

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2017

Jan Papírek



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

TOXICITA VYBRANÝCH NITRAMINŮ

TOXICITY OF SELECTED NITRAMINES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jan Papírek

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Karel Bednařík, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1154/2016
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Jan Papírek**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Karel Bednařík, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název bakalářské práce:

Toxicita vybraných nitraminů

Zadání bakalářské práce:

Stanovení toxicity výbušnin založených na N-nitro sloučeninách

Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

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

Jan Papírek
student(ka)

Ing. Karel Bednařík, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na určení toxicity vybraných nitraminů a nitrosoaminů, které musely být nejdříve syntetizovány. Z celkem 10 připravených *N*-nitro a *N*-nitrosolátek byly vybrány 4, které byly testovány testem toxicity na okřehekku menším (*Lemna Minor*).

Tímto testem byl určen faktor IC_{50} u dvou látek 3,7-dinitro-1,3,5,7-tetraazabicyklo [3.3.1]-nonan (DPT) a 3,7-dinitroso-1,3,5,7-tetraazabyciklo [3.3.1] nonan (DNPT), u ostatních látek se bohužel faktor nepodařil objektivně určit, protože nebyly splněny podmínky pro platnost testu.

V závěru práce je na základě výsledků a pozorování porovnávána toxicita *N*-nitro a *N*-nitrososloučenin.

ABSTRACT

This Bachelor Thesis is focused on determination of toxicity of selected nitramines and nitrosoamines, which had to be synthesized soon. Out of total 10 prepared *N*-nitro and *N*-nitrosocompounds 4 were selected for testing their toxicity in test using Duckweed (*Lemna Minor*).

Factor IC_{50} was determined for two compounds 3,7-dinitro-1,3,5,7-tetraazabicyclo [3.3.1]-nonane (DPT) and 3,7-dinitroso-1,3,5,7-tetraazabyciclo [3.3.1] nonane (DNPT), unfortunately factor for other compounds failed to determine, because conditions of test validity hadn't been kept.

In the end of the thesis is compared toxicity of *N*-nitro and *N*-nitrosocompounds based on results and observations.

KLÍČOVÁ SLOVA

toxicita, nitraminy, test toxicity, RDX, HMX, HNIW, okřehek

KEYWORDS

toxicity, nitramines, test of toxicity, RDX, HMX, HNIW, duckweed

PAPÍREK, J. *Toxicita vybraných nitraminů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 49 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Karel Bednařík, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Poděkování:

Rád bych poděkoval Ing. Karlu Bednaříkovi, Ph. D za odborné vedení a rady při zpracování bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat MVDr. Heleně Zlámalové Gargošové, Ph. D za poskytnutí laboratoře a rady při provádění testu toxicity. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat i své rodině za podporu ve studiu.

OBSAH

1	ÚVOD.....	6
2	CÍLE PRÁCE.....	8
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
3.1	Významné nitraminy	9
3.1.1	RDX	9
3.1.1.1	Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti	9
3.1.2	HMX.....	12
3.1.2.1	Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti	12
3.1.2.2	Syntéza	13
3.1.3	HNIW	13
3.1.3.1	Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti	14
3.1.3.2	Syntéza	14
3.1.4	TEX.....	15
3.1.4.1	Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti	15
3.1.4.2	Syntéza	16
3.1.5	Tetryl	17
3.1.5.1	Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti	17
3.1.5.2	Syntéza	18
3.2	Ekotoxikologie	18
3.3	Ekotoxikologické biotesty	18
3.3.1	Rozdělení ekotoxikologických biotestů	19
3.3.2	Princip provedení biotestu.....	20
3.3.2.1	Předběžný test	20
3.3.2.2	Ověřovací test	20
3.3.2.3	Orientační test	20
3.3.2.4	Základní test.....	21
3.3.3	Standardní testy toxicity	21
3.3.3.1	Test akutní toxicity na hrotnatce velké (Daphnia Magna Straus).....	21
3.3.3.2	Test akutní toxicity na akvarijních rybách	22
3.3.3.3	Test toxicity na sladkovodních řasách	22
3.3.3.4	Test toxicity se semeny hořčice bílé (Sinapis alba)	23
3.3.4	Alternativní biotesty	23

