

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 8: Ochrana a tvorba životního prostředí

Propylenglykol a jeho toxicita u rostlin



Lucie Nepovímová
Kraj Praha

Praha, 2017

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č.8: Ochrana a tvorba životního prostředí

Propylenglykol a jeho toxicita u rostlin

Propyleneglycol and its toxicity in plants

Autor: Lucie Nepovímová

Škola: Gymnázium Na Zatlance, Na Zatlance 11, 150 00, Praha 5

Kraj: Kraj Praha

Konzultant: RNDr. Radka Podlipná, Ph.D. (Ústav experimentální botaniky AV ČR)

Vedoucí práce: RNDr., Bc. Ludmila Šulcová

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracovala samostatně a použila jsem pouze prameny a literaturu uvedené v seznamu bibliografických záznamů.

Prohlašuji, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

Nemám závažný důvod proti zpřístupňování této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V Praze dne 25. 3. 2017

Lucie Nepovímová

Poděkování

Ráda bych především poděkovala RNDr. Radce Podlipné, Ph.D. (Ústav experimentální botaniky, Akademie věd České republiky), která mi po celou dobu byla oporou a velkou pomocí. Dávala mi cenné rady a vždy si našla čas na mé dotazy a pomoc s praktickou i teoretickou částí práce.

Anotace

Tato práce se zabývá vlivem propylenglykolu na rostliny. Cílem práce bylo zjistit toxický vliv propylenglykolu na růst primárního kořene hořčice seté (*Sinapis alba*) a dále na růst rostlin ostřice liščí (*Carex vulpina*) kultivovaných *in vitro*. Rostliny byly vystaveny propylenglykolu v různých koncentracích po dobu tří týdnů a v průběhu této doby byl sledován jeho vliv na jejich hmotnost a koncentraci barviv přes spektrofotometrii. Hypotéza, že propylenglykol je pro rostliny toxický, se částečně potvrdila, neboť byl prokázán vliv na jejich hmotnost, ale vliv na koncentraci barviv prokázán nebyl.

Klíčová slova

Sekundární alkoholy; propylenglykol; znečištění vody; fytotoxicita; biodegradace;

Annotation

This essay describes effect of propyleneglycol on plants. The objective was to find out whether propyleneglycol has an impact on the growth of the primary root of mustard (*Sinapis alba*) as well as the growth of True fox-sedge (*Carex vulpine*), both cultivated *in vitro*. Plants were exposed to propyleneglycol in several concentrations for three weeks. During that period the mass growth and colouring concentrations were tracked through weighing and spectrophotometry. The hypothesis that propyleneglycol is toxic for plants was partially affirmed as propyleneglycol did have an effect on the growth of biomass. However, the effect on colouring concentrations was not confirmed.

Keywords

Alcohols; propyleneglycol; water pollution; phytotoxicity; biodegradation;

OBSAH

Úvod.....	1
1 Teoretická část	2
1.1 Alkoholy	2
1.1.1 Výskyt alkoholů v přírodě.....	2
1.1.2 Fyzikální vlastnosti	3
1.1.3 Chemické vlastnosti	3
1.2 Propylenglykol	4
1.2.1 Chemické vlastnosti	5
1.2.2 Výroba.....	6
1.2.3 Využití.....	7
1.2.4 Vliv na životní prostředí.....	8
1.2.5 Toxicita	9
1.3 Projevy Toxicity u rostlin.....	11
2 Praktická část	12
2.1 Plán experimentu	12
2.2 Materiál a metody.....	12
2.2.1 Kultivace semen hořčice seté v přítomnosti propylenglykolu	12
2.2.2 Kultivace rostlin ostřice liščí v přítomnosti propylenglykolu.....	13
2.3 Analýza vzorků.....	16
2.3.1 Vliv propylenglykolu na růst primárního kořene hořčice seté.....	16
2.3.2 Vliv propylenglykolu na růst hmotnosti ostřice liščí	16
2.3.3 Vliv propylenglykolu na koncentraci barviv v listech ostřice liščí.....	17
2.4 Diskuze.....	18
Závěr	19
Zdroje	20
Seznam obrázků a tabulek.....	22
Seznam příloh.....	23

SEZNAM ZKRATEK

ATP	Adenosintrifosfát
BOD	Biochemická spotřeba kyslíku
PG	Propylenglykol

ÚVOD

Člověk se denně setkává s mnoha zástupci alkoholů – mezi nejznámější patří líh, glycerin či metanol, který se do popředí ve vnímání veřejnosti dostal především kvůli metanolové aféře. Na druhou stranu je obklopen mnoha dalšími alkoholy, aniž by si to uvědomoval. Mezi ně patří i propylenglykol, který není veřejnosti příliš známý, a proto je mu věnováno několik kapitol teoretické části. Přesto je tento dvojsytný alkohol hojně průmyslově využíván a je přidáván například do nemrznoucích směsí, ale i potravin.

Stejně jako mnoho dalších hojně využívaných chemikálií je propylenglykol vyráběn z ropy, a proto je o jeho výrobě, využití a toxicitě popsáno více v obecné části. V přírodě je propylenglykol poměrně špatně rozložitelný, a to především v půdě¹. Na jeho biodegradaci se podílejí především bakterie, které při jeho rozkladu ohrožují především vodní živočichy. Neustálým vypouštěním této sloučeniny do vody i půdy tak nevědomě vytváříme základ pro situaci, kdy by propylenglykol mohl být příčinou ekologické katastrofy.

Propylenglykol však nepředstavuje riziko pouze pro živočichy, ale dle výzkumu S. Castra² byla popsána toxicita nemrznoucích směsí, jejichž součástí je i propylenglykol, u rostlin slunečnice. Jelikož se však tento výzkum primárně zabýval fytořemediací, nebyla toxicita propylenglykolu dále zkoumána, a proto jsem se ve své práci soustředila na toxicitu samotného propylenglykolu. Tento výzkum při experimentech využíval kompletní nemrznoucí směsi, tzn., že výsledky mohly být zkresleny přítomností dalších blíže nespecifikovaných složek nemrznoucí směsi.

Cílem této práce je stanovení, zda je propylenglykol pro rostliny škodlivý a pokud ano, tak při jakých koncentracích dochází k ovlivnění růstu. Vzhledem k jeho prokazatelnému vlivu na životní prostředí a špatné biodegradabilitě předpokládám negativní vliv na růst rostlin.

¹ US Environmental Protection Agency. *Environmental Impact and Benefit Assessment for the Final Effluent Limitation Guidelines and Standards for the Airport Deicing Category*: [online]. 2012, 187 [cit.2017-02-19]. Dostupné z: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/airport-deicing_environmental-impact-and-benefit-assessment-final-2012.pdf

² CASTRO, S., L. C. DAVIS a L. E. ERICKSON. *PHYTOREMEDIATION OF AIRCRAFT DE-ICER AND ANTIFREEZE FORMULATIONS* [online]. Manhattan, USA, 2000 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <https://www.engg.ksu.edu/HSRC/00Proceed/erickson.pdf>

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Alkoholy

Alkoholy patří mezi organické sloučeniny a řadí se mezi kyslíkaté deriváty uhlovodíků. Obsahují typickou hydroxylovou skupinu (-OH) navázanou na uhlovodíkový zbytek, který netvoří aromatický kruh. Skupina OH je jednovazná.

Alkoholy se dají rozdělit dle několika kritérií. Dle počtu navázaných hydroxylových skupin je dělíme na jednosytné, dvojsytné a trojsytné (popř. vícesytné). Jednosytné obsahují hydroxylovou skupinu jednu, dvojsytné dvě a trojsytné tři. Může dojít k navázání i více skupin na jeden uhlík, ale pak se jedná

o jev vzácnější. Dalším kritériem rozdělení může být počet uhlíkových atomů navázaných na uhlíkový atom vázající hydroxylovou skupinu – primární alkoholy poutají jeden uhlíkový atom, sekundární dva a terciární tři³.

V případě, že je OH skupina navázána na uhlík s násobnou vazbou, je molekula velmi nestálá, a dochází tak k přesmyku a vzniká stabilnější aldehyd. Pokud je na jeden atom uhlíku navázáno více skupin je molekula taktéž nestálá a dochází k odštěpení vody vedoucí k její stabilizaci⁴.

1.1.1 Výskyt alkoholů v přírodě

Alkoholy se v přírodě vyskytují velmi hojně – ať už samostatně nebo ve formě svých derivátů, např. esterů. Jedním z nejrozšířenějších alkoholů je etanol, který je produktem jednoho z nejdůležitějších metabolických procesů: alkoholového kvašení.

Alkoholové kvašení je katabolický proces, při kterém z jednoduchých sacharidů vzniká etanol (C_2H_5OH) a oxid uhličitý (CO_2) za uvolnění energie ve formě ATP. Tento proces probíhá především v kvasinkách (*Saccharomyces cerevisiae*). Kvašení probíhá v anaerobním prostředí a skládá se ze dvou fází. v první fázi dochází k rozštěpení glukózy sérií enzymatických reakcí na 2 molekuly pyruvátu – v této fázi dochází k uvolnění molekul ATP. Ve druhé fázi dochází díky dalším enzymům k rozštěpení pyruvátu na ethanol a oxid uhličitý⁵. Lidstvo využívá kvasinky a kvašení již velmi dlouhou dobu – jsou využívány od výroby pečiva po výrobu nejrůznějších alkoholických nápojů jako je víno či pivo⁶.

³ PACÁK, Josef a kolektiv. *Chemie pro II. ročník gymnázií*. Praha: SPN, 1985.

⁴ MAREČEK, Aleš a Jaroslav HONZA. *Chemie pro čtyřletá gymnázia*. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2000. ISBN 80-7182-057-1.

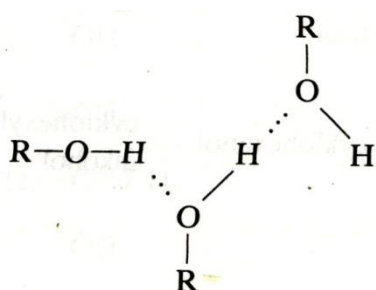
⁵ MORTON, Jean Slot. Glycolysis and Alcoholic Fermentation. *Acts & Facts* [online]. 1980, 9(12) [cit. 2016-12-26]. Dostupné z: <http://www.icr.org/article/glycolysis-alcoholic-fermentation/>

⁶ MIKELL, Meredith. Alcohol Fermentation: Definition, equation & process. In: *Study.com* [online]. 2003 [cit. 2016-12-27]. Dostupné z: <http://study.com/academy/lesson/alcohol-fermentation-definition-equation-process.html>

Dalším velmi důležitým alkoholem je glycerol – jeho esterifikací s vyšší mastnou kyselinou vznikají glyceridy. Mezi nejčastěji esterifikované nasycené kyseliny patří kyselina palmitová, která je přítomna prakticky ve všech glyceridech, u rostlin dále kyselina laurová, myristová a u tuků živočišného původu kyselina stearová. Esterifikovány jsou často i kyseliny nenasycené – nejčastěji kyselina olejová, která tvoří „až 45 % obsahu všech mastných kyselin v tuku savců“⁷. Glyceridy jsou nezbytnou součástí potravy mnohých živočichů, neboť slouží jako zásobní zdroj energie⁸.

1.1.2 Fyzikální vlastnosti

Nižší alkoholy mají nízkou molární hmotnost, ale za běžných podmínek jsou kapalné a to díky vodíkovým můstkům. Mezi kyslíkem a vodíkem je polární vazba, která způsobuje, že se na kyslíku vytvořil záporný parciální náboj a na vodíku kladný parciální náboj. Díky těmto nábojům dochází k vytvoření nevazebných mezimolekulárních interakcí, díky kterým je přechod mezi skupenstvími těžší. Na druhou stranu však vodíkové můstky nejsou tak silné jako ve vodě a tak mají nižší alkoholy nižší bod varu než voda.



Obr. 1: Vodíkové můstky mezi molekulami alkoholu

Díky své struktuře mají alkoholy do určité míry podobné vlastnosti jako voda – čím podobnější struktura vodě je (tj. čím kratší je vedlejší uhlíkový řetězec), tím podobnější jsou i vlastnosti. Proto jsou alkoholy ve vodě dobře rozpustné – nejnižší alkoholy dokonce s vodou neomezeně mísitelné⁹. Rozpustnost se s délkou uhlíkového řetězce snižuje, neboť se snižuje polarita molekul a s ní se snižuje i síla vodíkových můstků.

Přestože dochází ke snížení pevnosti vodíkových můstků s narůstající velikostí molekuly, teplota varu narůstá. S narůstající délkou uhlíkového řetězce totiž přibývá Londonových interakcí, tudíž dochází k vytvoření dočasných nábojů na neutrálních molekulách uhlíkového řetězce, které navzájem interagují¹⁰.

1.1.3 Chemické vlastnosti

Alkoholy jsou amfoterní, tzn., že jsou schopny se chovat jako kyseliny i jako zásady. Polarita vazby O-H zajišťuje, že vodíkový atom má slabě kyselý charakter. Zároveň dva volné elektronové páry na atomu kyslíku alkoholům propůjčují charakter mírně zásaditý. Zda se alkohol chová jako kyselina či zásada závisí na prostředí – v zásaditém se chová jako kyselina

⁷ PACÁK, Josef. *Úvod do studia organické chemie*. Praha: SNTL, 1982.

⁸ PACÁK, Josef. *Úvod do studia organické chemie*. Praha: SNTL, 1982.

⁹ PACÁK, Josef a kolektiv. *Chemie pro II. ročník gymnázií*. Praha: SPN, 1985.

