98,00	78,60
2	250,00	171,00	62,66
3	125,00	254,00	44,54
4	62,50	293,00	36,03
5	31,25	377,00	17,69
6	15,63	403,00	12,01
7	7,81	436,00	4,80
8	3,91	494,00	0,00
K1	0,00	457,00	0,00
K2	0,00	459,00	0,00

**Tab. č. 23:** Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Ecover

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 164,77mg/l



**Graf č. 21:** 10. vzorek - Ecover

## STANOVENÍ INHIBIČNÍHO ÚČINKU VZORKŮ VOD NA SVĚTELNOU EMISI *VIBRIO*

### *FISCHERI*

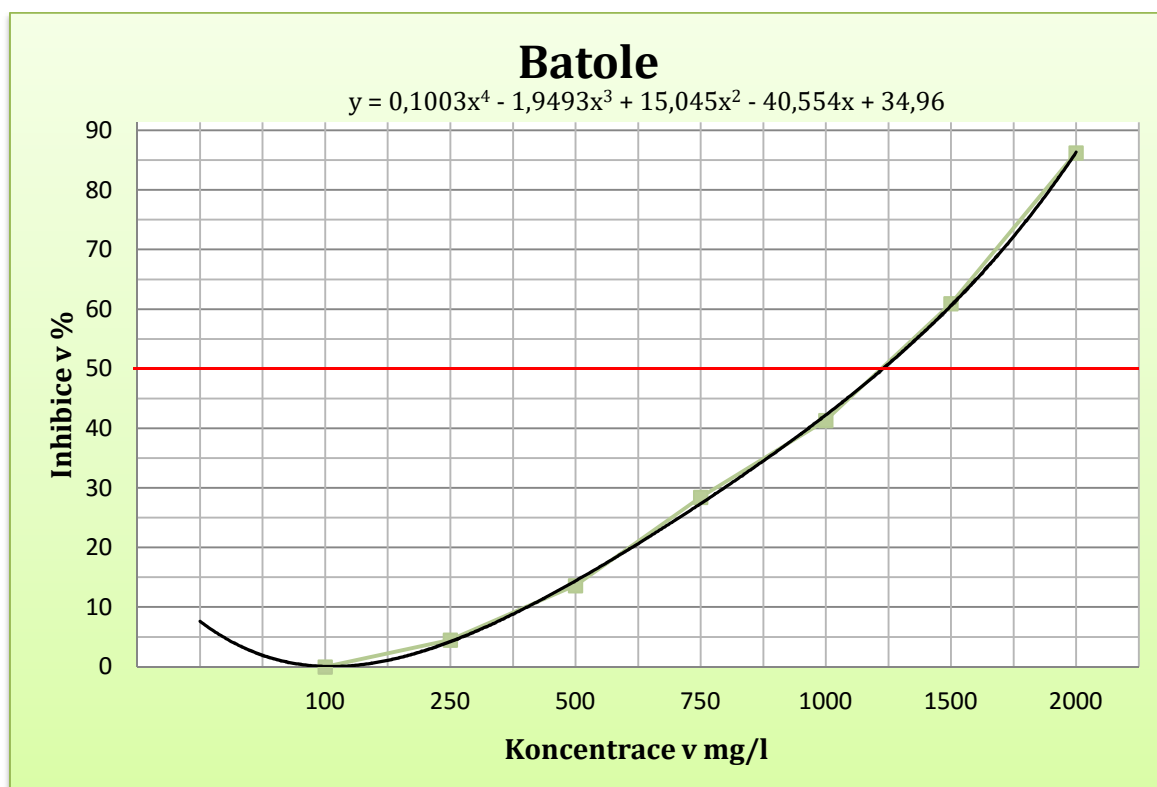
11. Test			
Batole			
Koncentrace číslo	Koncentrace v mg/l	Naměřená bioluminiscence (I <sub>30</sub> )	Inhibice bioluminiscence v % (H <sub>30</sub> )
1	2000,00	63,00	86,26
2	1500,00	179,00	60,96
3	1000,00	569,00	41,33
4	750,00	328,00	28,46
5	500,00	396,00	13,63
6	250,00	438,00	4,47
7	100,00	578,00	0,00
8	50,00	624,00	0,00
K1	0,00	458,00	0,00
K2	0,00	459,00	0,00