3.3.4.1	Thamnotoxkit F.....	24
3.3.4.2	Daphtoxkit F magna.....	24
3.3.4.3	Rotokit F	25
3.3.4.4	Algaltoxkit F	25
3.3.4.5	Rapidtoxkit.....	25
3.3.5	Fytotesty	26
3.3.5.1	Test toxicity na okřehku menším (Lemna Minor)	26
3.3.5.1.1	Charakteristika testu	26
3.3.5.1.2	Charakteristika organismu	27
3.3.5.1.3	Provedení testu	27
3.3.5.1.4	Vyhodnocení testu	28
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	29
4.1	Syntéza nitraminů.....	29
4.1.1	Syntéza RDX.....	29
4.1.2	Syntéza DADN.....	29
4.1.3	Syntéza HMX.....	30
4.1.3.1	Syntéza z DADN.....	30
4.1.3.2	Syntéza z paraformaldehydu	30
4.1.4	Syntéza DPT.....	31
4.1.5	Syntéza N-nitromočoviny	32
4.1.5.1	Nitrát močoviny	32
4.1.5.2	N-nitromočovina	32
4.1.6	Syntéza nitroguanidinu.....	32
4.1.7	Syntéza 2-nitrimino-hexahydro-1,3,5-triazinu	33
4.2	Syntéza nitrosoaminů	33
4.2.1	Syntéza 1,3,5-trinitroso -1,3,5-triazinu	33
4.2.2	Syntéza DNPT.....	34
4.2.3	Syntéza N-nitrosoguanidinu	34
4.3	Test inhibice růstu okřehku menšího	35
4.3.1	Příprava koncentračních řad testovaných látek.....	35
4.3.2	Průběh testu	37
5	VÝSLEDKY	38
5.1	Výsledky orientačního testu	38

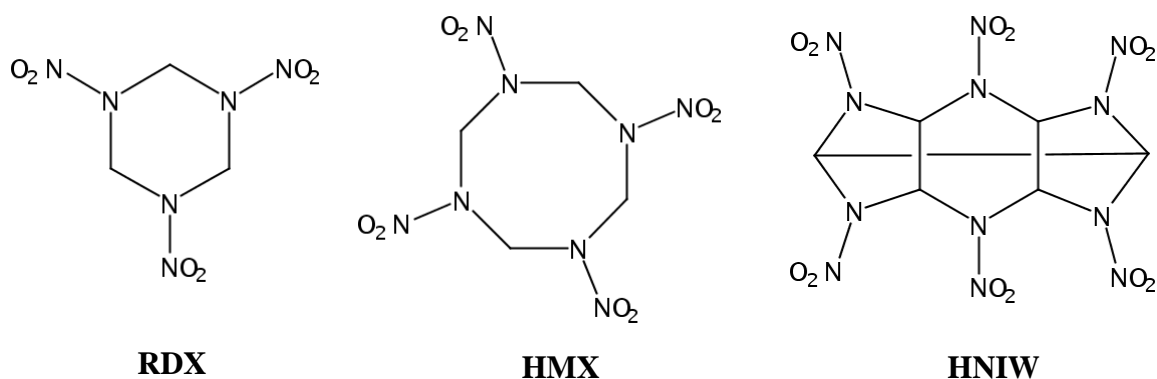
5.2	Výsledky základního testu RDX a TNX	40
6	DISKUZE VÝSLEDKŮ	41
7	ZÁVĚR	42
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	43
9	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	48

1 ÚVOD

Nitraminy jsou sloučeniny, jež mají nitro skupinu navázanou na dusík. Nitraminy lze považovat za deriváty nitraminu NH_2NO_2 , je-li substituován alkylem či arylem jeden vodík, jedná se o primární nitramin, o sekundární nitramin se jedná tehdy, jsou-li vodíky substituovány oba.

Dále lze rozdělit nitraminy také podle struktury na alifatické, heterocyklické a isowurtzitanové (struktura tetracyklické klece), nitraminovou skupinu mohou obsahovat i další moderní výbušniny s vysokým obsahem dusíku (např. některé nitráty). Do nitraminů se řadí i tzv. nitramidy, které mají místo alkylu na dusíku navázaný kyselý zbytek (acylová nebo sulfonylová skupina). [1]

Obrázek 1.1: Tři nejvyužívanější nitraminy



V roce 1899 poprvé Henning syntetizoval dodnes nejpožívanější nitramin tzv. hexogen (RDX), ale až v roce 1922 von Herz objevil její výbušinářský potenciál.