¹⁰ KHAN Sal. Alcohol properties. *Khan Academy* [online]. Khan Academy, 2016 [cit. 2016-12-27]. Dostupné z: <https://www.khanacademy.org/science/organic-chemistry/alcohols-ethers-epoxides-sulfides/alcohol-nomenclature-properties/v/alcohol-properties>

a naopak¹¹. Terciární alkoholy jsou neutrální. Reakcí alkoholů s kyselinami vznikají alkoxoniové soli, reakcí se zásadami alkoxidy neboli alkoholáty.

Alkoholy však nemohou tvořit soli s hydroxidy, neboť jsou pouze slabými kyselinami, a tak dochází k hydrolyze v původní složky (tj. z alkoholátu znovu alkohol a hydroxid)¹².

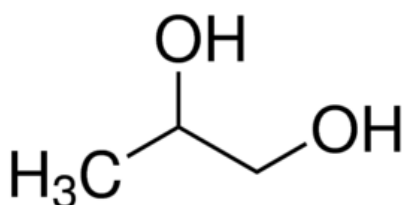
Dehydratací alkoholů (často za pomoci silných kyselin jako je např. kyselina sírová) vznikají alkeny. Eliminace vody má dvě fáze: v první dochází ke vzniku alkoxoniové soli a v druhé následně alkenu. Obtížnost dehydratace stoupá od terciárních k primárním¹³.

Primární a sekundární alkoholy také ochotně podstupují oxidaci. Oxidací primárních alkoholů vznikají aldehydy a oxidací sekundárních alkoholů vznikají ketony. Aldehydy se dále mohou oxidovat na karboxylové kyseliny.

Další významnou reakcí, které se alkoholy účastní, je esterifikace. Při ní alkohol reaguje s karboxylovou kyselinou za vzniku esteru a vody. Často dochází k esterifikaci glycerolu, díky které dochází ke vzniku dříve zmiňovaných glyceridů¹⁴.

1.2 Propylenglykol

Propylenglykol se systematicky nazývá propan-1,2-diol a patří mezi dvojsytné sekundární alkoholy (struktura viz obr. 2). v mnoha ohledech se podobá etylenglykolu – ať už ve svém vzhledu, chuti či využití. Jedná se o průhlednou viskózní kapalinu, která nemá žádný zápach, ale zato má nasládlou chuť.



Propylenglykol je plně mísitelný s vodou a jeho hustota se vodě podobá (1.040 kg/m³). Od vody se však zásadně liší svými dalšími fyzikálními vlastnostmi jako je např. bod tání či varu. Propylenglykol taje/tuhne při -60 °C a vře při 187 °C, z čehož plyne i jeho využití v nemrznoucích směsích¹⁵.

Obr. 2: Struktura propylenglykolu

Kromě vody se propylenglykol dobře mísí s mnoha dalšími organickými sloučeninami (např. benzenem, toluenem nebo mnoha oleji) a může tak sloužit jako “nosič” pro jejich rozpuštění ve vodě. Propylenglykol je také silně hygroskopický, tj. pokud se nachází v prostředí s obsahem vodní páry, přitáhne ji a absorbuje. Díky této vlastnosti se užívá jako smáčedlo i jako

¹¹ PACÁK, Josef a kolektiv. *Chemie pro II. ročník gymnázií*. Praha: SPN, 1985.

¹² ŠRÁMEK, Vratislav. *Chemie: Přehled středoškol. učiva*. Praha: Orfeus, 1992. ISBN 80-85522-21-7.

¹³ PACÁK, Josef a kolektiv. *Chemie pro II. ročník gymnázií*. Praha: SPN, 1985.

¹⁴ VACÍK, Jiří. *Přehled středoškolské chemie*. 3. dopl. vyd., v SPN-pedag. nakl. 1. vyd. Praha: SPN – pedagogické nakladatelství, 1995. ISBN 80-85937-08-5.

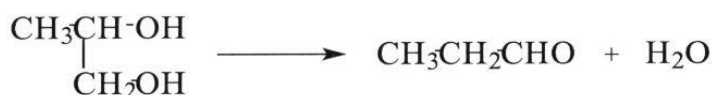
¹⁵ Propylenglykol. *Chemie.de* [online]. CHEMIE.DE, 2017 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: <http://www.chemie.de/lexikon/Propylenglykol.html>

dehydratační činidlo. Hygroskopicita klesá s rostoucí relativní vlhkostí za stálé teploty a naopak roste se stoupající teplotou při stejné vlhkosti¹⁶.

1.2.1 Chemické vlastnosti

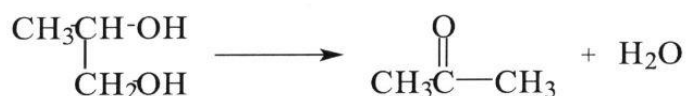
Za běžných skladovacích podmínek je propylenglykol poměrně stálý. Při zahřátí za přítomnosti vzduchu však může oxidovat za vzniku aldehydů, ketonů či karboxylových kyselin. Proto se do propylenglykolových směsí poměrně často přidávají stabilizátory, díky kterým je možné propylenglykol používat i při vysokých teplotách.

Propylenglykol poměrně ochotně podstupuje dehydrataci a to hned několika způsoby. Prvním z nich je dehydratace jedné molekuly propylenglykolu za vzniku vody a propionaldehydu nebo acetonu (viz obr. 3). Druhým způsobem je dehydratace dvou molekul propylenglykol za vzniku dipropylenglykolu a vody. (viz obr. 4) Touto reakcí mohou vznikat i různé izomery propylenglykolu. Dehydratací dvou molekul propylenglykol mohou být syntetizovány cyklické étery (např. dimethyldioxan – viz obr. 5).

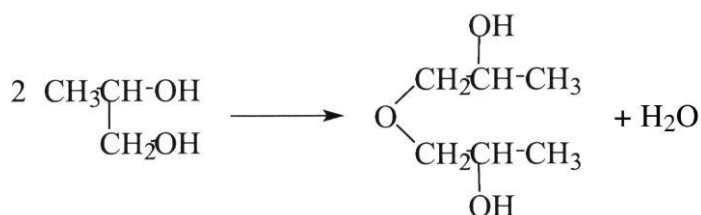


Propylene Glycol \longrightarrow Propionaldehyde + Water

Obr. 3: Dehydratace propylenglykolu

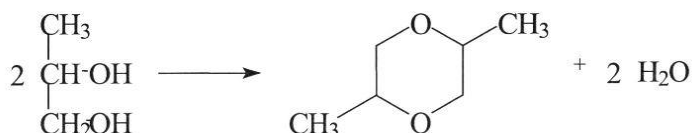


Propylene Glycol \longrightarrow Acetone + Water



Propylene Glycol \longrightarrow Dipropylene Glycol + Water

Obr. 4: Dehydratace propylenglykolu II



Obr. 5: Dehydratace propylenglykolu III

Propylene Glycol \longrightarrow Dimethyldioxane + Water

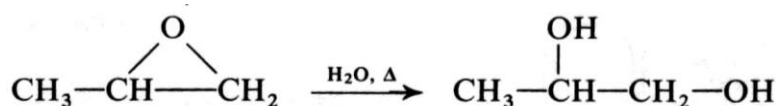
¹⁶ a Guide to Glycols. DOW [online]. The Dow Chemical Company, 2003 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_091b/0901b8038091b508.pdf?filepath=propyleneglycol/pdfs/noreg/117-01682.pdf

U propylenglykolu také může dojít k dehydrogenaci nebo dehydrataci pomocí alkalického kovu či zásady. Při této reakci dochází k substituci vodíku na OH skupině za alkalický kov, díky čemuž vznikají dříve zmiňované alkoxidy.

Tak jako ostatní alkoholy i propylenglykol je schopný esterifikace, tj. reakce s kyselinou za vzniku esterů¹⁷ – jako příklad je možné uvést reakce propylenglykolu s kyselinou alginovou za vzniku propylenglykolalginátu¹⁸. Propylenglykol dále může být využit k syntéze polyesterů za pomoci dvojsytné karboxylové kyseliny či jejího anhydridu¹⁹.

1.2.2 Výroba

Propylen-glykol se průmyslově vyrábí především hydrolýzou propylenoxidu. Propylenoxid se získává oxidací propylenu peroxidem vodíku²⁰. Samotná hydrolýza propylenglykolu může probíhat dvěma způsoby: nekatalytická a katalytická. Nekatalytická probíhá mezi teplotami 200 a 220 °C oproti katalytické, která je prováděna za teploty 150-180 °C. Obě verze jsou prováděny za tlaku 1,5 až 1,8 MPa. u katalytické jsou přítomny katalyzátory, díky kterým může probíhat za nižší teploty – u propylenglykolu se používá malé množství kyseliny sírové, zásady nebo například iontoměničová pryskyřice. Výsledkem hydrolýzy je směs různých propylenglykolů – z 20 % tvořena monopropylenglykolem (propan-1,2-diol), 1,5 % dipropylenglykolem a zbytek je tvořen nejrůznějšími polypropylenglykoly. Jednotlivé složky lze pak získat mnohonásobnou částečnou destilací (rektifikací)²¹. Další možností přípravy je přímo oxidace propylenu katalyzovaná studeným vodným roztokem KMnO₄, která se však průmyslově nevyužívá²².



Obr. 6: Hydrolýza propylenoxidu

¹⁷ a Guide to Glycols. DOW [online]. The Dow Chemical Company, 2003 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_091b/0901b8038091b508.pdf?filepath=propyleneglycol/pdfs/noreg/117-01682.pdf

¹⁸ Směrnice Komise 2009. EUR-Lex [online]. 2017 [cit. 2017-02-08]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32009L0010>

¹⁹ a Guide to Glycols. DOW [online]. The Dow Chemical Company, 2003 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_091b/0901b8038091b508.pdf?filepath=propyleneglycol/pdfs/noreg/117-01682.pdf

²⁰ Propylene Glycol: The Complicated Additive with Potentially Dangerous Side effects. Dr.Axe [online]. 2017 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <https://draxe.com/propylene-glycol/>

²¹ 1,2-propanediol. Chemindustry.ru [online]. 2010 [cit. 2017-02-08]. Dostupné z: <http://chemindustry.ru/1,2-Propanediol.php>

²² VACÍK, Jiří. *Přehled středoškolské chemie*. 3. dopl. vyd., v SPN-pedag. nakl. 1. vyd. Praha: SPN – pedagogické nakladatelství, 1995. ISBN 80-85937-08-5.

1.2.3 Využití

Propylenglykol, přestože pro laickou veřejnost je sloučenina naprosto neznámá, má velmi široké využití a to i v odvětvích, ve kterých bychom jej nečekali.

Pravděpodobně nejznámějším využitím je použití propylenglykolu v nemrznoucích a odmrazovacích směsích. Jedná se o směsi snižující bod tuhnutí vody a dalších sloučenin, proto je využíván např. Do ostříkovačů. S vlastností ovlivňovat bod tání je spojen fakt, že díky neomezené mísitelnosti s vodou, nezávisle na jejím skupenství, dokáže rozložit sníh a led, a proto je používán jako odmrazovač letadel. v běžných posypových/odmrazovacích směsích se užívají hlavně směsi s močovinou nebo chloridové soli (např. NaCl, CaCl₂, ...), ale pokud jsou použity na kovové povrchy, způsobují korozi. Oproti tomu propylenglykol, který s kovy nijak nereaguje, je používán ve směsích na vodní bázi obsahující látky snižující povrchové napětí, zahušťující polymery, pufrující látky (tj. látky udržující pH), látky zpomalující hoření či inhibitory koroze. Propylenglykol v těchto směsích tvoří 30-70 % objemu, ale může tvořit až 90 % (Typ I). Účinnost je navíc zvýšena zahřátím směsi a jejím nanášením pod vysokým tlakem. Dříve se standardně používal (jak v nemrznoucích, tak odmrazovacích směsích) známější etylenglykol, který je však pro člověka vysoce toxický a byl zneužíván, proto se začal užívat propylenglykol, který má velmi podobné vlastnosti, ale pro člověka a další savce je méně toxický. Nicméně propylenglykol je nebezpečný pro vodní živočichy a proto se zvažuje jeho případná náhrada (viz kapitola 4)²³.

Další využití bychom našli v kosmetickém průmyslu – díky tomu, že se svými vlastnostmi částečně podobá glycerolu, je využíván v mnoha balzámech, vlasové kosmetice, dekorativní kosmetice (rtěnkách), deodorantech, zubních pastách či nejrůznější pleťové kosmetice. Díky své hygroskopicitě je schopný přitahovat vodu a tak funguje jako zvlhčovač²⁴. Našli bychom jej ve výrobcích mnoha komerčně prodávaných značek (Schauma, Syoss, Dermacol), ale i dražších, méně známých značek (Alcina či Nu Skin).

V rámci širokého spektra využití je nutné zmínit i výskyt propylenglykolu v potravinách. Zdá se paradoxní, že se sloučenina využívaná v nemrznoucích směsích používá i v potravinářství. Užitečných vlastností propylenglykolu je mnoho a jeho výroba není finančně náročná, proto je jeho použití výhodné i ekonomicky. Na etiketách jej najdeme po označení E1520. Jeho použití je opět mnohočetné: využívá se např. při výrobě řepného cukru a kvasnic jako odpěňovač, jako zvlhčovač a konzervant v nejrůznějších cukrárenských a pekárenských výrobcích. Dále se u umělých aroma a barviv objevuje v roli rozpouštědla nebo u masných výrobků a psích krmiv se užívá, aby se zabránilo ztrátě barvy masa. Mohli bychom jej najít i v čokoládě, dresincích nebo při extrakci vanilky z vanilkových lusků²⁵.