Tab. č. 24: Naměřené hodnoty bioluminiscence *Vibrio fischeri* na vzorku Batole

Nasazení: 1.4 2016

Vyhodnocení: 1.4 2016

Výsledná hodnota EC50 = 1258,29mg/l



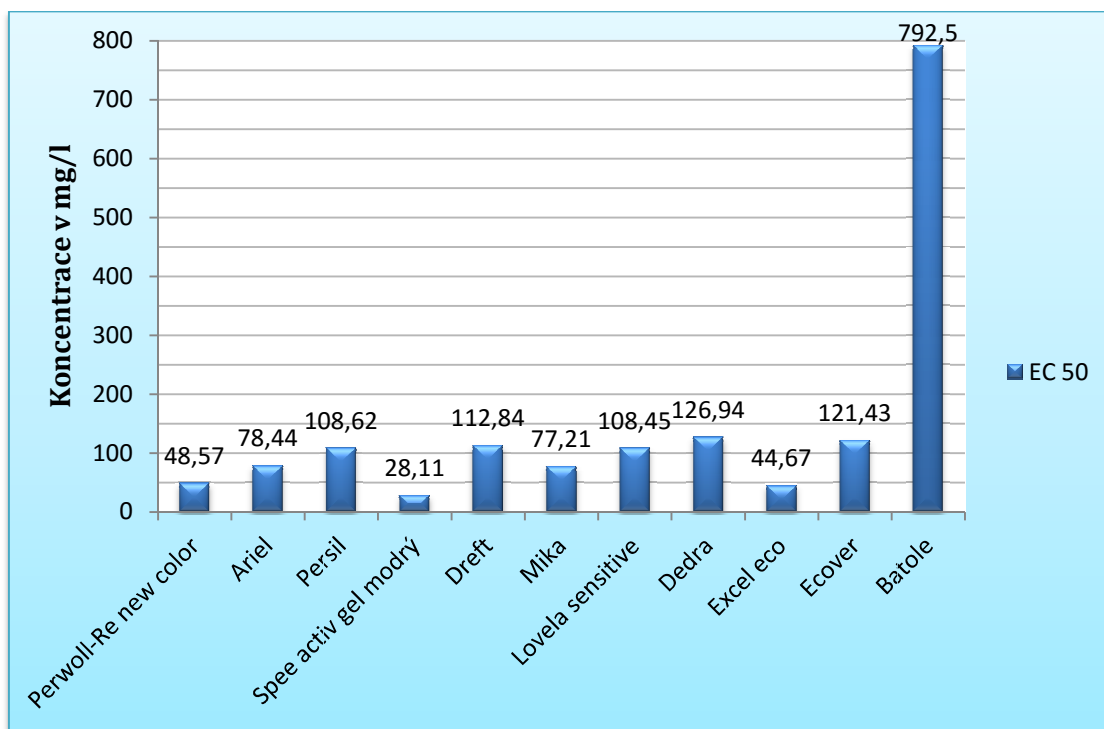
Graf č. 22: 11. vzorek - Batole

## 5 Diskuze

Účelem této práce bylo zjistit míru škodlivosti na vodní organismy v tomto případě na *Daphnia magna* a *Vibrio fischeri*. Bylo vybráno 11 pracích prášků z toho 3 ekologických (Dedra, Excel eco, Ecover) a 2 citlivých na lidskou pokožku (Lovela sensitive, Batole).

Z grafu (Graf č. 23) lze po porovnání hodnot 48h EC50 u jednotlivých pracích prášků vyčíst, že největší úhyn a imobilizace jedinců organismu *Daphnia magna* se vyskytla u Spee activ gelu, kde hodnota 28,11 mg/l byla výrazně nižší oproti ostatním. Zatímco u pracího prášku Batole, který se řadí mezi prací prášky citlivé na pokožku, byla naměřena hodnota 48h EC50 při koncentraci 792,5 mg/l, což je až o 28x menší toxický účinek než u Spee activ gelu.

Při porovnání účinku ekologických a neekologických pracích prášků, výrazný rozdíl nebyl, kromě již zmiňovaného prášku Batole, který negativně působí na organismy až ve větší koncentraci. Ekologické prací prášky Dedra a Ecover měly imobilizaci a úhyn jedinců ve vyšších koncentracích než u neekologických, ale to se nepotvrdilo u třetího ekologického vzorku Excel eco. Tento vzorek byl dokonce druhý v pořadí za Spee activ gelem ve svém negativním účinku.



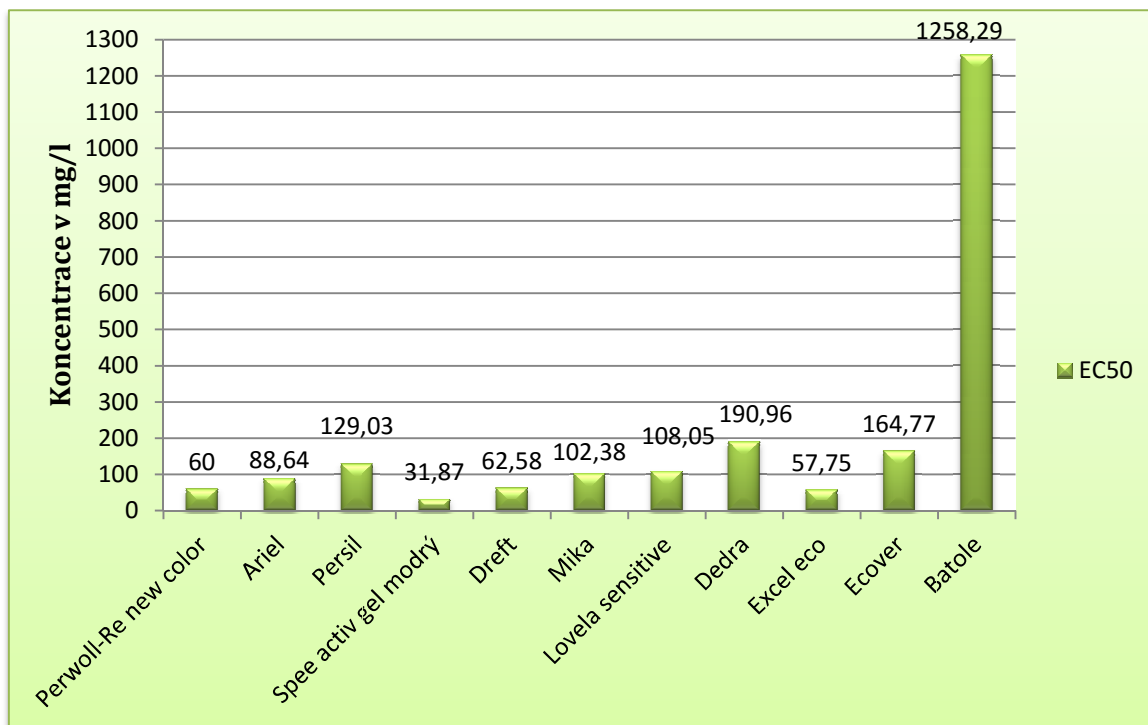
**Graf č. 23:** Výsledné hodnoty 48h EC50 v mg/l u *Daphnia magna*

Mezi neekologické prací prášky, které mají vyšší hodnotu 48h EC50 hned po ekologických patří běžně používaný Persil s hodnotou 108,62 mg/l, Lovela sensitive s hodnotou 108,45 mg/l a Dreft s hodnotou 112,84 mg/l. Mezi nejnižší hodnoty 48h EC50 patří již zmiňovaný Spee activ gel, ekologický prášek Excel eco s hodnotou 44,67 mg/l, Perwoll-Re new color s hodnotou 48,57 mg/l a Ariel s hodnotou 78,44 mg/l.

Z grafu (Graf č. 24) po porovnání hodnot EC50 lze vyčíst, že nejnižší koncentrace byla naměřena u Spee activ gelu s hodnotou 31,87 mg/l. Největší hodnota inhibice byla naměřena u pracího prášku Batole, což je až o 39x menší toxický účinek než u Spee activ gelu.

Ostatní ekologické prášky (Dedra, Ecover) mají také vyšší hodnoty koncentrace u 50% inhibice bioluminiscence, výjimkou se stal ekologický prací prášek s názvem Excel eco, který se zařadil jako druhý s největším negativním dopadem.