V průběhu druhé světové války se začaly látky hexogen a oktogen (HMX) vyrábět v průmyslovém měřítku a začaly se používat pro armádní účely díky svým výbušinářským vlastnostem. Byly upřednostněny před tehdy dříve používanými nitrolátkami (např. TNT) zejména díky lepší chemické stabilitě a horší citlivosti k nárazu a tření. [1,2]

Nitraminy mají oproti klasickým nitrolátkám lepší kyslíkovou bilanci a skupina N-NO_2 při své výbušné přeměně tvoří několikrát větší množství plynných zplodin než skupina C-NO_2 . [1]

S používáním, výrobou či skladováním těchto organických látek jsou spojena rizika znečištění životního prostředí. Největšími kontaminanty mezi výbušninami jsou nepochybně společně s TNT i RDX a HMX, které nejvíce znečišťují půdu a akvatické prostředí. Pro remediaci a řízení rizik v kontaminovaných lokalitách je nutno znát osud těchto látek a produkty jejich transformace v životním prostředí. Degradace výbušnin probíhá v ekosystému zpravidla velmi pomalu. Výbušniny mohou degradovat různými způsoby např. tepelně, fotolyticky, hydrolyticky, mikrobiálně nebo redukcí, při jejich rozkladu přitom vzniká mnoho produktů. [3,4]

Nejvíce vyskytující se produkty u degradace nitraminů jsou *N*-nitroso látky (nitrosoaminy), které jsou známé pro svoje karcinogenní, mutagenní či teratogenní účinky.

Látky z řad nitraminů a nitrosoaminů nekontaminují životní prostředí jen jejich používáním k výbušinářským účelům, ale mohou unikat do ovzduší, když se tvoří jako zplodina při zachytávání oxidu uhličitého v elektrárnách na fosilní paliva. V elektrárnách na fosilní paliva se k zachycení oxidu uhličitého používají aminy, které mohou reagovat s oxidy dusíku a některými z produktů jsou i nitraminy a nitrosoaminy. [5]

Stejně jako ostatní výbušniny, tak i nitraminy jsou nebezpečné pro životní prostředí. V místě jejich použití, výroby či skladování mohou uniknout do prostředí. Po takovém úniku znečišťují akvatické nebo půdní systémy a představují riziko pro živočichy a rostliny.

V oblasti toxikologie jsou ze skupiny N-nitro látek poměrně dostatečně prozkoumány pouze ty nejvíce známé a používané. RDX, HMX a dnes již méně používaný tetryl byly zcela probádány za dobu jejich velkovýroby pro vojenské účely, na druhou stranu o toxicitě modernějších nitraminů, jako jsou např. TENGU, TEX nebo HNIW, se ví jen velmi málo.

2 CÍLE PRÁCE

Práce je zaměřena na určení toxicity *N*-nitrosloučenin, které lze syntetizovat dle dostupných návodů dohledatelných v databázovém systému Chemical Abstracts (SciFinder) nebo v jiné dostupné literatuře. Jde o *N*-nitrosloučeniny, které lze syntetizovat z levných a dostupných prekurzorů.

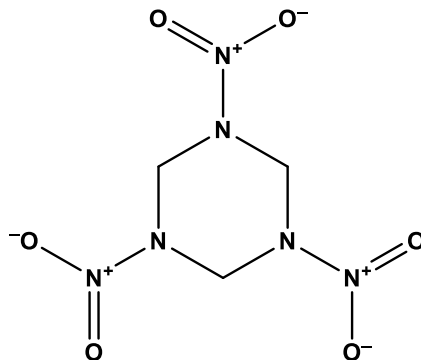
Kromě *N*-nitrosloučenin jsou v práci zahrnuty i *N*-nitrososloučeniny, jakožto meziprodukty rozkladu *N*-nitrosloučenin. Toxicitu *N*-nitro a *N*-nitrosolátek lze pak vzájemně porovnat.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Významné nitraminy

3.1.1 RDX

Obrázek 3.1: Strukturní vzorec RDX



RDX (Research department explosive nebo Royal demolition explosive) neboli hexogen, s přesným chemickým názvem 1,3,5-trinitro-1,3,5-triazacyklohexan je již od první poloviny 20. století známý cyklický nitramin používaný k výrobě plastických trhavin (např. C-4, Semtex nebo HBX). Ve směsi s TNT tvoří výbušnou slož. Cyclotol.