²³ Aircraft Deicers. *Chemical and Engineering News* [online]. 2001 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/cen/whatstuff/stuff/7901scit5.html>

²⁴ Propylene Glycol. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* [online]. 2011 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <https://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=1120&tid=240>

²⁵ E1520 – Propylenglykol. *Éčka v potravinách* [online]. 2015 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/cen/whatstuff/stuff/7901scit5.html>

Propylenglykol se však nevyskytuje jen v lidské stravě. Již několik let je využíván v mlékárenském průmyslu, kdy je přidáván do stravy dojnicím, které jsou těsně před či po porodu telat. v tomto období přirozeně dochází ke snížení nadojeného mléka, což je ekonomicky nevýhodné, avšak propylenglykol toto snížení dokáže eliminovat a také zabraňuje ketóze (tj. metabolické poruše při které dochází ke snížení laktace²⁶). Obojí je však vykoupeno přítomností propylenglykolu v mléce²⁷.

Jedním ze zajímavějších využití propylenglykolu je jeho použití v náplních do tzv. e-cigaret. Jedná se o "zdravější" náhražku běžných cigaret, kde je tekutá směs, obsahující rozpuštěný nikotin a různá aromata, zahřáta, což způsobuje emisi aerosolu připomínajícího vodní páru či skutečný cigaretový kouř. U e-cigaret je často vyzdvižována absence dehtu, oxidu uhelnatého a dalších prokazatelně karcinogenních látek, avšak stejně jako běžné cigarety i e-cigarety obsahují mnoho chemikálií, jejichž vlivem se nikdo dosud nezabýval. Navíc jsou e-cigarety na trhu příliš krátkou dobu na to, aby byly známy dlouhodobé účinky. Propylenglykol zde působí jako rozpouštědlo a může tvořit až 70 % výparu. V minulosti u něj již byla prokázána dráždivost plic při vdechování většího množství výparů a to je jen jedna z desítek skrytých chemikálií v e-cigaretách. Propylenglykol se však nevyskytuje jen v e-cigaretách, ale i v cigaretách normálních, neboť se též využívá při zpracování tabáku. Na druhou stranu v normálních cigaretách je v menším množství²⁸.

Neméně důležitou úlohou propylenglykolu je jeho využívání ve farmaceutickém průmyslu, kde se používá jako rozpouštědlo léčivých látek v léčivých přípravcích obsahujících např. kortikosteroidy, antibiotika, antimykotika či chemoterapeutika. Denní povolená dávka je 25 mg na kilogram tělesné hmotnosti, proto je potřeba dávat pozor při užívání najednou více typů léčivých přípravků obsahujících propylenglykol aby nedošlo k překročení této koncentrace. Při požití vyšších dávek propylenglykolu bylo prokázáno podráždění kůže²⁹.

1.2.4 Vliv na životní prostředí

Jak již bylo výše zmíněno, propylenglykol představuje zvýšené riziko pro životní prostředí. Jeho rozklad byl dosud pozorován jen v půdě bohaté na organické látky a i zde biodegradace začala až po několika dnech a probíhala velmi pomalu. Jeho degradace se zpomaluje se snižující se teplotou a přestává při 4 °C. Proto riziko akumulace propylenglykolu v půdě stoupá se snižující se teplotou, tj. právě v době, kdy nabývá na významu jeho používání a současně s geografickou polohou letiště. Ve Spojených státech se ročně spotřebuje přes 80 milionů litrů odmrazovacích směsí obsahujících propylenglykol (viz kapitola 3. 3)³⁰, z čehož minimálně 60 % musí letiště

²⁶ Ketózy. MVDr. Martin Vlček [online]. 2016 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.vetvclcek.cz/produkty-prokravy-a-telata/ketozy/>

²⁷ Propylenglykol. *Chemie.de* [online]. CHEMIE.DE, 2017 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: <http://www.chemie.de/lexikon/Propylenglykol.html>

²⁸ Putting Electronic Cigarettes to the Test. *ChemEurope.com* [online]. 2017 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://www.chemeurope.com/en/news/140854/putting-electronic-cigarettes-to-the-test.html>

²⁹ Toxické účinky propylenglykolu. *Euro.cz* [online]. 2000 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/toxicke-ucinky-propylenglykolu-130038>

³⁰ US Environmental Protection Agency. *Environmental Impact and Benefit Assessment for the Final Effluent Limitation Guidelines and Standards for the Airport Deicing Category*: [online]. 2012, 187 [cit.2017-02-19].

znovu shromáždit. Zbýlých 40 % (cca 30 milionů litrů) je z části rozptýleno v průběhu vlastního postřiku letadla po okolí, dále část letadlo ztratí při pojezdu po letištní ploše nebo při vlastním letu. Praxe navíc ukazuje porušování tohoto nařízení, a tak dochází k daleko větším únikům do životního prostředí, než jaké je letišti vykazováno³¹.

Vliv užívání odmrazovačů byl již jednoznačně prokázán: ve vodních zdrojích v blízkosti letišť, kde dochází k úhynu ryb a dalších živočichů. Současně dochází ke snižování množství nutrientů ve vodě a hlavně ke zvyšování biochemické spotřeby kyslíku (BOD) v důsledku jeho spotřeby při rozkladu propylenglykolu. Zvýšení BOD způsobuje zásadní úbytek kyslíku rozpuštěného ve vodě, s čímž úzce souvisí úhyn vodních živočichů (ryb)³².

Díky koloběhu vody se propylenglykol vyskytuje jak ve vodě, tak v půdě, ale i ve vzduchu, kvůli čemuž se dostává k rostlinám, živočichům a skrze ně zpět k lidem³³.

1.2.5 Toxicita

Tak jako mnoho dalších aditiv bylo i o propylenglykolu provedeno mnoho studií týkajících se jeho toxicity či stanovení jiné nebezpečnosti pro organismy. Tyto studie byly prováděny na nejrůznějších druzích živočichů od krys přes opice až po lidi.

Doporučená denní dávka pro dospělého člověka by neměla překročit 25 mg/kg hmotnosti/ den. U krys je dávka LD50 rovna 20 g/kg váhy při perorálním užití a při nitrožilním 68 g/kg. Oproti tomu u psů je dávka o něco vyšší tj. 22 g/kg při perorálním podání³⁴. K jeho rozložení v lidském těle dochází do 48 hodin³⁵. Pro člověka je nejnebezpečnější riziko jeho požití v různých lécích a potravinách – kombinací různých léků/potravin může dojít k předávkování a tím k níže uvedeným příznakům.

Propylenglykol je pro organismy poměrně silně dráždivý při přímém kontaktu s očima, delšímu styku s pokožkou či sliznicemi. Pokud je pokožka dlouhodobě vystavena vlivu propylenglykolu, dochází k jejímu podráždění a vzniku dermatitidy³⁶. Na druhou stranu v rozsáhlé studii ASPET byl průběžně sledován vliv prostředí nasyceného parami propylenglykolu na různé fyziologické

Dostupné z: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/airport-deicing_environmental-impact-and-benefit-assessment-final-2012.pdf

³¹ US Environmental Protection Agency. *Effluent Guidelines for Airport Deicing Dischargers: Fact Sheet* [online]. 2012, , 2 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/airport-deicing-fact-sheet_final-rule_april-2012.pdf

³² US Environmental Protection Agency. *Environmental Impact and Benefit Assessment for the Final Effluent Limitation Guidelines and Standards for the Airport Deicing Category: Fact Sheet* [online]. 2012, , 2 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/airport-deicing_environmental-impact-and-benefit-assessment-final-2012.pdf#page=117&zoom=auto,-99,711

³³ KVESITADZE, G. I. *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: basis of phytoremediation*. New York: Springer, 2006. ISBN 3540289976.

³⁴ Propylene glycol. *IPCS Inchem* [online]. 2017 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim443.htm>

³⁵ Public Health Statement for Propylene glycol. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* [online]. 1997 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <https://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=1120&tid=240>

³⁶ Propylene glycol. *IPCS Inchem* [online]. 2017 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim443.htm>

funkce. Na konci experimentu bylo prokázáno, že ani dlouhodobé působení (12-18 měsíců) výparů propylenglykolu nemá na savce žádné výraznější účinky. V rámci této studie byla provedena i histologická analýza plic všech testovaných živočichů a na plicní tkáni nebyly pozorovány žádné změny. Zajímavé bylo, že krysy vystavené tomuto prostředí měly sklony k tloušťnutí³⁷.

Protože se jedná o alkohol, má u živočichů propylenglykol podobné tlumící účinky na CNS jako etanol. Díky útlumu CNS dochází k ospalosti, ztuhlosti a při vyšších dávkách může člověk upadnout do bezvědomí i hlubokého kómatu. Tyto účinky jsou však slabší než u etanolu. Při dlouhodobém užívání se někdy vyskytly tonicko-konické záchvaty. Záchvaty byly pozorovány také u kojenců, kterým byl podáván propylenglykol jako rozpouštědlo v multivitaminách³⁸.

Dále byly prokázány kardiotoxické účinky způsobující srdeční arytmie viditelné na EKG, a při vyšších dávkách i zástavu srdce. Při nitrožilním podání propylenglykol způsobuje snížení krevního tlaku a zpomalení tepové frekvence³⁹. V další studii byla u živočichů potvrzena i hepatotoxicita či hemolýza. Tato studie také zjistila poškození jater a ledvin, ale tento poznatek zatím nebyl klinicky ověřen⁴⁰.

Propylenglykol má vliv i na imunitní systém – u *in vitro* pokusů bylo při 1% koncentraci prokázáno usmrcování NK buněk⁴¹. Kromě toho byly provedeny rozsáhlé biochemické analýzy krve intoxikovaných a byla zjištěna dočasná hyperosmolalita (tj. nadměrné (látkové) množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v kilogramu vody⁴²) a laktátovou acidózu (tj. zvýšená koncentrace kyseliny mléčné v krvi⁴³). Oproti tomu dosud nebyly prokázány žádné karcinogenní, mutagenní ani teratogenní účinky⁴⁴.

³⁷ TESTS FOR THE CHRONIC TOXICITY OF PROPYLENE GLYCOL AND TRIETHYLENE GLYCOL ON MONKEYS AND RATS BY VAPOR INHALATION AND ORAL ADMINISTRATION. ROBERTSON, O.H., Clayton G. LOOSLI, Theodore T. PUCK, Henry WISE, Henry M. LEMON a William LESTER. *ASPET* [online]. 1947 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://jpet.aspetjournals.org/content/91/1/52>

³⁸ Propylene glycol. *IPCS Inchem* [online]. 2017 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim443.htm>

³⁹ GELLERMAN G., MARTINEZ C. *Fatal ventricular fibrillation following intravenous sodium diphenylhydantoin therapy*. *JAMA* 200: 161-162, 1967.

⁴⁰ SEIDENFELD M., HANZLIK P.: *The general properties, actions, and toxicity of propylene glycol*. *J Pharmacol*, 44: 109, 1932.

⁴¹ DENNING D., WEBSTER D. *Detrimental effect of propylene glycol on natural killer cell and neutrophil function*. *J Pharm Pharmacol* 39: 236-238, 1987.

⁴² Pojem osmolalita. *ABZ Slovník cizích slov* [online]. 2017 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <http://slovník-cizich-slov.abz.cz/web.php/slovo/osmolalita>

⁴³ Laktátová acidóza. *Medicína, nemoci, studium na I.LF UK* [online]. 2011 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <http://www.stefajir.cz/?q=laktatova-acidoza>

⁴⁴ Propylene glycol. *IPCS Inchem* [online]. 2017 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim443.htm>

1.3 Projevy Toxicity u rostlin

Toxiny se do rostlin mohou dostat 3 způsoby: ze vzduchu, z půdy a z vody. Pro vstup ze vzduchu musí toxin projít průduchy na listech – jejich zavírání a otevírání je řízeno koncentrací draselných iontů (čím je koncentrace vyšší, tím více se průduch otevírá). Koncentrace draselných iontů se řídí mnoha vnějšími i vnitřními vlivy – vlhkostí vzduchu, intenzitou světla, koncentrací oxidu uhličitého v rostlině atp. Toxiny se skrz průduchy nejčastěji dostávají ve formě roztoků, ale propustnost průduchů je druhově specifická. Význam této absorpce je oproti dalším způsobům zanedbatelný.

Z půdy a vody se toxiny mohou do rostliny dostat přes kořenový systém, neboť povrch kořenu není kvůli příjmu živin chráněn kutikulou a tak toxiny mohou snadno proniknout do rostliny společně s vodou pomocí osmózy. Tímto způsobem jsou toxiny absorbovány i semeny rostliny a tak ovlivňují její vývoj již v embryonálním stádiu. Absorpce toxinu semenem proto zásadně ovlivňuje další vývoj rostliny – vývoj je často pomalejší než obvykle. Této vlastnosti bylo využito při provedení prvního pokusu popsáno dále v praktické části této práce. Po průniku do rostliny jakýmkoliv způsobem se toxiny víceméně rovnoměrně rozmístí po celém těle.

Vstupem toxinu do organismu rostliny dochází ke spuštění různých ochranných detoxifikačních mechanismů, které se snaží eliminovat toxický účinek toxinu. Často dochází ke změnám a poškození struktury buněk i celých pletiv. K tomu dochází díky postupné absorpci toxinů jednotlivými organelami v buňce – nejdříve byly toxiny detekovány v cytoplazmatické membráně a jádře buňky. Při delším vystavení byly toxiny detekovány i v mitochondriích, cytoplazmě, vakuole, membránách organel i plastidech. Dochází k inhibici mnohých enzymů, např. Ca^{2+} -ATPáza, která je zásadní pro výměnu látek mezi buňkou a okolím. Mitochondrie a plastidy se zvětšují a dochází ke snížení jejich činnosti, což vede k úbytku barviv (chlorofylů, karotenoidů). Při dlouhodobém vystavení účinku toxinů dochází ke smrti buněk a posléze i celé rostliny což se projevuje úbytkem hmotnosti⁴⁵. Tyto změny byly základem pro pozorování ve 2. pokusu praktické části.