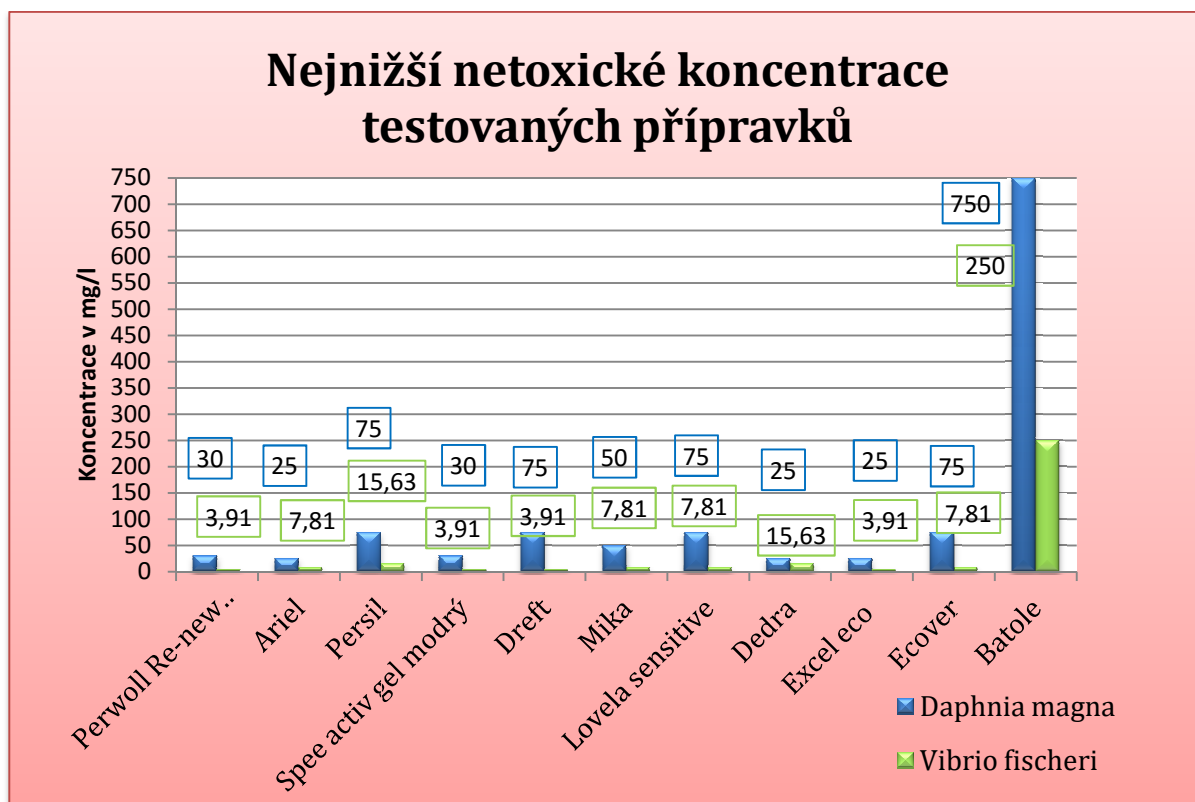
Mezi neekologické prací prášky, které mají nízké koncentrace EC50 patří po již zmiňovaném Spee activ gelu Dreft s hodnotou 44,78 mg/l, Perwoll-Re new color 60 mg/l a Ariel 88,64 mg/l. Mezi neekologické prací prášky, které mají vysoké koncentrace EC50 patří Persil s hodnotou 129,03 mg/l, Lovela sensitive 108,05 mg/l a Mika 102,38 mg/l.



**Graf č. 24:** Výsledné hodnoty 48h EC50 v mg/l u bakterie *Vibrio fischeri*

Při testování obou organismů bylo zapotřebí vytvořit požadované podmínky podle norem. U testu na Dafniích byl použit nový termostat, který poskytl optimální teplotu a délku světla. Testy na bakteriích *Vibrio fischeri* byly prováděny v akreditovaných ekotoxikologických laboratořích, kde byly přesně dodrženy podmínky a postup.

Pro porovnání koncentrací jednotlivých pracích prášků při nejnižším účinku jsem vytvořila graf (Graf č. 25), kde lze z něho vyčíst při jakých nejnižších koncentracích látek se objevil negativní dopad ať už imobilizací (úhynem) na *Daphnia magna* nebo inhibicí bioluminiscence u *Vibrio fischeri*.



**Graf č. 25:** Nejnižší netoxické koncentrace testovaných přípravků na *Daphnia magna* a *Vibrio fischeri*

Nejnižší účinek při nejvyšší koncentraci byl naměřen u pracího prášku Batole při koncentraci 750 mg/l u testovacího organismu *Daphnia magna* a koncentraci 250 mg/ u bakterie *Vibrio fischeri*. Nejnižší účinek při nejnižší koncentraci byl naměřen u Arielu a u ekologických prášků Dedra a Excel eco s koncentrací 25 mg/l na organismu *Daphnia magna*.

U testovacího organismu *Vibrio fischeri* bylo hned několik shodných pracích prášků se stejnou koncentrací 3,91 mg/l, jednalo se o Excel eco, Dreft, Perwoll-Re new color a Spee activ gel.

Pro porovnání pořadí míry toxického účinku jsem zhotovila tabulku (Tab. č. 25), ze které lze vyčíst, jednotlivé pořadí pracích prášků od méně toxických po více toxických. V některých případech se pořadí shodovalo u obou organismů. První příčku obsadil prací prášek Batole, na druhém místě se umístil prášek s názvem Dedra, třetí příčku obsadil Ecover, na sedmém místě se umístil Ariel, na devátém místě Perwoll-Re new color, na desátém Excel eco a na jedenáctém místě byl Spee activ gel modrý. Pořadí v tabulce se lišilo maximálně o jednu až dvě pozice, kromě pracího prášku Dreft, kde u testovacího organismu *Vibrio fischeri* se zařadil do druhé poloviny stupnice.

Jelikož pořadí podle působnosti účinku bylo na výjimku téměř shodné, lze z toho usuzovat, že testované látky mají podobný účinek na oba testované organismy.

Testovací látka	Testovací organismus	Pořadí podle míry toxického účinku	Testovací organismus	Pořadí podle míry toxického účinku
	Daphnia magna 48h EC50 v mg/l		Vibrio fischeri 30 min EC50 v mg/l	
Perwoll-Re new color	48,57	9.	60	9.
Ariel	78,44	7.	88,64	7.
Persil	108,62	5.	129,03	4.
Spee activ gel	28,11	11.	31,87	11.
Dreft	112,84	4.	62,58	8.
Mika	77,21	8.	102,38	6.
Lovela sensitive	108,45	6.	108,05	5.
Dedra	126,94	2.	190,96	2.
Excel eco	44,67	10.	57,75	10.
Ecover	121,43	3.	164,77	3.
Batole	792,5	1.	1258,29	1.