V roce 1925 Hale uvedl popis na přípravu RDX přímou nitrací hexaminu a také provedl výzkum výbušinářských vlastností této látky. [1]

3.1.1.1 Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti

RDX má vzhled jemného krystalického prášku, který se ve vodě téměř nerozpouští. Více rozpustný je v organických rozpouštědlech, nejvíce v acetonu.

Díky své chemické stabilitě a menší citlivosti vůči mechanickým impulsům se RDX začalo upřednostňovat před nitrolátkami, jako jsou TNT nebo pikrová kyselina.

V porovnání s nejčastější výbušninou TNT nebo s pikrovou kyselinou má exploze RDX větší sílu. [1,6]

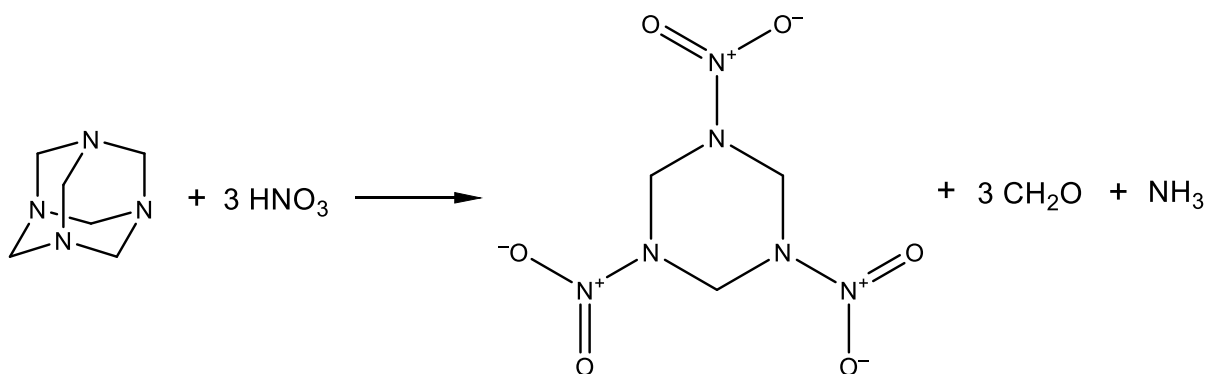
Tabulka 3.1: Vlastnosti RDX [7,8]

IUPAC název:	1,3,5-Trinitroperhydro-1,3,5-triazin
CAS číslo:	121-82-4
Ostatní názvy:	1,3,5-trinitro-1,3,5-triazinan, hexogen, cyklonit, cyklotrimethylentritramin
Sumární vzorec:	C ₃ H ₆ O ₆ N ₆
Molekulová hmotnost:	222,12 g/mol
Rozpustnost ve vodě:	6,6 mg/l při 20 °C
Hustota:	1,82 g/cm ³
Bod tání:	204-206 °C
Teplota výbuchu:	3380 °C
Detonační tlak:	350 kbar
Detonační rychlost:	8639 m/s
Kyslíková bilance:	-21,6 %
Teoretická brisance:	139·10 ⁶ max./min
Poměrná síla k TNT:	180 %

3.1.2 Syntéza

Z celé řady výrobních postupů pro syntézu hexogenu je nejpoužívanější nitrolýza hexaminu bezvodou kyselinou dusičnou. Hexamin se za teploty 15-25 °C přidává do kyseliny dusičné, následně je směs vylita do studené vody a vysráží se hexogen.

Obrázek 3.2: Schéma nitrolýzy hexaminu kyselinou dusičnou



Proces K:

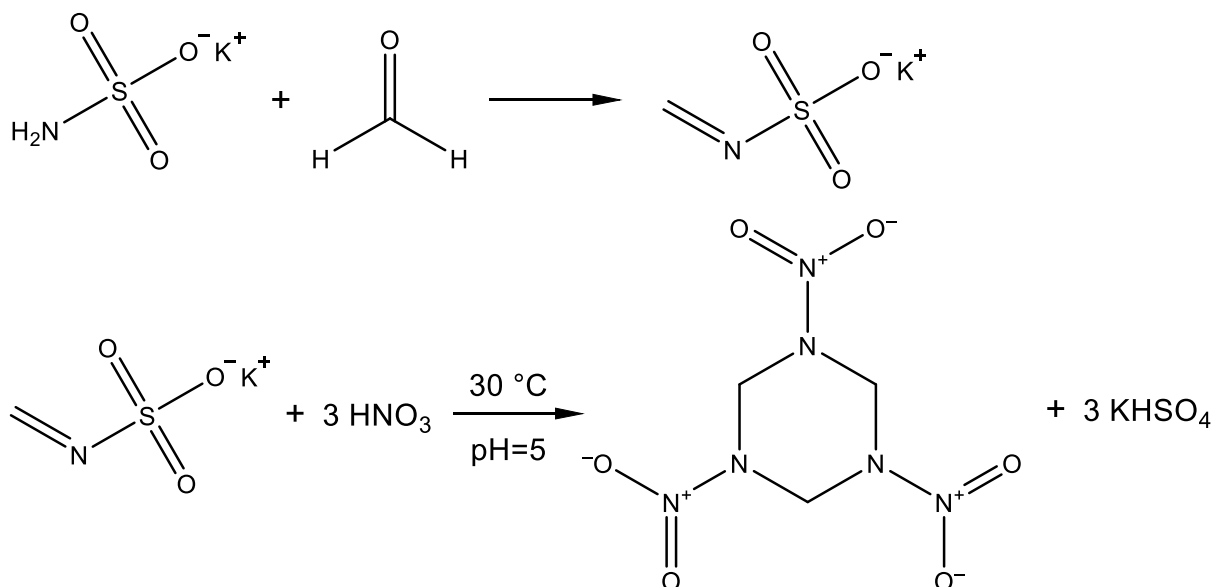
Jedná se o podobnou metodu uvedenou výše, jediný rozdíl je, že se do reakční směsi přidává amoniak v podobě dusičnanu amonného. Amoniak reaguje s formaldehydem, který z reakce odpadá a převádí ho na triazinanový cyklus, tento fakt vede k vyšší výtěžnosti než u nitrolýzy pouze s kyselinou dusičnou. Reakce probíhá za teploty 80 °C.

Proces W:

Tato metoda využívá draselné soli amidosulfonové kyseliny, která kondensuje s formaldehydem za vzniku methylenaminosulfonanu draselného, který má charakter tzv.

Schiffovy báze. Tento meziprodukt se poté nitruje bezvodou kyselinou dusičnou, tvoří se hexogen a odpadá hydrogensíran draselný.

Obrázek 3.3: Schéma výroby hexogenu procesem W



Proces E:

Metoda byla vypracována Eblem v letech 1935-1938, principem reakce je dehydratace paraformaldehydu a dusičnanu amonného pomocí acetanhydridu. Výhodou této metody je, že k výrobě RDX se nemusí použít hexamin a kyselina dusičná.

Bachmannův proces:

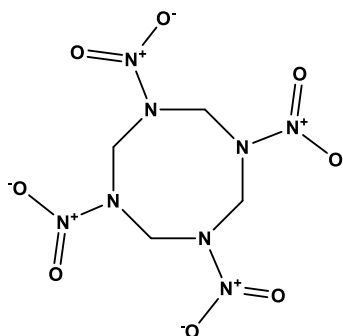
Tento proces se používal za druhé světové války, zejména v USA. Bachmann jeho metodu vytvořil v roce 1941, chtěl v ní spojit proces E vypracovaný Eblem a běžnou nitrací hexaminu. Metoda spočívá v dávkování dusičnanu amonného a dinitrátu hexaminu do směsi kyseliny dusičné a acetanhydridu, reakce probíhá za teplot okolo 75 °C a následně se reakční směs chladí. Podle teploty filtrované směsi se mění obsah vedlejšího produktu – oktogenu. Při zchlazení na 60 °C je obsah oktogenu malý a bod tání produktu je tak 202-204 °C, když je reakční směs zchlazena na 25 °C, je obsah oktogenu velký a bod tání se pohybuje v rozmezí 190-201 °C.

Stejnou metodu jako Bachmann vypracoval v roce 1943 v Německu i Knöffler (proces KA).

Jedním z modernějších způsobů je použití perfluoroktansulfonanové kyseliny místo acetanhydridu, díky ní je nitrolýza efektivně katalyzována. Nitrolýza pak probíhá za pokojové teploty a výtěžnost RDX je větší. [1,6,9]

3.1.2 HMX

Obrázek 3.4: Strukturální vzorec HMX



HMX (z angl. High Melting Point Explosive) neboli oktogen, přesným chemickým názvem 1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetraazoktan. HMX se používá v jaderných zařízeních, plastických výbušninách a raketových palivech.