⁴⁵ KVESITADZE, G. I. *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: basis of phytoremediation*. New York: Springer, c2006. ISBN 3540289976.

2 PRAKTICKÁ ČÁST

Praktická část se zabývá vlivem propylenglykolu na rostliny. Na základě předchozích výzkumů (viz Úvod) usuzují, že propylenglykol bude mít na rostliny negativní vliv a bude inhibovat jejich růst. V praktické části proto byly provedeny dva experimenty zkoumající vliv propylenglykolu na klíčivost, růst biomasy a koncentraci barviv v rostlině.

2.1 Plán experimentu

Rostliny hořčice patří mezi tzv. modelové rostliny a používají se pro orientační stanovení toxicity málo prozkoumaných látek. Proto byl tento model použit i v tomto experimentu, neboť samotná kultivace nevyžaduje speciální kultivační podmínky a výběrem vhodných koncentrací propylenglykolu lze získat závislost klíčení na jeho koncentraci. Toxický vliv propylenglykolu se bude od určitých koncentrací projevovat snížením klíčivosti, což se současně projeví i na délce kořínků. Naměřené délky kořínků budou použity jako směrodatné pro další experiment. Semena hořčice budou kultivována po dobu 4 dní *in vitro*, aby bylo zabráněno vlivu mikroorganismů v průběhu experimentu.

Druhý experiment je zaměřen na zjištění vlivu propylenglykolu na rostliny. Bude prováděn na rostlinách ostřice liščí, které stejně jako rostliny hořčice patří mezi modelové rostliny. Jedná se o rostliny, kterým vyhovuje kultivace ve vodním prostředí (tj. v tekutém mediu). Rostliny ostřice také rychle rostou a jsou proto vhodné pro krátkodobější experiment. Rostliny budou kultivovány *in vitro* po dobu 3 týdnů a v průběhu této doby budou odebrány vzorky rostlin. Hmotnost biomasy bude následně použita jako směrodatná, neboť zpomalení růstu je primárním a nejrychleji pozorovatelným ukazatelem toxického vlivu propylenglykolu na rostliny. Toxický vliv propylenglykolu na rostliny se také projevuje úbytkem rostlinných barviv, proto jako dalším hodnoceným ukazatelem je stanovení koncentrace chlorofylů a karotenoidů (viz kapitola 3). K jejich stanovení bude použita spektrofotometrie, neboť se jedná o finančně nejméně náročnou a dostupnou metodu.

2.2 Materiál a metody

2.2.1 Kultivace semen hořčice seté v přítomnosti propylenglykolu

V prvním experimentu byla vysazena semínka hořčice seté (*Sinapis alba*) na filtrační papír v Petriho miskách a byl pozorován růst kořínků za přítomnosti různých koncentrací propylenglykolu.

Pěstování semínek hořčice seté probíhalo v *in vitro* podmínkách za využití sterilních Petriho misek, sterilizovaných semínek hořčice seté, filtračního papíru, živného média a propylenglykolu v koncentracích 0, 1, 10, 100 a 1.000 mg/l.

Tekuté živné médium se připravuje smísením 4 zásobních roztoků s redestilovanou vodou. U zásobního roztoku č.1 se rozpustí 0,588 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, zásobní roztok č.2 vzniká rozpuštěním 0,2465 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, zásobní roztok č.3 se vyrábí rozmícháním 0,1295 g NaHCO_3 a pro vyrobení zásobního roztoku č.4 bylo potřeba rozpustit 0,015 g KCl . Všechny roztoky následně byly doplněny do 50 ml. Do zásobní nádoby se od každého roztoku nadávkuje 2,5 ml a následně je nádoba doplněna do 1l redestilovanou vodou. Hodnota pH média byla dle potřeby upravena 1M roztokem NaOH či HCl , aby se výsledné pH pohybovalo mezi 7,6 a 8,0. Médium bylo rozděleno na 5 částí – do 4 byl přidán propylenglykol a jedna sloužila jako kontrola. Do každé části bylo přidáno jiné množství propylenglykolu tak, aby výsledná koncentrace odpovídala koncentracím: 1, 10, 100 a 1.000 mg/l.

Do filtračního papíru bylo uděláno 17 dírek (viz Příloha 2). Do každé Petriho misky byly dány 4 ml sterilního média, a poté na něj byl položen připravený filtrační papír. Celkem bylo použito 20 Petriho misek – na každou koncentraci 4 + 4 pro kontrolu. Do každé dírky posléze bylo umístěno pomocí pinzety 1 semínko. Petriho misky byly přikryty víčky a kultivovány za normálních podmínek (pokojová teplota, normální tlak a světelná perioda 10 hodin světlo – 14 hodin tma) po dobu 4 dní. Po 4 dnech byla semínka z misek vyjmuta a každému byla změřena délka kořínku.

2.2.2 Kultivace rostlin ostřice liščí v přítomnosti propylenglykolu

Druhý experiment byl proveden s rostlinami ostřice liščí (*Carex vulpina*), která byla vystavena několika koncentracím propylenglykolu po dobu 3 týdnů. V průběhu této doby byla sledována hmotnost rostlin a obsah barviv v nich.

Mladé rostliny ostřice liščí (*Carex vulpina*) byly předpěstovány na pevném živném mediu a vliv propylenglykolu byl testován v tekutém mediu s přidávkem propylenglykolu v konečných koncentracích 0, 100, 1.000 a 10.000 mg/l.

Při pokusu bylo použito médium (viz Tabulka 1) ve dvou formách: tekuté a tuhé. Pevné médium obsahovalo navíc agar pro zpevnění tekutého media.

Zásobní roztok	Nutrient	na 1l zásobního roztoku	na 1l média	koncentrace v 1l média	jednotka
A	NH_4NO_3	82,5 g	20ml	1650	mg/l
B	KNO_3	95 g	20ml	1900	mg/l
C	KH_2PO_4	34 g	5ml	170	mg/l
	H_3BO_3	2 g		10	mg/l
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50 mg		250	$\mu\text{g/l}$

	CoCl ₂ .6H ₂ O	5 mg		25	μg/l
	MnSO ₄ .4H ₂ O	190 mg		950	μg/l
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	280 mg		1400	μg/l
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	88 g	5ml	440	mg/l
E	MnSO ₄ .4H ₂ O	5 g	5ml	25	mg/l
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	2 g		10	mg/l
	CuSO ₄ .5H ₂ O	5 mg		25	μg/l
	MgSO ₄ .7H ₂ O	74 g		370	mg/l
F	FeSO ₄ .7H ₂ O	2,785 g	10ml	27.85	mg/l
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	3,725 g		37.25	mg/l
		na 100 ml zás.roztoku			
VITAMÍNY	inositol	1,982 g	5ml	99.1	mg/l
	Thiamin.HCl	202 mg		10.118	mg/l
	kys.nikotinová	20 mg		985	μg/l
	Pyridoxin.HCl	21 mg		1028	μg/l
sacharosa			30g		
pH			5.6		

Tabulka 1: Koncentrace zásobních roztoků pro RH médium. *Data převzata z publikace: COLIN, Henri. Plant Cell Culture. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1993. ISBN 1872748473.*

Postup přípravy média:

1. *Daná množství zásobních roztoků (A-F) byla dána do Erlenmayerovy baňky o objemu 1 l. Bylo přidáno 800ml destilované vody a směs byla promíchána na magnetické míchačce.*
2. *Dále byla přidána sacharóza a směs byla nadále míchána do doby, než byly rozpuštěny všechny pevné složky media. Poté byla baňka naplněna do 950 ml.*
3. *Dle potřeby bylo pH upraveno pomocí 0,5 M NaOH na pH 5,6.*
4. *Směs byla přelita do odměrného válce a celkové množství doplněno destilovanou vodou do 1 l.*
5. *Následně byla směs rozlita po 30 ml do kultivačních nádob o objemu 200 ml.*
6. *Pro pevné medium byl ke zpevnění použit agar, který byl přidán jako poslední složka do směsi a směs byla postupně přivedena k varu, aby se agar rozpustil. Horká směs byla rozdělena do kultivačních nádob o objemu 200 ml po 30 ml. Kultivační nádoby byly následně sterilizovány za teploty 120 °C, tlaku 120 kPa a po dobu 60 min.*

Celý proces probíhal v aseptickém prostředí. Kultivační nádoby s médiem byly následně na 4 dny ponechány v místnosti se stálou teplotou 25 °C, aby došlo k ověření jejich sterility⁴⁶.

V první fázi experimentu bylo použito pevné médium – po uplynutí 4 dnů byla do kultivačních nádob vyseta semínka ostřice. Po 2 týdnech byly vzešlé sazenice rozsazeny do nového pevného média po 2-3 rostlinách na kultivační nádobu.

Po dalších 3 týdnech byly sazenice zváženy a následně rozsazeny jednotlivě do kultivačních nádob s 30 ml tekutého média. Ve finální fázi bylo ke každé rostlině přidáno množství propylenglykolu odpovídající konečné koncentraci 0, 100, 1.000 a 10.000 mg/l – na každé koncentraci bylo kultivováno 9 rostlin.

Po prvním, druhém a třetím týdnu kultivace rostlin v médiu s propylenglykolem byly odebrány 3 rostliny od každé koncentrace. Každá rostlina byla opláchnuta vodou, osušena a znovu zvážena. Z každé rostliny byl odebrán list, z něhož bylo zamraženo 0,025 g pro další analýzu.

Odstraněná část listu byla nastříhána na drobné kousky (viz fotodokumentace), vložena do zkumavky a přes noc extrahována v 1 ml metanolu. Následující den byly z každé zkumavky odebrány 3 vzorky, každý o objemu 0,2 ml, a naneseny na titrační destičky, které následně byly vloženy do spektrofotometru značky Tecan. Tento přístroj měří absorpci světla (schopnost pohlcovat světlo) při daných vlnových délkách a tyto hodnoty jsou dále použity k výpočtu koncentrace různých látek. Hodnota absorbance (A) je přímo úměrná koncentraci látky⁴⁷. Pro stanovení koncentrace rostlinných barviv byly proto měřeny absorbance při 3 vlnových délkách – 470, 652 a 665 nm. Koncentrace jednotlivých barviv byly následně získány vložением naměřených hodnot do rovnic uvedených v tabulce 2.

Chlorofyl A:	$C_a = 16,72A_{665} - 9,16A_{652}$
Chlorofyl B:	$C_b = 34,09A_{652} - 15,28A_{665}$
Karotenoidy:	$C_x = \frac{1000A_{470} - 1,64C_a - 104,96C_b}{221}$
Chlorofyl A+B:	$C_{a+b} = 1,44A_{665} + 24,93A_{652}$
Chlorofyl A/B:	$C_{a/b} = \frac{C_a}{C_b}$

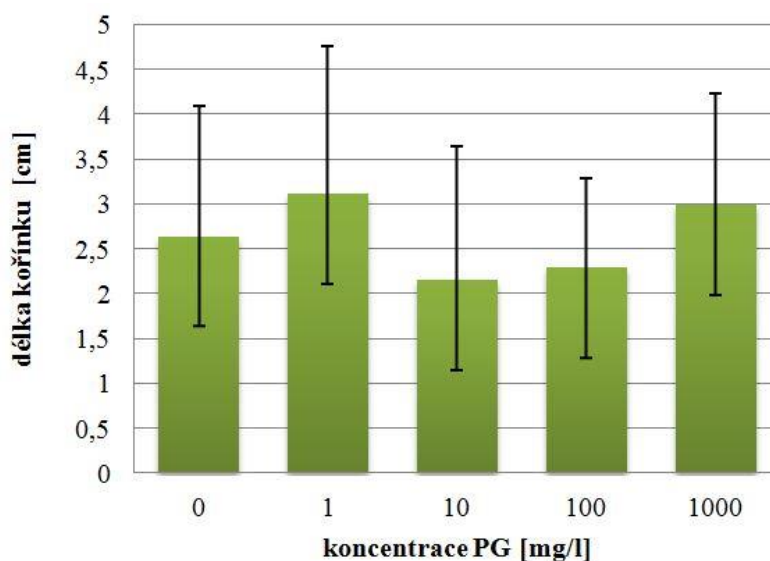
Tabulka 2: Rovnice pro výpočet koncentrace barviv extrahovaných z listu v metanolu

⁴⁶ COLIN, Henri. *Plant Cell Culture*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1993. ISBN 1872748473.