**Tab. č. 25:** Pořadí účinnosti pracích prášků na testovací organismy



## 6 Závěr

V teoretické části se bakalářská práce zabývá definicí ekotoxikologie a významem ekotoxikologických testů formou rešerše. Dále jsem uvedla význam a cíl těchto testů včetně aktuálních využívaných ekotoxikologických testů současnosti. Zmínila jsem v práci i faktory, které ovlivňují průběh a výsledky testů, či složení jednotlivých pracích prášků.

Cílem této práce bylo posoudit míru toxicity jednotlivých pracích prášků (Perwoll-Renew color, Ariel, Persil, Spee activ gel modrý, Dreft, Mika, Lovela sensitive, Dedra Excel eco, Ecover a Batole) na dva vodní organismy (*Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*), vypočítat hodnotu EC50 a porovnat je mezi sebou. Použila jsem typické ekotoxikologické testy, které jsou používány pro zjišťování toxicity látek v životním prostředí: Test akutní toxicity na vodním členovci *Daphnia magna* a bakteriální bioluminiscenční test.

Po spočítání hodnot EC50 u *Daphnia magna* jsem zjistila, že nejnižší hodnota koncentrace byla naměřena u pracího prášku Spee activ gel modrý a nejvyšší hodnota byla naměřena u ekologického prášku Batole.

Nejvyšší a nejnižší hodnota koncentrace EC50 u *Vibrio fischeri* byla u stejných pracích prášků jako u *Daphnia magna*, což znamená - nejnižší hodnota u Spee activ gelu (dle výsledků nejtoxictější) a nejvyšší hodnota u pracího prášku Batole (dle výsledků nejméně toxický).

Testovací látka	Pořadí
Batole	1.
Dedra	2.
Ecover	3.
Persil	4.
Lovela sensitive	5.
Dreft	6.
Mika	7.
Ariel	8.
Perwoll-Re new color	9.
Excel eco	10.
Spee acitv gel	11.

Tab. č. 26: Pořadí testovacích látek podle míry toxicity

Z výsledků vyplývá, že všechny vzorky pracích prášků různých koncentrací měly negativní dopad na oba organismy, přičemž citlivější organismus byl *Daphnia magna*.

Ze všech testovacích látek byl nejhorší vzhledem k hodnotám EC50 prací prášek Spee activ gel a nejlepší Batole. Umístění těchto dvou prášků bylo shodné jak u ekotoxikologického testu na *Daphnia magna*, tak ji na *Vibrio fischeri*.

Pro lepší přehled jsem zhotovila tabulku (Tab. č. 26), kde je přesné pořadí pracích prášků podle míry toxicity. Vycházela jsem ze všech naměřených hodnot u obou testovacích organismů, kde se vzrůstajícím číslem vzrůstá i míra toxického účinku.

Závěrem bych chtěla dodat, že složení pracích prášků je škodlivé, ale ne každý je nešetrný k životnímu prostředí. Záleží především na složení těchto látek, v mém případě prací prášek Batole obsahoval 5% neionických tenzidů zatímco Spee activ gel obsahoval 5-15% aniontových tenzidů.

## 7 Seznam použité literatury

- ADEMA, D. M. M. a CANTON, J. H., Reproducibility of short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments. *Hydrobiologia*. 1978, **59**(2), 135-140.
- ANDĚL, P. Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring. Vyd. 1. Liberec: Evernia, 2011, 243s. ISBN 978-80-903787-9-7.
- BALDWIN, S. W., GINJUPALLI, K. G., KARIMULINA, E., LI, Y., Aquatic toxicology. *Daphnia* HR96 is a promiscuous xenobiotic and endobiotic nuclear receptor. 2012, 116-117, 69-78.
- BALLNĚROVÁ, P., Ekotoxikologické testy a jejich aplikace k hodnocení vedlejších energetických produktů. Brno, 2009. Diplomová práce. Fakulta chemická, ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
- BEKLOVÁ, M., DOBŠÍKOVÁ, R., MÁCOVÁ, S., MÁCHOVÁ, J., MODRÁ, H., SVOBODOVÁ, Z., VELÍŠEK, J. Ekotoxikologie, Praktická cvičení, Testy toxicity na organismech vodního prostředí. 2. vydání. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2010, 84s.
- BELKIN, S., GENIN, A., IONESCU, M. a ZARUBIN M., Bacterial bioluminescence as a lure for marine zooplankton and fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Harvard University, Cambridge, 2011, 109(3), 853-857 DOI: 10.1073/pnas.1116683109.
- BIESINGER, K. E. a CHRISTENSEN, G. M., Effects of Various Metals on Survival, Growth, Reproduction, and Metabolism of *Daphnia magna*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 1972, **29**(12), 1691-1700 , 10.1139/f72-269.
- BITTON, G., KOOPMAN, B., WARE, G. W. (ed.). Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. *Reviews of environmental contamination and toxicology: Continuation of residue reviews*[online]. Springer New York, 1992, (125), 1-22. DOI: 10.1007/978-1-4612-2890-5\_1. ISSN 0179-5953.
- BLÁHA, L. a VUOS a.s. (ed.). Ekotoxikologická rizika "mikropolutantů" ve vodách: současné aktivity v Evropě. In: Průmyslová toxikologie a ekotoxikologie 2015. 1. vydání. Univerzita Pardubice fakulta chemicko - technologická: Centrum ekologie,