Poprvé bylo HMX připraveno v roce 1943 Bachmannem. V roce 1952 se začala používat výbušná směs tzv. Octol, která obsahovala 75 % HMX a 25 % TNT. [6]

3.1.2.1 Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti

Je to bílá krystalická látka, která je nehygroskopická a ve vodě téměř nerozpustná. Ve vzduchu se připojuje k suspendovaným částicím nebo k prachu. Existují čtyři různé krystalické formy: alfa, beta, gamma a delta. Z těchto forem se v průmyslu používá jen beta forma, která je stabilní za pokojové teploty. HMX je chemicky stabilnější než RDX, jeho teplota vzbuchu je vyšší, ke vzbuchu dochází po pěti vteřinách při teplotě 335 °C (RDX 260 °C). HMX je lépe rozpustné v 55% kyselině dusičné než RDX. [1,6]

Tabulka 3.2: Vlastnosti HMX [6,7,8]

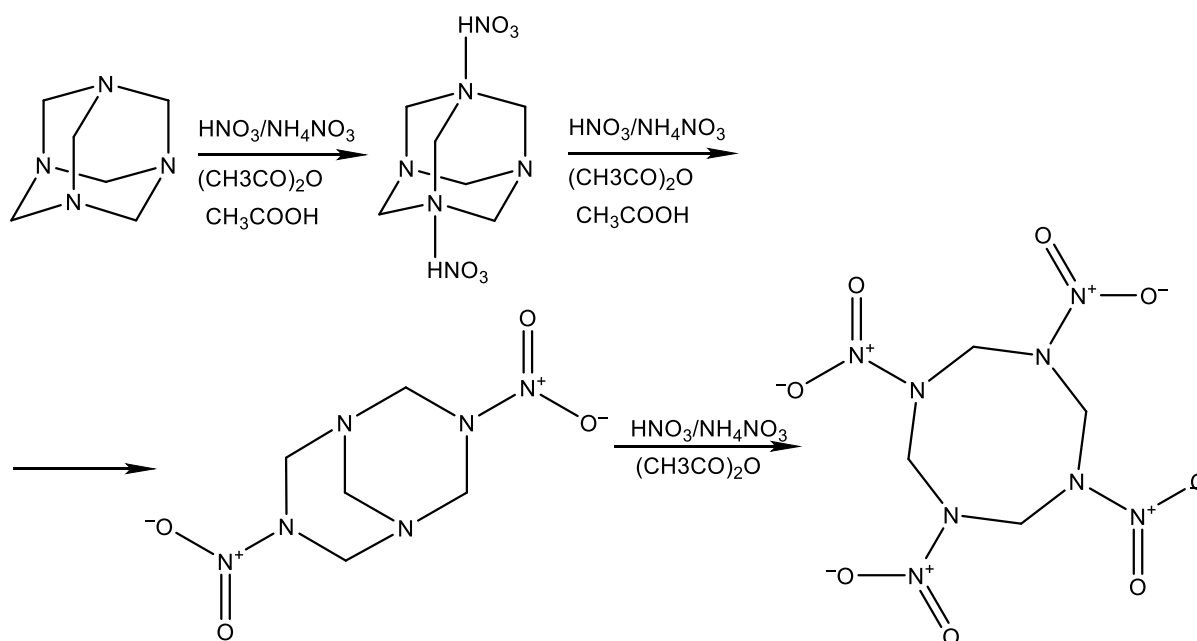
IUPAC název:	1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetraazokan
CAS číslo:	2691-41-0
Ostatní názvy:	Cyklotetramethyltetranitramin, 1,3,5,7-tetranitroperhydro -1,3,5,7- tetrazocin
Sumární vzorec:	C ₄ H ₈ N ₈ O ₈
Molekulová hmotnost:	296,16 g/mol
Rozpustnost ve vodě:	38,4 mg/l při 20 °C
Hustota:	α 1,87 g/cm ³ β 1,96 g/cm ³ γ 1,82 g/cm ³ δ 1,78 g/cm ³
Bod tání:	273-285 °C
Detonační tlak:	390 kbar
Detonační rychlost:	9110 m/s
Kyslíková bilance:	-21,6 %
Teoretická brisance:	158·10 ⁶ max./min
Poměrná síla k TNT:	185 %