⁴⁷ Spektrofotometrie. *Eparo.cz* [online]. [cit. 2017-02-28]. Dostupné z: <http://vyuka.eparo.cz/isame/spektrofotometrie.pdf>

2.3 Analýza vzorků

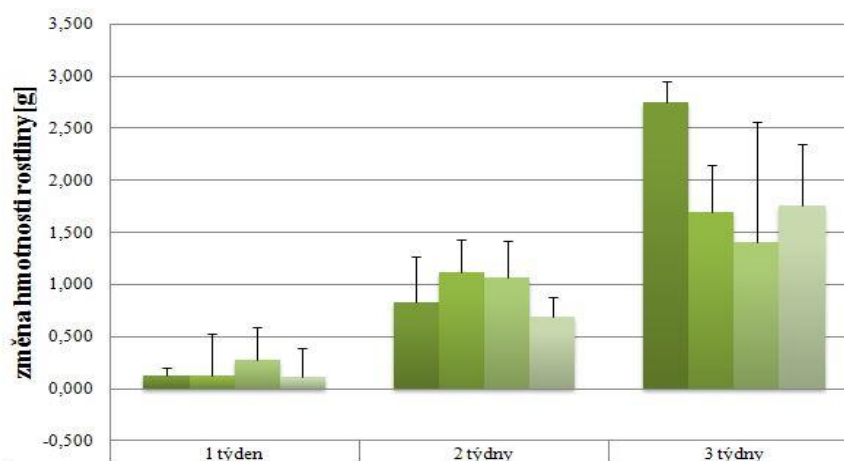
2.3.1 Vliv propylenglykolu na růst primárního kořene hořčice seté



Graf 1: Vliv propylenglykolu na růst kořínku hořčice seté po 4 dnech kultivace

V tomto experimentu bylo zjištěno, že vystavení semen hořčice propylenglykolu o koncentraci 1mg/l po dobu 4 dnů na růst mělo spíše stimulační vliv. Oproti tomu koncentrace 10 a 100 mg/l prokázaly srovnatelné snížení růstu oproti kontrole průměrně o 20 %. (viz graf 1). Na základě tohoto výsledku byly stanoveny koncentrace pro následný experiment s kultivací rostlin ostřice.

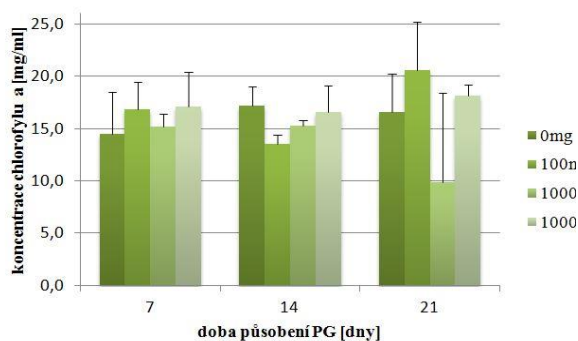
2.3.2 Vliv propylenglykolu na růst hmotnosti ostřice liščí



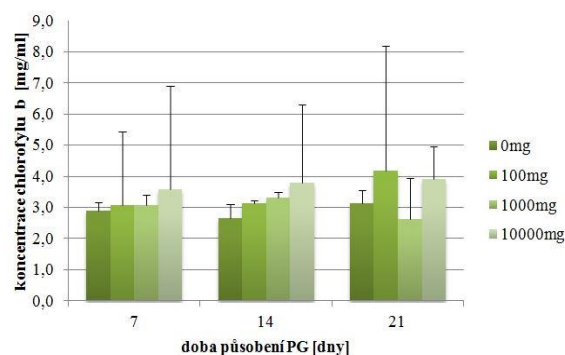
Graf 2: Vliv propylenglykolu na růst biomasy ostřice liščí (*Carex vulpina*) v průběhu 3 týdnů

V tomto experimentu bylo zjištěno, že rostliny kultivované v tekutém médiu s obsahem propylenglykolu nevykazovaly po 1. týdnu kultivace významnější vliv přidaného propylenglykolu. Během následujícího týdne byl pozorován **nárůst biomasy s minimálními rozdíly vlivu koncentrace propylenglykolu**. K **výraznější změně v růstu rostlin došlo až ve třetím týdnu kultivace**, kdy koncentrace 100 a 1000 mg/l prokázaly největší inhibiční účinek ve srovnání s kontrolní skupinou rostlin. **Zatímco v kontrolní skupině rostlin došlo k nárůstu biomasy 3,4x, u koncentrace 100mg/l došlo k výrazné inhibici růstu a nárůst byl pouze 1,5x, u koncentrace 1000mg/l byla inhibice ještě výraznější – nárůst biomasy byl pouze 1,3x.** Překvapivým výsledkem byl vývoj nárůstu biomasy u koncentrace 10.000 mg/l, neboť ve druhém týdnu byl růst mírně inhibován ve srovnání s kontrolou, ale v průběhu třetího týdne došlo k nárůstu biomasy 2,5x.

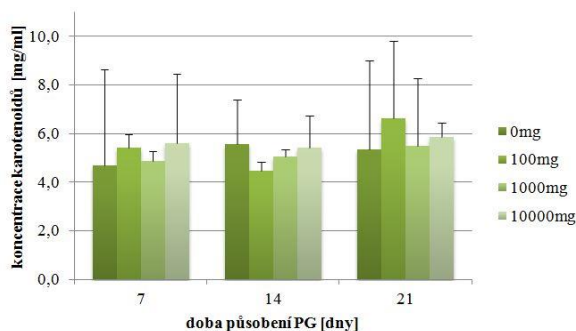
2.3.3 Vliv propylenglykolu na koncentraci barviv v listech ostřice liščí



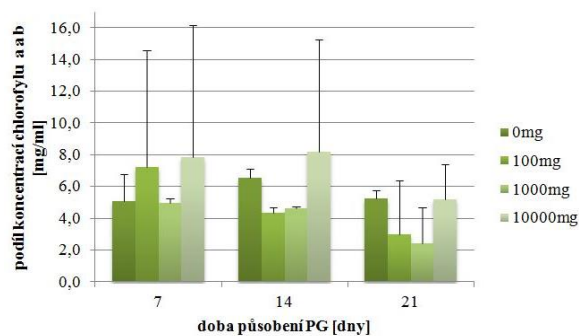
Graf 3: Vývoj koncentrace chlofeylu a v rostlině ostřice



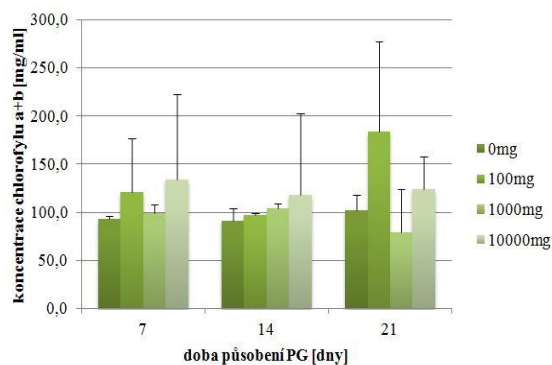
Graf 4: Vývoj koncentrace chlofeylu B v rostlině ostřice



Graf 5: Vývoj koncentrace karotenoidů v rostlině ostřice



Graf 6: Vývoj podílu chlorofeylu a a B v rostlině ostřice



Graf 7: Vývoj celkové koncentrace chlorofylu v rostlině ostřice

Porovnáním koncentrací vybraných barviv – chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů, v metanolvém extraktu z listu rostlin, **nebyly pozorovány významnější rozdíly** mezi zvolenými koncentracemi propylenglykolu v médiu a to ve srovnání s kontrolním vzorkem bez přítomnosti propylenglykolu.

2.4 Diskuze

Velké odchylky v naměřených hodnotách délky primárního kořene hořčice seté byly ovlivněny různou kvalitou (klíčivostí) semen (viz fotodokumentace). **Protože se toxicita projevila až od 10 mg/l, v druhém pokusu byly použity koncentrace vyšší.**

Velikost směrodatných odchylek u vývoje množství biomasy ostřice byla způsobena různou původní hmotností a velikostí rostlin a tím i různou mírou růstu. Dále mohla být ovlivněna, tak jako u hořčice, různou kvalitou původních semen. Navíc při každé kontrole byla odebrána celá rostlina (12 rostlin/odběr) a při dalším odběru byla nahrazena jinou, což na odchylky dozajista vliv také mělo. Přesto byl pokusem **negativní vliv propylenglykolu potvrzen, neboť došlo k inhibici nárůstu hmotnosti biomasy, což je primárním projevem toxicity látek (viz kapitola 3).**

Odchylky v koncentracích jednotlivých barviv mohly být způsobeny zvýšenou koncentrací propylenglykolu v médiu a následně v pletivech rostlin, neboť propylenglykol je organické rozpouštědlo, a tak spolu s metanolem může zvyšovat výtěžek extrakce barviv. Tuto hypotézu by bylo ovšem potřeba prověřit další analýzou, např. plynovou chromatografií. Významným faktorem mohla být i metodická chyba při pipetování vzorků.

Dle shromážděných výsledků se neprokázal významný vliv různých koncentrací **propylenglykolu na koncentraci barviv v rostlině**, ale tento výsledek nemusí bezprostředně značit toleranci rostlin na přítomnost propylenglykolu. Stanovením zbytkové koncentrace propylenglykolu či koncentrace jeho metabolitů v médiu by bylo zajímavé pro zjištění, zda dochází k jeho degradaci, či pouhé akumulaci v buněčných strukturách a případně na jaké produkty se propylenglykol metabolizuje.

Srovnatelných výsledků bylo dosaženo v práci Castra a spol⁴⁸, v níž byly testovány komplexní nemrznoucí směsi, ale jejich plné složení nebylo v publikované práci uvedeno, tzn. ani skutečná koncentrace propylenglykolu. Navíc i další složky směsi mohly mít toxické účinky. Dle této studie došlo u většiny rostlin kultivovaných ve 4% roztoku (tj. 40 mg/l) k úhynu a u 1% (10 mg/l) roztoku k rozsáhlému poškození listů a omezení růstu rostlin. Jinak byly výsledky studie v souladu s výsledky vlastních experimentů.

ZÁVĚR

Propylenglykol je v přírodě špatně rozložitelný a zejména při nižších teplotách, kdy je nejhodněji používán, můžou vzrůstat jeho koncentrace v životním prostředí a působit toxicky i na živočichy. Protože dochází k jeho hromadění v přírodě, tato práce se zabývá jeho vlivem na rostliny. Negativní vliv propylenglykolu byl již dříve prokázán, ale primární zaměření původních publikovaných prací bylo jiné. Na základě této studie jsem předpokládala negativní vliv propylenglykolu na růst testovaných rostlin.

V teoretické části práce byly popsány vlastnosti, výroba a využití propylenglykolu. Dále se zabývá i jeho vlivem na živočichy a životní prostředí. Teoretická práce také popisuje všeobecný vliv toxinů na rostliny.

Předmětem praktické části byly dva experimenty, pomocí kterých byl stanoven vliv propylenglykolu na klíčivost, růst biomasy a koncentraci barviv v rostlině. Při nich byla kultivována semena hořčice seté (*Sinapis alba*) a rostliny ostřice liščí (*Carex vulpina*). Semena byla kultivována *in vitro* v tekutém mediu s 5 koncentracemi propylenglykolu po dobu 4 dní a následně byla změřena délka jejich primárního kořene. Rostliny byly kultivovány *in vitro* se 4 koncentracemi po dobu 3 týdnů. V průběhu této doby byly rostliny každý týden váženy a byly měřeny koncentrace barviv v jejich listech pomocí spektrofotometrie.

Došlo k částečnému potvrzení hypotéz – byla prokázána inhibice klíčivosti a růstu biomasy, ale vliv na koncentraci barviv potvrzen nebyl.

Rozsah experimentu nebyl dostatečný pro statistické zpracování, nicméně pro orientační vyhodnocení vlivu propylenglykolu na růst rostlin by práce mohla být dobrým základem pro případné další studie, neboť dochází k neustálému růstu akumulace propylenglykolu v přírodě, který by mohl vést k ekologické katastrofě.

Kromě toho by mohlo dojít k rozšíření práce o analýzu vzorků médií pomocí plynové chromatografie a v kombinaci s hmotnostní spektrometrií identifikovat metabolity v mediu či v extraktu listů.