- toxikologie a analytiky výzkumného ústavu organických syntéz a.s., 2015, s. 11 - 12. ISBN 978-80-7395-897-8.
- BLAŽEJ, A., HODUL, P., MARKUŠOVSKÁ, E., CSC., NOVÁK, L., CSC., PAULOVIČ, M., VYSKOČIL, I., Tenzidy. 1. vydání. Bratislava: Vydavatelství technické a ekonomické literatury, 1977. ISBN 63-173-77.
  - BRAVENÁ, M., Analýza trhu pracích prostředků a značky Perwoll na českém trhu. Praha, 2013. Diplomová práce. Vysoká škola ekonomická v Praze Fakulta Podnikohospodářská.
  - BURKHARD, J., KOČÍ, V., MARŠÁLEK, B., Eutrofizace na přelomu tisíciletí. *Eutrofizace 2000*. Ústav chemie ochrany prostředí VŠCHT, Botanický ústav Akademie věd, 2010, 3-13.
  - BURTON, A., CAIRNS, J. HOFFMAN, D. J., RATTNER, G., BARNETT, A., Handbook of ecotoxicology. Lewis publishers, 2003, 1235 pp. ISBN 9781566705462.
  - CRANE, M., HANDY, R. D., HASSELOV, M., KAMMER, F., LEAD, Jr R., OWEN, R., The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*. 2008, 2015-11-15, 4(17): 27.
  - CVIKÝŘOVÁ, Z., Ekotoxikita látek s hormonálním účinkem. Brno, 2010. Bakalářská práce. Fakulta chemická, ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
  - DAVIES C.M., STAUBER J.L. Use and limitations of microbial bioassays for assessing cooper bioavailability in the aquatic environment. *Environmental reviews*. 2000, 8(4), 255-301, 10.1139/a00-010.
  - DOBEŠOVÁ, Z., Ekotoxikologické hodnocení sedimentů. Brno, 2010. Diplomová práce. Fakulta chemická, ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
  - DUTKA, B. J. LIU, D., MAGUIERE, R. J., and PACEPAVICUS, G. J. Rationale for including metabolites in chemical toxicity bioassay. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 1990, 5: 179–188. doi: 10.1002/tox.2540050206.
  - EBERT D. 2005. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information.
  - EGUCHI, K., ENDOHA, S. Y., GOTOA, K., HIRATAB, K., MIYAMOTOB, K., NAGASEB, H., OZAWAA, M., a YOSHIMURAA, H., Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere*. 2004, 57(11), 1733–1738.

- EMPLA AG spol s.r.o.: Ekotoxikologické testy. 2012. Hradec Králové. Dostupné z: [www.empla.cz/ekotoxikologické testy](http://www.empla.cz/ekotoxikologické-testy).
- FERRI, E. S., FUMO GIROTTI, M. G., MAIOLINI, E., Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria. *Analytica Chimica Acta*. 2008, **608**(1), 2-29.
- FU, X., REN, Z., ZENG, Y., *Procedia environmental sciences*. The effects of residual chlorine on the behavioural responses of daphnia magna in the early warning of drinking water accidental events. 2012, 13, 71-79.
- GAWRÓNSKA, E., JAWORSKA B., LOPATA M. The effectiveness of the phosphorus inactivation method. *Limnological review*. Department of Environment Protection Engineering, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, 0107n. l., 27-34.
- GRAF, J., DUNLOP, P.V. a RUBY, E. G., Effect of transposon-induced motility mutations on colonization of the host ligh organ by *Vibrio fischeri*. *Journal of bacteriology*. Depratment of Biological Sciences, University of Southern California, Los Angeles 90089-0371., 1994, 176(22)
- GUPTA C. S., HASTINGS, W. J., KURFURST, M., MAKEMSON, C., POTRIKUSV, J. C., Biochemistry and physiology of bioluminescent bacteria. *Advances in microbial physiology*. 1985, 26(), 235-291, 10.1016/S0065-2911(08)60398-7.
- HEJNICOVÁ, M., KUJALOVÁ, H. a SÝKORA, V., Právní předpisy o tenzidech a detergentech. *Chemické listy*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2011, 2015-11-15, 2011(105): 7.
- JADRNÁ, I., Eutrofizace a lišejníky. *Bryonora*. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, 2015, (55), 68-72.
- KAFKA, Z., KOTYZA, J., SOUDEK, P. a VANĚK, T., Léčiva - nový enviromentální polutant. *Chemické listy*. 2009, 2015-11-15, (103): 7.
- KOČÍ, V. Toxicity of zeolite containing detergents. In: Department of environmental chemistry. Praha 6: Galén, 2000, 182 - 185.
- KOČÍ, V., HALOUSKOVÁ, O., (Edit). Ekotoxikologické biotesty 1, 18.-19. září 2002, Seč, Česká republika, str. 190.
- KOČÍ, V., Význam testů toxicity pro hodnocení vlivů látek na životní prostředí. *Chemické listy*. Praha 6: Vysoká škola chemicko-technologická, 2006, 2015-11-22, 2006(100): 882-888.
- KOČÍ, V. a MOCO VÁ, K. Ekotoxikologie pro chemiky. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009, 199 s. ISBN 978-80-7080-699-9.

- LEBER, P., LEDEREROVÁ, J., SVOBODA, M., ŠTEGNEROVÁ, H., Testování ekologické vhodnosti stavebních výrobků. *Waste forum*. Výzkumný ústav stavebních hmot, a.s., 2012, (1), 23-29.
- LORENCOVÁ, E., Vliv fosforečnanů na růst vybraných potravinářsky významných bakterií. Zlín, 2010. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, fakulta technologická.
- LOSTROH, P. C., PETRUN, B., *Vibrio fischeri* exhibit the growth advantage in stationary-phase phenotype. *Canadian journal of microbiology*. 2012, 51(7), 549-557.
- LUHOVÁ, L., PEČ, P., PETŘIVALSKÝ, M., PITERKOVÁ, J. a TOMÁNKOVÁ, K., Oxidativní stres: lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chemické listy*. Olomouc: Přírodovědecká fakult univerzity Palackého, 2005, 2015-11-22, 2005(99): 455-466.
- MACHÁČ, J., VOJÁČEK, O., Eutrofizace v povodí Orlické přehrady: Ekonomicky efektivní stav nebo problém vhodný k řešení? *Ekonomika v souvislostech*. 11-38.
- MARŠÁLEK, B., Ekotoxikologické biotesty: rozdělení, přehled, použití. Brno, Oddělení experimentální fykologie a ekotoxikologie, Botanický ústav AVČR, a RECETOX – Výzkumné centrum pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii, Masarykova univerzita.
- MASNER, P., Ekotoxikologie, kontaminace a bioindikace v malých vodních tocích. Brno, 2011. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, centrum pro výzkum toxických látek v prostředí.
- MORIARTY, F. *Ecotoxicology. Human and experimental toxicology*. Huntingdon: The Natural Environment Research Council, 1988, 2015-11-15, 07(05): 88.
- OSINOVÁ, P., Hodnocení ekotoxicity chemických látek s využitím řasových testů. Brno, 2011. Bakalářská práce. Fakulta chemická, ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
- PAVLÍČKOVÁ, I., Problematika interakcí testovaných látek v ekotoxikologii. Brno, 2011. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně.
- PAVLÍKOVÁ, D. Ekotoxikologie. Vyd. 2., ČZU, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Praha, 2008, 171 s. ISBN 978-80-213-1843-4.
- PETRUSEK, A., Modelka *Daphnia*. *Přírodovědecký časopis Vesmír* 89, s. 470, 2010/7.
- POLZÉROVÁ, E., Analytika povrchově aktivních látek používaných v kosmetice. Zlín, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