3.1.2.2 Syntéza

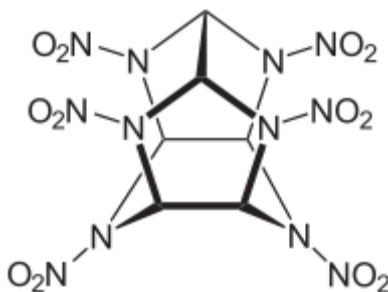
HMX se stejně jako RDX získává nejčastěji nitrolýzou hexaminu. HMX je vedlejším produktem při výrobě RDX. Jedna z metod na výrobu HMX využívá jeho větší odolnosti vůči působení hydroxidu sodného. Směs HMX s RDX je zahřívána s hydroxidem sodným, RDX je působením hydroxidu rozložen a HMX zůstává nezměněn. [1]

Nejvyužívanější způsob je nitrolýza hexaminu pomocí kyseliny dusičné a dusičnanu amonného za přítomnosti acethydridu, octové kyseliny a trioxanu. Proces výroby probíhá v několika reaktorech v kaskádovém systému. První reaktor je plněn hexaminem a trioxanem v octové kyselině, směsí kyseliny dusičné s dusičnanem amonným a acethydridem. V tomto reaktoru vzniká meziproduct dinitropentamethylentetramin (DPT), který je hnán do dalšího reaktoru se směsí kyseliny dusičné s dusičnanem amonným a acethydridem, kde se za vysokých teplot mění na HMX. [10]

Obrázek 3.5: Schéma výrobního procesu HMX



3.1.3 HNIW



CL-20, HNIW nebo systematickým názvem 2,4,6,8,10,12-hexanitro-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyklo[5,5,0,0^{3.11},0^{5.9}]dodekan je poměrně nová výbušnina, která je dnes považována za vůbec nejsilnější. CL-20 byl průlom v energetických materiálech s vyšším výkonem, má četné vojenské a komerční aplikace.

Dnešním trendem je prozkoumat možnosti, které HNIW může poskytnout jako pohonná hmota, kumulativní nálož, výplň do bomb nebo do hlavic řízených raket. [11]

CL-20 může tvořit kokrystaly s TNT, které jsou relativně bezpečnou výbušninou. Smícháním bezpečného TNT a silně výbušné CL-20 se utvoří kokrystaly, které jsou méně citlivé na tlak jak krystaly samotné CL-20. Tento nový proces kokrystalizace je slibnou cestou k bezpečnějšímu transportu vysoce explozivních materiálů. [12]

3.1.3.1 Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti

CL-20 existuje v pěti krystalických formách stabilních při různých teplotách. Beta forma je nejčastější formou a má teplotu tání 260 °C (při 185 °C se beta forma mění na gama formu a při 230 °C na delta formu, přičemž gama i delta se mohou chlazením opět vrátit na beta formu). Forma epsilon je stabilní při pokojové teplotě a vykazuje nejvyšší hustotu (2,04 g/cm³) ze všech forem. CL-20 má lepší vlastnosti než RDX a HMX, má vyšší brisanci, detonační rychlost, detonační tlak a zároveň je odolná vůči teplu, tření a nárazu. [13]