⁴⁸ CASTRO, S., L. C. DAVIS a L. E. ERICKSON. *PHYTOREMEDIATION OF AIRCRAFT DE-ICER AND ANTIFREEZE FORMULATIONS* [online]. Manhattan, USA, 2000 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <https://www.engg.ksu.edu/HSRC/00Proceed/erickson.pdf>

ZDROJE

- 1,2-propanediol. *Chemindustry.ru* [online]. 2010 [cit. 2017-02-08]. Dostupné z: <http://chemindustry.ru/1,2-Propanediol.php>
- A Guide to Glycols. *DOW* [online]. The Dow Chemical Company, 2003 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_091b/0901b8038091b508.pdf?filepath=propyleneglycol/pdfs/noreg/117-01682.pdf
- Aircraft Deicers. *Chemical and Engineering News* [online]. 2001 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/cen/whatstuff/stuff/7901scit5.html>
- CASTRO, S., L. C. DAVIS a L. E. ERICKSON. *PHYTOREMEDIATION OF AIRCRAFT DE-ICER AND ANTIFREEZE FORMULATIONS* [online]. Manhattan, USA, 2000 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <https://www.engg.ksu.edu/HSRC/00Proceed/erickson.pdf>
- COLIN, Henri. *Plant Cell Culture*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1993. ISBN 1872748473.
- DENNING D., WEBSTER D. *Detrimental effect of propylene glycol on natural killer cell and neutrophil function*. *J Pharm Pharmacol* 39: 236-238, 1987.
- E1520 – Propylenglykol. *Éčka v potravinách* [online]. 2015 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/cen/whatstuff/stuff/7901scit5.html>
- GELLERMAN G., MARTINEZ C. *Fatal ventricular fibrillation following intravenous sodium diphenylhydantoin therapy*. *JAMA* 200: 161-162, 1967.
- Ketózy. *MVDr. Martin Vlček* [online]. 2016 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.vetvlcek.cz/produkty-pro-kravy-a-telata/ketozy/>
- KHAN Sal. Alcohol properties. *Khan Academy* [online]. Khan Academy, 2016 [cit. 2016-12-27]. Dostupné z: <https://www.khanacademy.org/science/organic-chemistry/alcohols-ethers-epoxides-sulfides/alcohol-nomenclature-properties/v/alcohol-properties>
- KVESITADZE, G. I. *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: basis of phytoremediation*. New York: Springer, c2006. ISBN 3540289976.
- Laktátová acidóza. *Medicína, nemoci, studium na 1.LF UK* [online]. 2011 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <http://www.stefajir.cz/?q=laktatova-acidoza>
- MAREČEK, Aleš a Jaroslav HONZA. *Chemie pro čtyřletá gymnázia*. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2000. ISBN 80-7182-057-1.
- MIKELL, Meredith. Alcohol Fermentation: Definition, equation & process. In: *Study.com* [online]. 2003 [cit. 2016-12-27]. Dostupné z: <http://study.com/academy/lesson/alcohol-fermentation-definition-equation-process.html>
- MORTON, Jean Slot. Glycolysis and Alcoholic Fermentation. *Acts & Facts* [online]. 1980, 9(12) [cit. 2016-12-26]. Dostupné z: <http://www.icr.org/article/glycolysis-alcoholic-fermentation/>
- PACÁK, Josef a kolektiv. *Chemie pro II. ročník gymnázií*. Praha: SPN, 1985.
- PACÁK, Josef. *Úvod do studia organické chemie*. Praha: SNTL, 1982.
- Propylene Glycol. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* [online]. 2011 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <https://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=1120&tid=240>

- Propylene glycol. *IPCS Inchem* [online]. 2017 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim443.htm>
- PROPYLENE GLYCOL. *MPBio* [online]. 2017 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.mpbio.com/product.php?pid=02151957&country=56>
- Propylene Glycol: The Complicated Additive with Potentially Dangerous Side effects. *Dr.Axe* [online]. 2017 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <https://draxe.com/propylene-glycol/>
- Propylenglykol. *Chemie.de* [online]. CHEMIE.DE, 2017 [cit. 2017-01-22]. Dostupné z: <http://www.chemie.de/lexikon/Propylenglykol.html>
- Public Health Statement for Propylene glycol. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* [online]. 1997 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <https://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=1120&tid=240>
- Putting Electronic Cigarettes to the Test. *ChemEurope.com* [online]. 2017 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://www.chemeurope.com/en/news/140854/putting-electronic-cigarettes-to-the-test.html>
- SEIDENFELD M., HANZLIK P. *The general properties, actions, and toxicity of propylene glycol*. *J Pharmacol*, 44: 109, 1932.
- Směrnice Komise 2009. *EUR-Lex* [online]. 2017 [cit. 2017-02-08]. Dostupné z: [http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX %3A32009L0010](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32009L0010)
- Spektrofotometrie. *Eparo.cz* [online]. [cit. 2017-02-28]. Dostupné z: <http://vyuka.eparo.cz/isame/spektrofotometrie.pdf>
- ŠRÁMEK, Vratislav. *Chemie: Přehled středoškol. učiva*. Praha: Orfeus, 1992. ISBN 80-85522-21-7.
- TESTS FOR THE CHRONIC TOXICITY OF PROPYLENE GLYCOL AND TRIETHYLENE GLYCOL ON MONKEYS AND RATS BY VAPOR INHALATION AND ORAL ADMINISTRATION. ROBERTSON, O.H., Clayton G. LOOSLI, Theodore T. PUCK, Henry WISE, Henry M. LEMON a William LESTER. *ASPET* [online]. 1947 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: <http://jpet.aspetjournals.org/content/91/1/52>
- Toxické účinky propylenglykolu. *Euro.cz* [online]. 2000 [cit. 2017-02-12]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/toxicke-ucinky-propylenglykolu-130038>
- US Environmental Protection Agency. *Effluent Guidelines for Airport Deicing Dischargers: Fact Sheet* [online]. 2012, , 2 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/airport-deicing-fact-sheet-final-rule-april-2012.pdf>
- US Environmental Protection Agency. *Environmental Impact and Benefit Assessment for the Final Effluent Limitation Guidelines and Standards for the Airport Deicing Category*: [online]. 2012, 187 [cit.2017-02-19]. Dostupné z: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/airport-deicing_environmental-impact-and-benefit-assessment-final-2012.pdf
- VACÍK, Jiří. *Přehled středoškolské chemie*. 3. dopl. vyd., v SPN-pedag. nakl. 1. vyd. Praha: SPN – pedagogické nakladatelství, 1995. ISBN 80-85937-08-5.

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

• Obr. 1: Vodíkové můstky mezi molekulami alkoholu	3
• Obr. 2: Stavba propylenglykolu	4
• Obr. 3: Dehydratace propylenglykolu	5
• Obr. 4: Dehydratace propylenglykolu II	5
• Obr. 5: Dehydratace propylenglykolu III	5
• Obr. 6: Hydrolýza propylenoxidu	6
• Tabulka 1: koncentrace zásobních roztoků pro živné medium	13
• Tabulka 2: Rovnice pro výpočet koncentrace barviv extrahovaných z listu v metanolu	15
• Graf 1: Vliv propylenglykolu na růst kořínku hořčice seté po 4 dnech kultivace	16
• Graf 2: Vliv propylenglykolu na růst biomasy ostřice liščí v průběhu 3 týdnů	16
• Graf 3: Koncentrace chlorofylu a v rostlinách ostřice liščí v průběhu 3 týdnů	17
• Graf 4: Koncentrace chlorofylu B v rostlinách ostřice liščí v průběhu 3 týdnů	17
• Graf 5: Koncentrace karotenoidů v rostlinách ostřice liščí v průběhu 3 týdnů	17
• Graf 6: Celková koncentrace chlorofylu A a B v rostlinách ostřice liščí v průběhu 3 týdnů	17
• Graf 7: Podíl koncentrací chlorofylu A a B v rostlinách ostřice liščí v průběhu 3 týdnů	18

SEZNAM PŘÍLOH

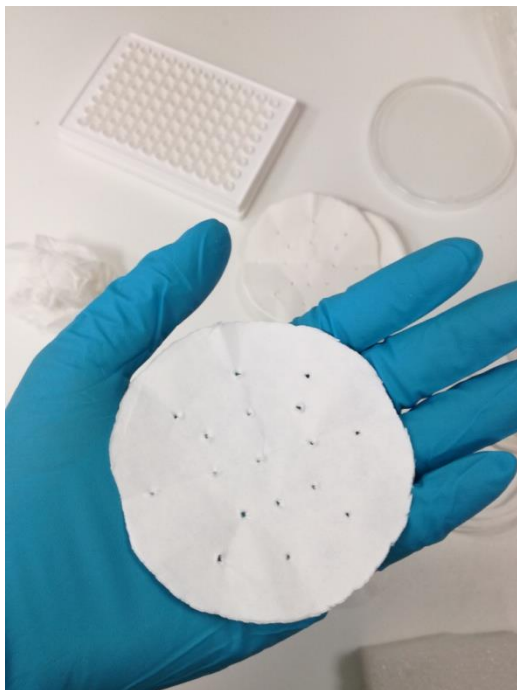
Příloha 1: Fotodokumentace

• Obr. 7: Matrice pro rozložení semen	24
• Obr. 8: Semena hořčice a jejich rozložení na filtračním papíře	24
• Obr. 9: Klíčivost semen (při koncentraci 0mg/l)	24
• Obr. 10: Rostliny ostřice v pevném mediu	25
• Obr. 11: Rostlina ostřice v tekutém mediu	25
• Obr. 12: Rostliny ostřice po 1 týdnu kultivace	25
• Obr. 13: Nastříhaný list ostřice	25
• Obr. 14: Listy ostřice v metanolu při různých koncentracích propylenglykolu (zleva doprava: 0, 100, 1000, 10000 mg/l)	25
• Obr. 15: Destička se vzorky extraktu z listů ostřice	26

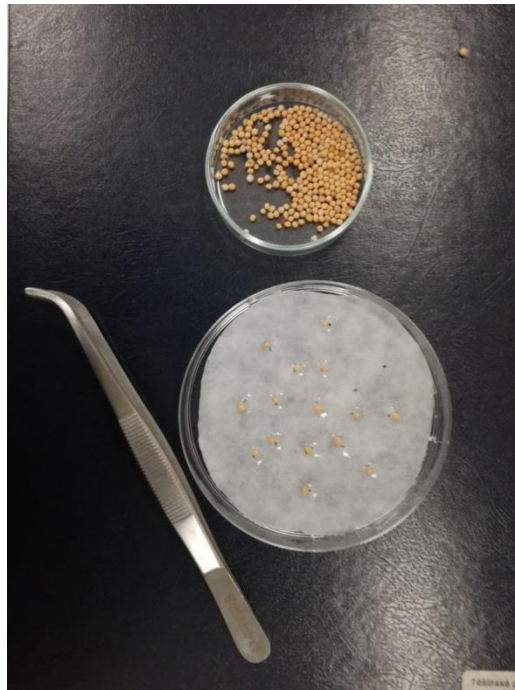
Příloha 2: Tabulky s naměřenými hodnotami

• Tabulka č. 3: Růst primárního kořenu hořčice seté při koncentraci 0 mg/l	27
• Tabulka č. 4: Růst primárního kořenu hořčice seté při koncentraci 1 mg/l	28
• Tabulka č. 5: Růst primárního kořenu hořčice seté při koncentraci 10 mg/l	29
• Tabulka č. 6: Růst primárního kořene hořčice seté při koncentraci 100 mg/l	30
• Tabulka č. 7: Růst primárního kořene hořčice seté při koncentraci 1.000 mg/	31
• Tabulka č. 8: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 0 mg/l	32
• Tabulka č. 9: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 100 mg/l	32
• Tabulka č. 10: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 1.000 mg/l	33
• Tabulka č. 11: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 10.000 mg/l	33
• Tabulka č. 12: Absorbance vzorků při vlnové délce 470 nm	34
• Tabulka č. 13: Absorbance vzorků při vlnové délce 652 nm	35
• Tabulka č. 14: Absorbance vzorků při vlnové délce 665 nm	36
• Tabulka č. 15 + 16 Výpočty koncentrací barviv	37
• Tabulka č. 17 + 18: Výpočty koncentrací barviv	38

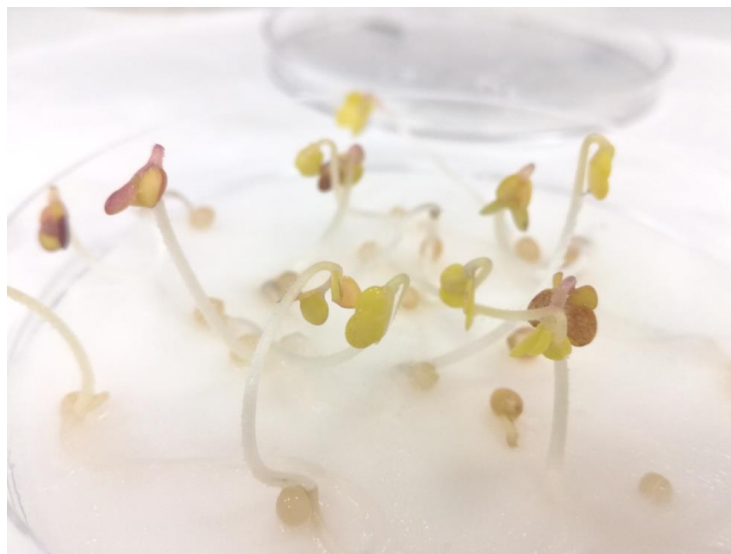
PŘÍLOHA 1: FOTODOKUMENTACE



Obr. 7: matrice pro rozložení semen



Obr. 8: semena hořčice a jejich rozložení na filtračním papíře



Obr. 9: Klíčivost semen (při koncentraci 0 mg/l)



Obr. 10: Rostliny ostřice v pevném mediu



Obr. 11: Rostlina ostřice v tekutém mediu



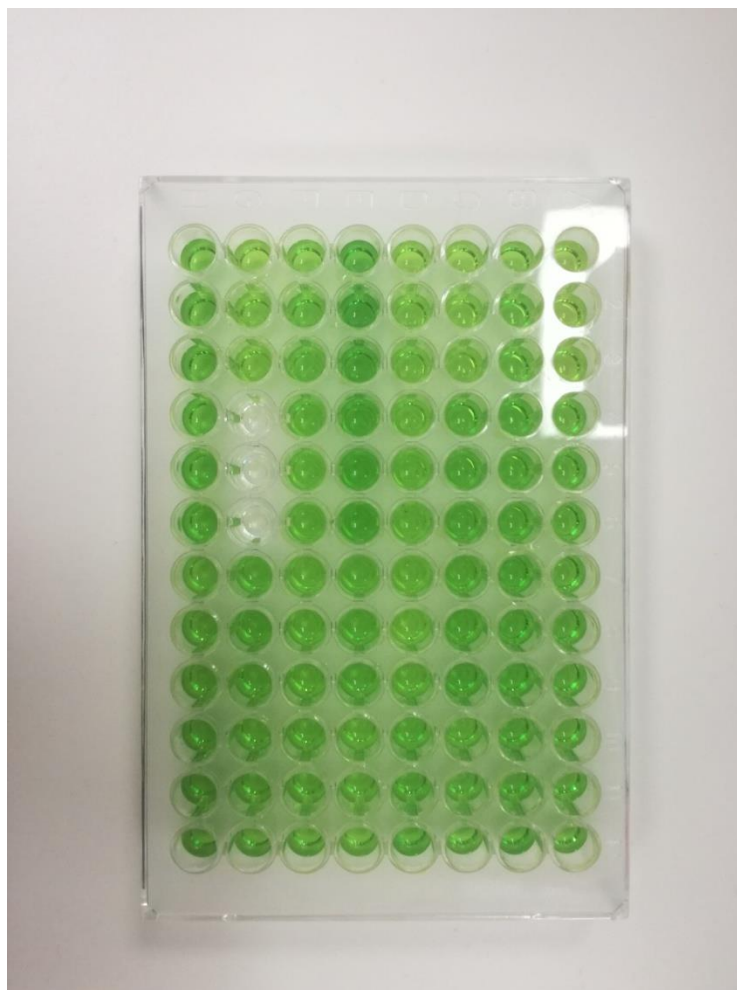
Obr. 12: Rostliny ostřice po 1 týdnu kultivace