- PROKEŠ, J., Úvod do toxikologie. Brno, 2005
- ROSYPAL, S. a kolektiv 2003. Nový přehled biologie. První vydání. Praha 5: Scientia, spol s.r.o. ISBN 978-80-86960-23-4.
- SMRŽ, J., 2013. Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů. První vydání. Univerzita Karlova v Praze: Karolinum. ISBN 978-80-246-2258-3.
- SOUKUPOVÁ, A., Zhodnocení metod pro stanovení tenzidů. Brno, 2009. Bakalářská práce. Vysoké technické učení v Brně.
- STRAALLEN, N. M. V., Ecotoxicology Becomes STRESS Ecology. Environmental science & technology. 2003, 2015-11-22, 2003(September, 1): 324-330.
- ŠKARKOVÁ, P., *VÝZNAM KONTAKTNÍCH TESTŮ EKOTOXICITY*. Brno, 2010 Bakalářská práce. Fakulta chemická, ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
- ŠMIDRKAL, J., Tenzidy a detergenty dnes. Chemické listy. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1999, 2015-11-15, 1999(93): 7.
- ŠTĚPÁNKOVÁ, I., Posouzení vhodnosti řasových testů pro hodnocení ekotoxicity. Brno, 2009. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
- TOMASIKS, P. a WARREN, D. M., The use of Daphnia in studies of metal pollution of aquatic systems. Environmental Reviews . 1996, 4(1), 25-64.

## 8 Seznam norem, obrázků a fotografií

### 8.1 Seznam norem:

ČSN EN ISO 11348-3:2007 Jakost vod - Stanovení inhibičního účinku vzorků vod na světelnou emisi *Vibrio fischeri* (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) - Část 3: Metoda s lyofilizovanými bakteriemi. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví: Ing. Gabriela Šimonová.

ČSN EN ISO 6341 Kvalita vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustaceae*) - Zkouška akutní toxicity, Vydání: květen 2013.

ISO 6341:2012. Water quality — Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) — Acute toxicity test.

ISO 11348-3:2007. Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) - Part 3: Method using freeze-dried bacteria.



## 8.2 Seznam fotografií

Foto. 1: Sloučeniny použité k vytvoření živného roztoku (Kultová, 2015)

Foto. 2: Ukázka základních koncentrací testované látky (Kultová, 2015)

Foto. 3: Laboratorní míchadlo s ohřevem (Kultová, 2015)

Foto. 4: Ukázka použitého laboratorního nádobí (Kultová, 2015)

Foto. 5 a 6: Laboratorní váhy a analytické váhy (Kultová, 2015)

Foto. 7: Test na dafniích - nasazené dafnie v různých koncentracích (Kultová, 2015)

Foto. 8: Ukázka koncentrační řady (Kultová, 2015)

Foto. 9: Termostat s chovem a s nasazenými dafniemi (Kultová, 2015)

Foto. 10: Nasazené dafnie v kádince (Kultová, 2015)

Foto. 11: *Daphnia magna* (Kultová, 2015)

Foto. 12: *Daphnia magna* (doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D., 2015)

Foto. 13: *Daphnia magna* (doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D., 2015)

Foto. 14: DAMME Van Kay Different life stages of *Daphnia magna* (embryo, neonate, male, female, ephippium) [online] [cit. 17-03-2016]. University of Birmingham, UK Available from: <https://issetdirectorblog.files.wordpress.com/2014/02/untitled-1.png>

Foto. 15: *Daphnia magna* - detail hlavy (Kultová, 2016)

Foto. 16: *Daphnia magna* - přední část těla (Kultová, 2016)

Foto. 17: *Daphnia magna* - antény (Kultová, 2016)

Foto. 18: *Daphnia magna* - antény (Kultová, 2016)

Foto. 19: *Daphnia magna* (Kultová, 2016)

Foto. 20: *Daphnia magna* - furka (Kultová, 2016)

Foto. 21: *Daphnia magna* - ephippium (Kultová, 2016)

### 8.3 Seznam obrázků

Obr. 1: HOFFMANN J. 2012. Potravní řetězec [online]

Dostupné z : <http://jakubhoffmann.blogspot.cz>

Obr. 2: EBERT D. 2005. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2042/figure/ch2.F9/?report=objectonly>

Obr. 3: EBERT D. 2005. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2042/figure/ch2.F1/?report=objectonly>

Obr. 4: SYCURO a NELSON 2011, Vibrio fischeri [online] Dostupné z :  
[http://pikaia.files.wordpress.com/2008/12/vibrio\\_fischeri\\_1145457864.jpg](http://pikaia.files.wordpress.com/2008/12/vibrio_fischeri_1145457864.jpg)

Obr. 5: TEPLÁ M. 2013. Vzorec kyselina stearová a palmitová [online] Dostupné z :  
[http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni\\_latky\\_lipidy.html](http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni_latky_lipidy.html)

Obr. 6 :University of Maribor 2014. LUMISTox 300 s termostatem [online]

Dostupné z :<http://lko.fs.um.si/en/equipment>

## 9 Přílohy



**Foto. 3:** Laboratorní míchadlo s ohřevem (Kultová, 2015)



**Foto. 4:** Ukázka použitého laboratorního nádobí (Kultová, 2015)



Foto. 5 a 6: Laboratorní váhy a analytické váhy (Kultová, 2015)



Foto. 7: Test na dafních - nasazené dafnie v různých koncentracích (Kultová, 2015)