Obr. 13: Nastříhaný list ostřice



Obr. 14: Listy ostřice v metanolu při různých koncentracích propylenglykolu (zleva doprava: 0, 100, 1.000, 10.000 mg/l)



Obr. 15: Destička se vzorky extraktu z listů ostřice

PŘÍLOHA 2: TABULKY S NAMĚŘENÝMI HODNOTAMI

Tabulka č.3: Růst primárního kořenu hořčice seté při koncentraci 0 mg/l

Číslo rostliny	Délka kořínku							
	Miska I		Miska II		Miska III		Miska IV	
	a/cm	Δ a/cm	a/cm	Δ a/cm	a/cm	Δ a/cm	a/cm	Δ a/cm
1	2,5	-0,40	4,0	-1,59	2,6	0,36	2,0	1,09
2	1,5	0,60	2,0	0,41	1,3	1,66	4,3	-1,21
3	5,0	-2,90	3,2	-0,79	1,2	1,76	3,8	-0,71
4	3,5	-1,40	2,1	0,31	1,3	1,66	1,1	1,99
5	2,0	0,10	0,8	1,61	2,4	0,56	2,2	0,89
6	2,5	-0,40	0,6	1,81	7,6	-4,64	3,7	-0,61
7	1,6	0,50	3,3	-0,89	4,3	-1,34	1,6	1,49
8	1,8	0,30	2,7	-0,29	2,7	0,26	5,7	-2,61
9	1,9	0,20	2,4	0,01	3,3	-0,34	7,0	-3,91
10	1,0	1,10	3,8	-1,39	2,2	0,76	3,5	-0,41
11	2,7	-0,60	1,6	0,81	4,3	-1,34	1,5	1,59
12	3,4	-1,30	3,5	-1,09	1,7	1,26	1,6	1,49
13	0,0	2,10	3,7	-1,29	3,6	-0,64	2,2	0,89
14	0,0	2,10	0,0	2,41	2,9	0,06	3,0	0,09
15	0,0	2,10	0,0	2,41	0,7	2,26	0,4	2,69
16	0,0	2,10	0,0	2,41	0,8	2,16	0,2	2,89
17	0,0	2,10	0,0	2,41	0,9	2,06	0,0	3,09
Aritmetický průměr	2,10		2,41		2,96		3,09	
Směrodatná odchylka	1,30		1,24		1,62		1,65	
Prům. Sm.Odch	1,45							
Aritmetický průměr	2,64							

Tabulka č.4: Růst primárního kořenu hořčice seté při koncentraci 1 mg/l

Číslo rostliny	Délka kořínku							
	Miska I		Miska II		Miska III		Miska IV	
	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$
1	2,3	0,29	2,3	0,94	2,7	0,50	3,2	0,21
2	2,4	0,19	3,4	-0,16	5,2	-2,00	2,7	0,71
3	4,4	-1,81	2,0	1,24	1,8	1,40	4,8	-1,39
4	2,7	-0,11	2,5	0,74	1,6	1,60	3,7	-0,29
5	5,1	-2,51	7,1	-3,86	7,2	-4,00	4,6	-1,19
6	2,3	0,29	6,0	-2,76	1,7	1,50	5,3	-1,89
7	2,1	0,49	2,4	0,84	1,9	1,30	4,1	-0,69
8	1,7	0,89	5,7	-2,46	1,4	1,80	2,3	1,11
9	1,8	0,79	5,8	-2,56	1,8	1,40	6,0	-2,59
10	1,4	1,19	2,9	0,34	3,2	0,00	1,8	1,61
11	2,9	-0,31	0,7	2,54	6,2	-3,00	0,3	3,11
12	1,3	1,29	2,2	1,04	5,1	-1,90	0,6	2,81
13	2,2	0,39	1,4	1,84	1,3	1,90	4,6	-1,19
14	3,7	-1,11	0,9	2,34	3,7	-0,50	3,8	-0,39
15	0,7	1,89	0,4	2,84	0,2	3,00	0,3	3,11
16	0,2	2,39	0,0	3,24	0,0	3,20	0,2	3,21
17	0,2	2,39	0,0	3,24	0,0	3,20	0,0	3,41
Aritmetický průměr	2,59		3,24		3,20		3,41	
Směrodatná odchylka	1,07		1,99		1,90		1,64	
Prům.Sm.Odch	1,65							
Aritmetický průměr	3,11							

Tabulka č.5: Růst primárního kořenu hořčice seté při koncentraci 10 mg/l

Číslo rostliny	Délka kořínku							
	Miska I		Miska II		Miska III		Miska IV	
	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$
1	4,9	-1,71	5,7	-4,06	1,3	0,36	1,4	0,72
2	3,8	-0,61	2,2	-0,56	1,8	-0,14	0,9	1,22
3	7,0	-3,81	3,3	-1,66	1,4	0,26	3,1	-0,98
4	1,0	2,19	3,7	-2,06	2,5	-0,84	1,0	1,12
5	3,1	0,09	1,1	0,54	5,0	-3,34	6,4	-4,28
6	2,4	0,79	1,0	0,64	0,8	0,86	2,3	-0,18
7	5,2	-2,01	2,2	-0,56	2,1	-0,44	1,8	0,32
8	5,6	-2,41	1,5	0,14	1,2	0,46	1,6	0,52
9	2,8	0,39	1,0	0,64	0,2	1,46	1,3	0,82
10	1,3	1,89	0,4	1,24	0,4	1,26	2,1	0,02
11	1,5	1,69	0,2	1,44	0,7	0,96	1,5	0,62
12	2,6	0,59	0,3	1,34	2,3	-0,64	2,2	-0,08
13	1,3	1,89	0,3	1,34	2,7	-1,04	2,8	-0,68
14	2,2	0,99	0,0	1,64	0,8	0,86	1,3	0,82
15	0,3	2,89	0,0	1,64	0,2	1,46	0,9	1,22
16	0,2	2,99	0,0	1,64	0,3	1,36	0,3	1,82
17	0,8	2,39	0,0	1,64	0,2	1,46	0,0	2,12
aritmetický průměr	3,19		1,64		1,66		2,12	
Směrodatná odchylka	1,78		1,58		1,20		1,34	
Prům.Sm.Odch	1,48							
Aritmetický průměr	2,15							

Tabulka č. 6: Růst primárního kořene hořčice seté při koncentraci 100 mg/l

Číslo rostliny	Délka kořínku							
	Miska I		Miska II		Miska III		Miska IV	
	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$
1	4,0	-0,81	2,4	-0,76	4,7	-3,04	3,7	-1,58
2	3,7	-0,51	1,4	0,24	3,2	-1,54	4,8	-2,68
3	2,6	0,59	1,3	0,34	2,6	-0,94	2,2	-0,08
4	4,2	-1,01	1,7	-0,06	2,3	-0,64	1,8	0,32
5	3,4	-0,21	1,4	0,24	2,0	-0,34	2,6	-0,48
6	3,6	-0,41	0,4	1,24	1,7	-0,04	1,4	0,72
7	1,7	1,49	1,6	0,04	4,2	-2,54	1,6	0,52
8	1,4	1,79	1,4	0,24	2,2	-0,54	2,3	-0,18
9	2,2	0,99	0,9	0,74	3,6	-1,94	1,8	0,32
10	4,3	-1,11	0,7	0,94	0,4	1,26	2,4	-0,28
11	1,8	1,39	0,8	0,84	2,7	-1,04	0,9	1,22
12	2,7	0,49	0,4	1,24	1,4	0,26	1,4	0,72
13	3,4	-0,21	0,4	1,24	5,4	-3,74	1,8	0,32
14	4,3	-1,11	0,2	1,44	3,6	-1,94	1,5	0,62
15	1,4	1,79	0,0	1,64	0,3	1,36	0,2	1,92
16	0,3	2,89	0,0	1,64	0,0	1,66	0,0	2,12
17	0,7	2,49	0,0	1,64	0,0	1,66	0,0	2,12
aritmetický průměr	3,09		1,07		2,86		2,16	
Směrodatná odchylka	1,0		0,6		1,3		1,0	
Prům.Sm.Odch	1,0							
Aritmetický průměr	2,29							

Tabulka č. 7: Růst primárního kořene hořčice seté při koncentraci 1000 mg/l

Číslo rostliny	Délka kořínku							
	Miska I		Miska II		Miska III		Miska IV	
	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$	a/cm	$\Delta a/cm$
1	4,0	-1,01	6,0	-3,01	1,9	-0,24	1,8	0,32
2	3,7	-0,71	3,7	-0,71	0,3	1,36	4,7	-2,58
3	2,6	0,39	2,4	0,59	3,8	-2,14	1,6	0,52
4	4,2	-1,21	5,3	-2,31	1,8	-0,14	2,1	0,02
5	3,4	-0,41	3,2	-0,21	2,4	-0,74	1,8	0,32
6	3,6	-0,61	6,2	-3,21	1,1	0,56	1,7	0,42
7	1,7	1,29	8,6	-5,61	2,8	-1,14	4,0	-1,88
8	1,4	1,59	4,4	-1,41	1,4	0,26	1,4	0,72
9	2,2	0,79	5,0	-2,01	0,4	1,26	2,3	-0,18
10	4,2	-1,21	5,6	-2,61	1,3	0,36	1,8	0,32
11	1,8	1,19	2,6	0,39	4,5	-2,84	4,3	-2,18
12	2,7	0,29	3,7	-0,71	2,4	-0,74	1,3	0,82
13	3,4	-0,41	4,0	-1,01	2,2	-0,54	3,2	-1,08
14	4,3	-1,31	2,3	0,69	0,4	1,26	2,4	-0,28
15	1,4	1,59	0,5	2,49	0,3	1,36	0,4	1,72
16	0,3	2,69	2,1	0,89	0,0	1,66	0,3	1,82
17	0,7	2,29	0,4	2,59	0,0	1,66	1,2	0,92
aritmetický průměr	3,09		4,50		1,91		2,46	
Směrodatná odchylka	0,97		1,69		1,20		1,09	
Prům.Sm.Odch	1,24							
Aritmetický průměr	2,99							

Tabulka č. 8: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 0 mg/l

Číslo rostliny	Hmotnost rostliny v koncentraci 0 mg/l											
	Den 0		po 1 týdnu		Den 0		po 2 týdnech		Den 0		po 3 týdnech	
	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g
1	1,320	-0,580	0,772	0,088	0,560	0,088	0,945	0,461	1,320	-0,580	3,907	-0,279
2	0,450	0,290	0,832	0,028	0,570	0,028	2,006	-0,600	0,450	0,290	3,547	0,081
3	0,450	0,290	0,975	-0,115	0,620	-0,115	1,267	0,139	0,450	0,290	3,430	0,198
Aritmetický průměr	0,740		0,860		0,583		1,406		0,740		3,628	
Sm. Odch.	0,41		0,09		0,03		0,44		0,41		0,20	
Růst o x g	0,000		0,120		0,000		0,823		0,000		2,888	

Tabulka č. 9: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 100 mg/l

Číslo rostliny	Hmotnost rostliny v koncentraci 100 mg/l											
	Den 0		po 1 týdnu		Den 0		po 2 týdnech		Den 0		po 3 týdnech	
	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g
1	0,530	0,523	0,618	0,565	0,260	0,143	1,335	0,188	0,320	0,480	2,078	2,169
2	1,450	-1,450	1,416	-0,233	0,500	-0,097	1,270	0,253	1,420	-0,620	2,168	1,069
3	1,180	-0,794	1,515	-0,332	0,450	-0,047	1,965	-0,442	0,660	0,140	3,22	1,829
Aritmetický průměr	1,053		1,183		0,403		1,523		0,800		2,489	
Sm. Odch.	0,39		0,40		0,10		0,31		0,46		0,46	
Růst o x g	0,000		0,130		0,000		1,120		0,000		1,689	

Tabulka č. 10: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 1000 mg/l

Číslo rostliny	Hmotnost rostliny v koncentraci 1000 mg/l											
	Den 0		po 1 týdnu		Den 0		po 2 týdnech		Den 0		po 3 týdnech	
	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g
1	0,570	0,177	0,642	0,378	0,510	-0,007	1,335	0,188	0,300	0,150	2,376	-0,515
2	0,900	-0,153	1,421	-0,401	0,500	0,003	1,270	0,253	0,300	0,150	0,274	1,587
3	0,770	-0,023	0,996	0,024	0,500	0,003	1,965	-0,442	0,750	-0,300	2,932	-1,071
Aritmetický průměr	0,747		1,020		0,503		1,523		0,450		1,861	
Sm. Odch.	0,14		0,32		0,00		0,31		0,21		1,14	
Růst o x g	0,000		0,273		0,000		1,020		0,000		1,411	

Tabulka č. 11: Hmotnost biomasy ostřice liščí při koncentraci 10000 mg/l

Číslo rostliny	Hmotnost rostliny v koncentraci 10000 mg/l											
	Den 0		po 1 týdnu		Den 0		po 2 týdnech		Den 0		po 3 týdnech	
	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g	m/g	Δm/g
1	1,350	-0,610	1,322	-0,610	0,630	0,370	1,525	0,168	1,320	-0,580	3,830	-0,799
2	0,640	0,100	0,665	0,100	1,140	-0,140	1,605	0,088	0,450	0,000	2,465	0,566
3	0,750	-0,010	1,111	-0,010	1,230	-0,230	1,950	-0,257	0,450	0,000	2,798	0,233
Aritmetický průměr	0,913		1,033		1,000		1,693		0,740		3,031	
Sm. Odch.	0,31		0,27		0,26		0,18		0,41		0,58	
Růst o x g	0,000		0,119		0,000		0,693		0,000		2,291	

Tabulka č. 12: absorbance při vlnové délce 470 nm

Label: Label1
 Mode Chlorofyl A
 Wavelength Absorbance
 Bandwidth 470 nm
 Number of Flashes 9 nm
 Settle Time 25
 Start Time: 9:31:04 0 ms

Temperature: 24.6 °C

	A	A	A	B	B	B	C	C	C
0 - 25.1	1,1459	1,0369	1,162	1,3288	1,5231	1,4908	1,4075	1,5993	1,5456
0 - 1.2	1,4398	1,4959	1,5514	1,1714	1,4317	1,4769	1,733	1,7537	1,7529
0 - 10.2.	1,7736	1,772	1,8094	1,5722	1,6161	1,7936	1,0864	1,1657	1,2217
3,3-25.1	1,5768	1,709	1,7705	1,2812	1,4138	1,3952	1,4646	1,6345	1,6962
3,3 - 1.2.	1,1363	1,2938	1,3274	1,3163	1,4757	1,4367	1,4059	1,2144	1,432
3,3 - 10.2.	1,4855	1,6722	1,6546	1,9883	2,3433	2,0203	2,0335	2,2015	2,063
33-25.1.	1,5084	1,5722	1,5745	1,2435	1,3482	1,3362	1,3137	1,4439	1,4593
33-1.2.	1,5465	1,4758	1,5178	1,323	1,4238	1,4691	1,5444	1,57	1,5545
33-10.2.	1,1581	1,2509	1,2455	0,0854	0,0843	0,0845	1,5147	1,7582	1,6275
330-25.1.	1,4259	1,5887	1,5608	1,2757	1,4901	1,5553	1,7488	2,0723	2,0459
330-1.2.	1,5347	1,67	1,7	1,637	1,8277	1,7593	1,3971	1,5928	1,5187
330-10.2.	1,6629	1,7875	1,8312	1,6167	1,7458	1,7741	1,6357	1,8626	1,7353

Tabulka č. 13: Absorbance vzorků při vlnové délce 652 nm

Label: Label2
 Mode
 Wavelength 652 nm
 Bandwidth 9 nm
 Number of Flashes 25
 Settle Time 0 ms
 Start Time: 9:32:26

Chlorofyl B

Absorbance

	A	A	A	B	B	B	C	C	C
0 - 25.1	0,482	0,4509	0,4916	0,6565	0,7239	0,6954	0,6732	0,737	0,733
0 - 1.2	0,6648	0,704	0,728	0,5646	0,6701	0,6891	0,7984	0,807	0,8016
0 - 10.2.	0,817	0,8098	0,8143	0,735	0,7555	0,8406	0,5318	0,5369	0,5634
3,3-25.1	0,7272	0,7921	0,8168	0,6066	0,6585	0,6635	0,6701	0,7431	0,7778
3,3 - 1.2.	0,5342	0,5885	0,6059	0,5921	0,664	0,6485	0,6129	0,5382	0,624
3,3 - 10.2.	0,9033	1,0613	0,9253	0,9303	1,0146	0,9513	0,7028	0,7781	0,7746
33-25.1.	0,7006	0,7243	0,7285	0,5772	0,6251	0,6276	0,6146	0,6682	0,6695
33-1.2.	0,7044	0,6761	0,6914	0,5985	0,6498	0,6773	0,6748	0,6865	0,6786
33-10.2.	0,5099	0,5474	0,5473	0,0642	0,0629	0,0629	0,6964	0,8077	0,7618
330-25.1.	0,6428	0,7142	0,7067	0,7697	0,9072	0,8976	0,6229	0,725	0,7388
330-1.2.	0,6814	0,741	0,7553	0,7625	0,8365	0,8113	0,6331	0,7197	0,6889
330-10.2.	0,7805	0,8172	0,8398	0,7359	0,7895	0,795	0,7573	0,8602	0,8102

Tabulka č.14: Absorbance vzorků při vlnové délce 665 nm

Label: Label3
 Mode
 Wavelength 665 nm
 Bandwidth 9 nm
 Number of Flashes 25
 Settle Time 0 ms
 Start Time: 9:33:47

Karotenoidy

Absorbance

Temperature: 24.8 °C

	A	A	A	B	B	B	C	C	C
0 - 25.1	0,8542	0,8257	0,8774	1,2961	1,4397	1,3737	1,333	1,4344	1,45
0 - 1.2	1,3318	1,4122	1,4614	1,1273	1,3264	1,3769	1,5776	1,5971	1,574
0 - 10.2.	1,599	1,5862	1,6059	1,4196	1,4713	1,6372	1,0296	1,022	1,0734
3,3-25.1	1,3163	1,4514	1,5183	1,4146	1,5418	1,5901	1,1825	1,2855	1,2928
3,3 - 1.2.	1,0011	1,0963	1,1281	1,1327	1,2694	1,2353	1,1634	1,017	1,1836
3,3 - 10.2.	1,3547	1,4973	1,4955	1,7542	1,9978	1,7547	1,8135	1,9635	1,8466
33-25.1.	1,346	1,385	1,3932	1,1005	1,2028	1,2053	1,1925	1,3014	1,2994
33-1.2.	1,3449	1,2924	1,3166	1,1399	1,2467	1,3007	1,2834	1,3059	1,2934
33-10.2.	0,9377	1,0126	1,0117	0,0702	0,0686	0,0683	1,3383	1,5501	1,463
330-25.1.	1,2103	1,352	1,3495	1,206	1,4246	1,4511	1,4555	1,7274	1,7091
330-1.2.	1,463	1,6033	1,5541	1,1914	1,3616	1,2934	1,2767	1,3942	1,4198
330-10.2.	1,3942	1,4894	1,5029	1,5122	1,5658	1,6073	1,4432	1,6407	1,5632

Tabulky č. 15 + 16: Výpočty koncentrací barviv

	Vlnová délka			Chl a		Chl b		car		a/b		a+b	
	665nm	652nm	470nm										
0A25.1.	0,852433	0,474833	1,114933	9,903212	14,476596	3,161887	2,897371	3,470224	4,6709682	3,1320575	5,0899605	13,0651	17,373967
0B25.1.	1,369833	0,691933	1,447567	16,5655	<i>3,965602</i>	2,656954	<i>0,2533277</i>	5,166023	<i>1,0451949</i>	6,2347726	<i>1,7036865</i>	19,22246	<i>3,7441099</i>
0C25.1.	1,4058	0,7144	1,517467	16,96107		2,873272		5,376658		5,9030513		19,83434	
0A1.2.	1,4018	0,698933	1,4957	17,03587	17,209263	2,407133	2,6407409	5,498999	5,5604277	7,0772426	6,5673576	19,443	19,850004
0B1.2.	1,276867	0,641267	1,36	15,47521	<i>1,8269353</i>	2,350258	<i>0,4547656</i>	4,923495	<i>0,6697633</i>	6,584472	<i>0,5186541</i>	17,82547	<i>2,2557485</i>
0C1.2.	1,5829	0,802333	1,746533	19,11671		3,164831		6,258789		6,0403581		22,28155	
0A10.2.	1,597033	0,8137	1,785	19,24891	16,600404	3,336364	3,130579	6,350405	5,3342896	5,7694266	5,2622361	22,58527	19,730983
0B10.2.	1,509367	0,777033	1,660633	18,11899	<i>3,6527542</i>	3,425944	<i>0,4363131</i>	5,75345	<i>1,2783196</i>	5,2887575	<i>0,5209579</i>	21,54493	<i>4,0761341</i>
0C10.2	1,041667	0,544033	1,157933	12,43332		2,62943		3,899014		4,728524		15,06275	

3,3A25.1.	1,428667	0,7787	1,685433	16,75441	16,825085	4,715856	3,0721321	5,26311	5,4263032	3,5527831	-3,209576	21,47027	19,897217
3,3B25.1.	1,5155	0,642867	1,3634	19,4505	<i>2,5908043</i>	-1,241515	<i>3,7708006</i>	6,615408	<i>1,1164892</i>	-15,66674	<i>10,80142</i>	18,20899	<i>1,6336904</i>
3,3C25.1.	1,2536	0,730333	1,598433	14,27034		5,742055		4,400392		2,4852318		20,01239	
3,3A1.2.	1,075167	0,5762	1,2525	12,69879	13,49486	3,214111	3,122435	4,047275	4,470062	3,9509505	4,3263557	15,91291	16,617295
3,3B1.2.	1,212467	0,634867	1,409567	14,45706	<i>0,8908307</i>	3,116114	<i>0,0886849</i>	4,791558	<i>0,3823402</i>	4,6394529	<i>0,3484546</i>	17,57318	<i>0,8582323</i>
3,3C1.2.	1,121333	0,5917	1,350767	13,32872		3,03708		4,571353		4,3886637		16,3658	
3,3A10.2.	1,449167	0,9633	1,6041	15,40624	20,569751	10,69563	4,1819289	2,065043	6,6415407	1,4404236	-0,727986	26,10187	24,75168
3,3B10.2.	1,835567	0,9654	2,1173	21,84761	<i>4,6579547</i>	4,863027	<i>6,8795838</i>	7,109797	<i>4,361264</i>	4,4925947	<i>6,5785123</i>	26,71064	<i>2,8819248</i>
3,3C10.2.	1,874533	0,751833	2,099333	24,4554		-3,012871		10,74978		-8,116977		21,44253	

Tabulky č. 17 + 18: Výpočty koncentrací barviv

33A25.1.	1,374733	0,7178	1,5517	16,41049	15,186033	3,463877	3,0837551	5,255124	4,8587644	4,737609	4,9385839	19,87437	18,269788
33B25.1.	1,169533	0,609967	1,3093	13,9673	<i>1,2216054</i>	2,923294	<i>0,330523</i>	4,433051	<i>0,4118217</i>	4,7779324	<i>0,313826</i>	16,8906	<i>1,5046017</i>
33C25.1.	1,264433	0,650767	1,405633	15,1803		2,864094		4,888118		5,3002104		18,0444	
33A1.2.	1,317967	0,690633	1,513367	15,7102	15,264114	3,40516	3,3033082	5,114722	5,068144	4,613646	4,6241525	19,11536	18,567422
33B1.2.	1,2291	0,641867	1,4053	14,67105	<i>0,5349373</i>	3,100587	<i>0,1755627</i>	4,778048	<i>0,2698392</i>	4,7317024	<i>0,1027005</i>	17,77164	<i>0,7053128</i>
33C1.2.	1,294233	0,679967	1,5563	15,41109		3,404178		5,311662		4,5271091		18,81527	
33A10.2.	0,987333	0,534867	1,218167	11,60883	15,449824	3,147151	-2,515707	3,931761	5,5097478	3,6886802	2,4348312	14,75599	12,934117
33B10.2.	1,075808	0,063333	0,084733	17,40738	<i>3,3266006</i>	-14,27932	<i>10,189939</i>	7,036726	<i>1,5531108</i>	-1,219063	<i>3,215843</i>	3,128064	<i>9,0339658</i>
33C10.2.	1,450467	0,7553	1,633467	17,33325		3,585046		5,560756		4,8348761		20,9183	

330A25.1.	1,303933	0,6879	1,525133	15,5006	17,093942	3,52641	3,5957112	5,111925	5,5887779	4,3955759	-3,729563	19,02701	20,689653
330B25.1.	1,360567	0,858167	1,440367	14,88787	<i>3,3046213</i>	8,465443	<i>4,8354535</i>	2,387179	<i>3,4647246</i>	1,7586638	<i>11,863015</i>	23,35331	<i>2,3303954</i>
330C25.1.	1,630667	0,695567	1,955667	20,89336		-1,204719		9,26723		-17,34293		19,68864	
330A1.2.	1,540133	0,7259	1,6349	19,10179	16,581483	1,212694	3,7919859	6,680904	5,4358914	15,751534	8,186783	20,31448	20,373469
330B1.2.	1,282133	0,803433	1,741333	14,07782	<i>2,512024</i>	7,798045	<i>3,5168823</i>	4,071962	<i>1,3085297</i>	1,8053012	<i>7,04801</i>	21,87587	<i>1,4737867</i>
330C1.2.	1,363567	0,680567	1,502867	16,56484		2,365219		5,554808		7,0035138		18,93006	
330A10.2.	1,462167	0,8125	1,760533	17,00493	18,173324	5,356218	3,9258124	5,296953	5,8706475	3,1748009	5,1646068	22,36115	22,099136
330B10.2.	1,561767	0,773467	1,7122	19,02778	<i>1,0473323</i>	2,503684	<i>1,4262852</i>	6,418091	<i>0,5610296</i>	7,5999144	<i>2,2459433</i>	21,53147	<i>0,4920991</i>
330C10.2.	1,549033	0,809233	1,744533	18,48726		3,917535		5,896899		4,7191053		22,4048	