**Foto. 8:** Ukázka koncentrační řady (Kultová, 2015)



**Foto. 9:** Termostat s chovem a s nasazenými dafniemi (Kultová, 2015)



**Foto. 10:** Nasazené dafnie v kádince (Kultová, 2015)



**Foto. 11:** *Daphnia magna* (Kultová, 2015)



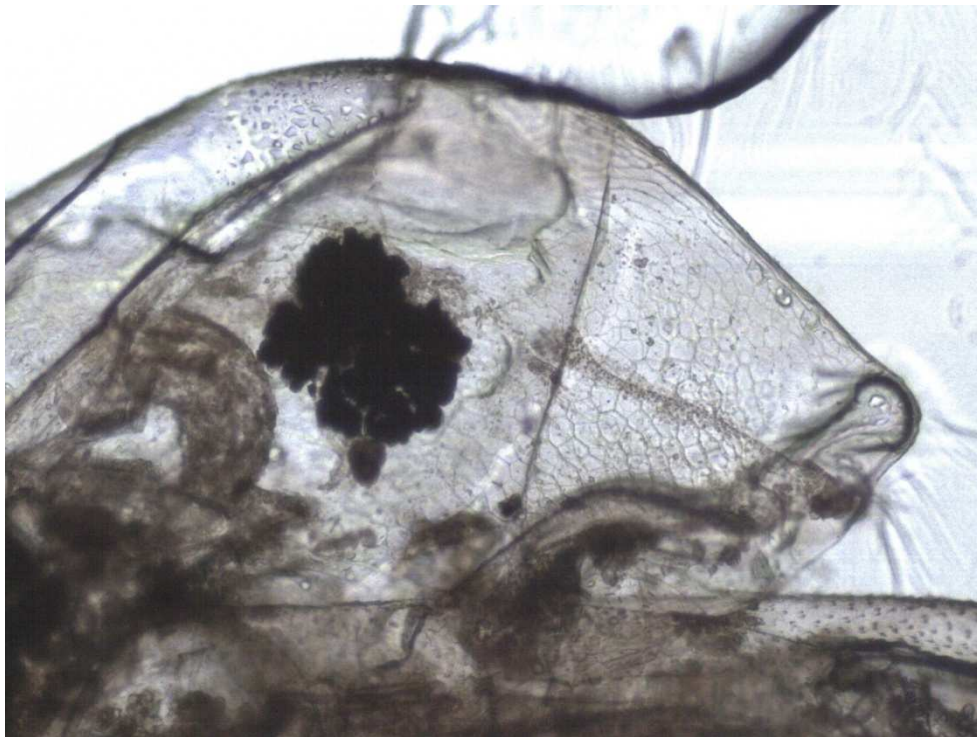
**Foto. 12:** *Daphnia magna* (Bogush, 2015)



**Foto. 13:** *Daphnia magna* (Bogush, 2015)

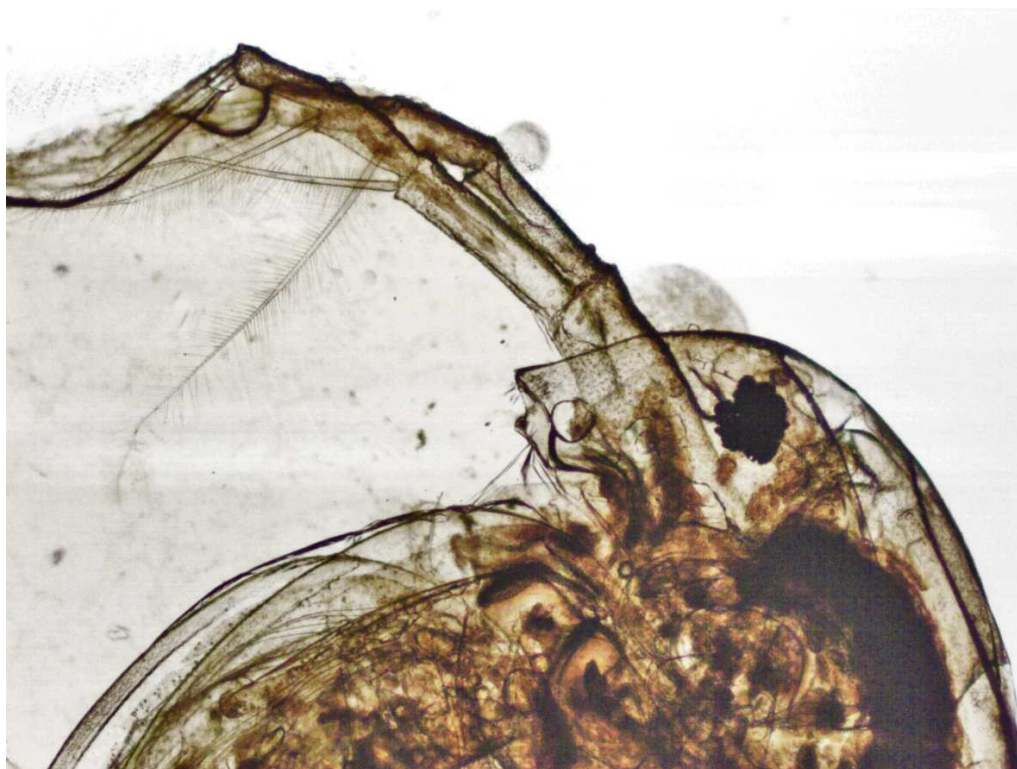


**Foto. 14:** Různé životní formy *Daphnia magna* -embryo, neonate, male, female, ephippium (Damme)



**Foto. 15:** *Daphnia magna* - detail hlavy (Kultová, 2016)

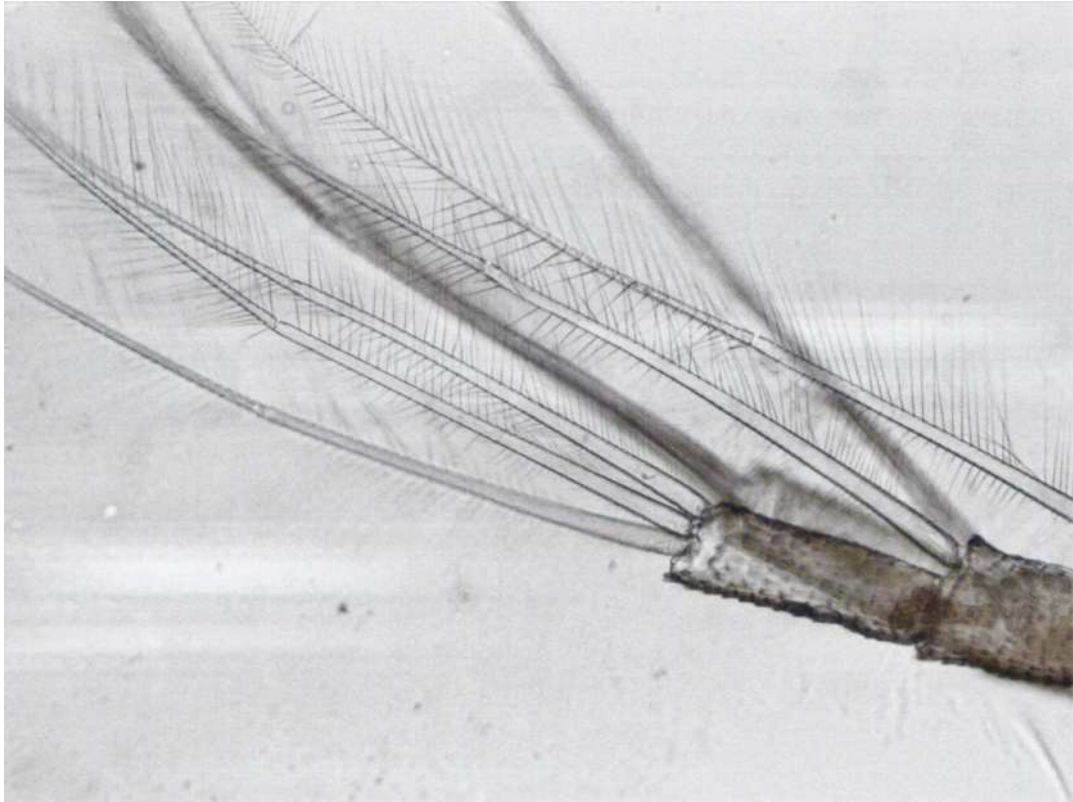




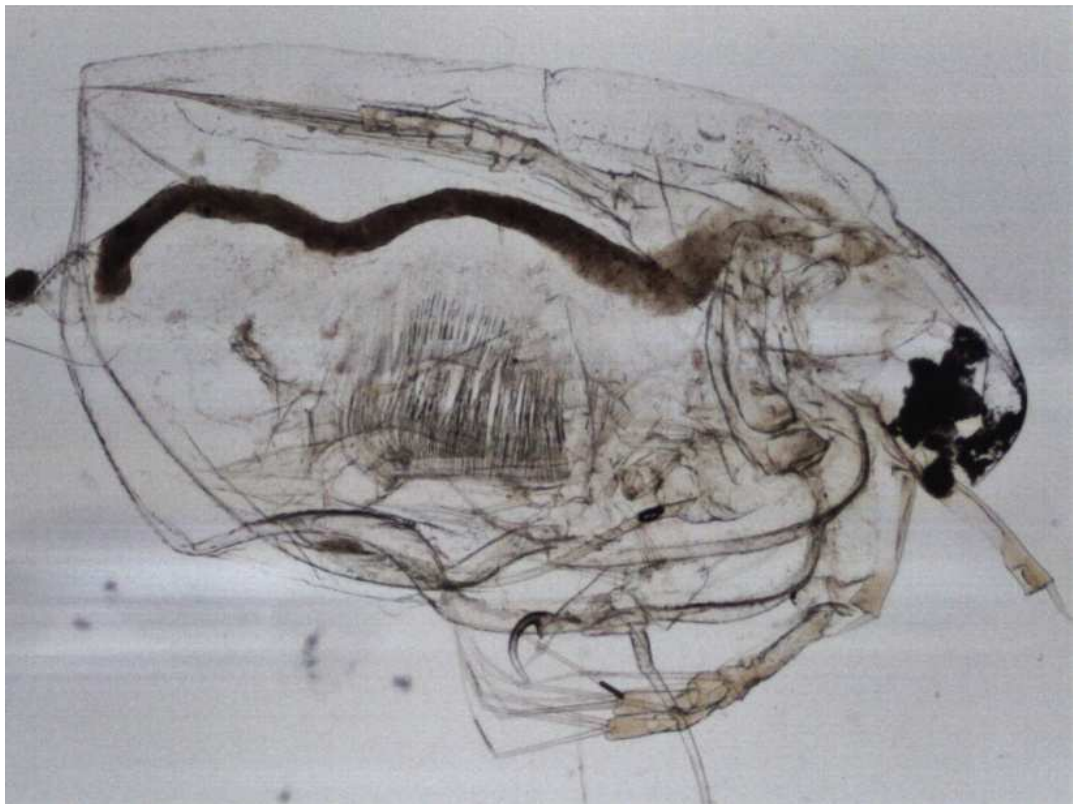
**Foto. 16:** *Daphnia magna* - přední část těla (Kultová, 2016)



**Foto. 17:** *Daphnia magna* - antény (Kultová, 2016)



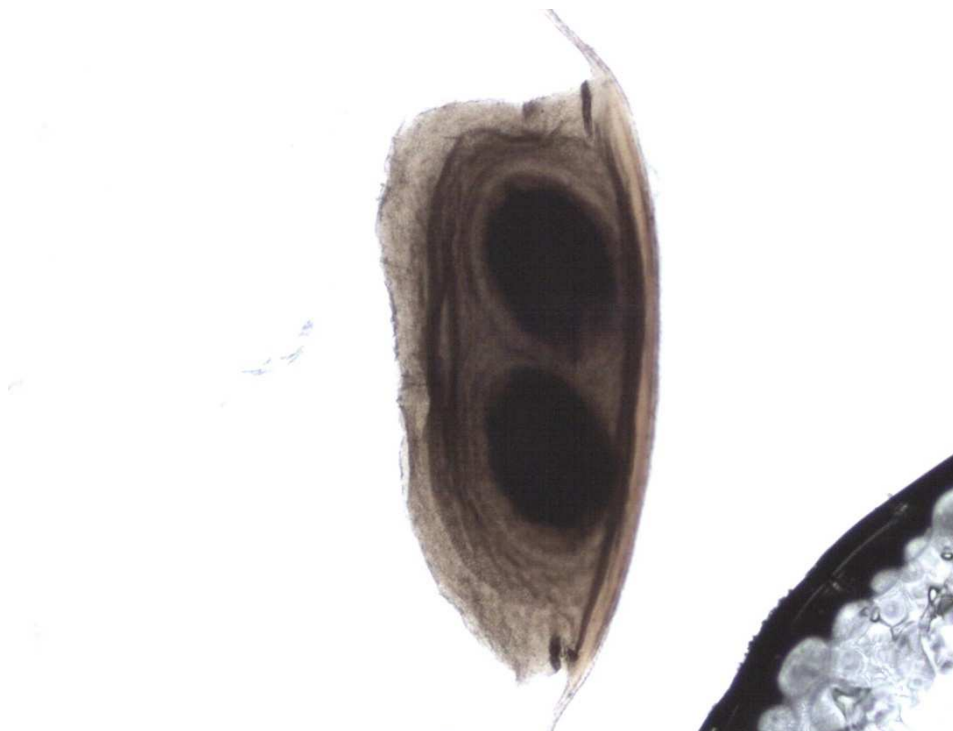
**Foto. 18:** *Daphnia magna* - antény (Kultová, 2016)



**Foto. 19:** *Daphnia magna* (Kultová, 2016)



**Foto. 20:** *Daphnia magna* - furka (Kultová, 2016)



**Foto. 21:** *Daphnia magna* - ephippium (Kultová, 2016)