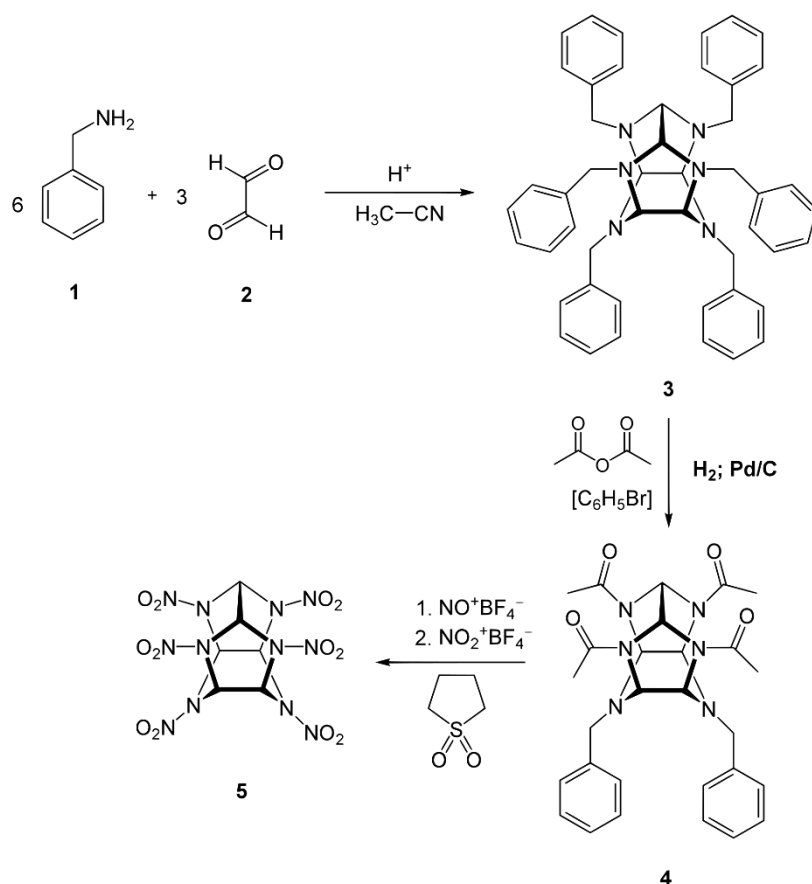
Tabulka 3.3: Vlastnosti HNIW [7]

IUPAC název:	2,4,6,8,10,12hexanitro-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyklo[5.5.0.0 ^{3,11} .0 ^{5,9}]dodekan
CAS číslo:	135285-90-4
Sumární vzorec:	C ₆ H ₆ N ₁₂ O ₁₂
Molekulová hmotnost:	438,2 g/mol
Rozpustnost ve vodě:	4,8 mg/l při 25 °C
Hustota:	1,98-2,04 g/cm ³
Bod tání:	260 °C
Detonační tlak:	428 kbar
Detonační rychlost:	9380 m/s
Kyslíková bilance:	-11 %
Teoretická brisance:	174,2 · 10 ⁶

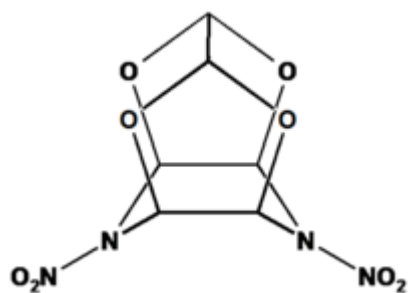
3.1.3.2 Syntéza

Výchozí látky pro syntézu HNIW jsou benzylamin a glyoxal, které spolu kondenzují v kyselém prostředí a acetonnitrilu a tvoří HBIW (2,4,6,8,10,12-hexabenzyl-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitan). V druhém kroku je HBIW reduktivně acylován vodíkem s pomocí palladiového katalyzátoru, vzniká TAIW (4,10-dibenzyl-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitan). Poslední částí přípravy je debenzylace a nitrace TAIW tak, aby vznikl požadovaný hexanitroderivát. Toho se docílí dvoukrokovou nitrací, kdy se prvně nitruje nitrosonium tetrafluoroborátem a poté nitronium tetrafluoroborátem. Jako reakční médium je v posledním kroku přípravy používáno rozpouštědlo sulfolan. [11]

Obrázek 3.6: Schéma syntézy HNIW



3.1.4 TEX



4,10-dinitro-2,6,8,12-tetraoxa-4,10-diazatetracyclo[5.5.0.0^{5,9}0^{3,11}]dodekan neboli TEX je sloučenina se slibnými předpoklady využití na poli výbušnin, jež mají nižší citlivost k vnějším podnětům (mechanickým či tepelným).

3.1.4.1 Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti

Díky isowurtzitanové kleci ve struktuře má TEX stejně jako HNIW velkou hustotu $\rho=1,985 \text{ g/cm}^3$. Právě vysoká hustota je příčinou toho, že mají tyto tetracyklické nitraminy tak dobré výbušinářské schopnosti, zejména vysokou detonační rychlost a tlak. Struktura TEX se od struktury HNIW odlišuje tím, že jsou na pozicích 2,6,8 a 12 stericky náročné nitraminové skupiny nahrazeny etherovou skupinou. Právě tato odlišnost může za nižší citlivost vůči podnětům, než má HNIW. [14]

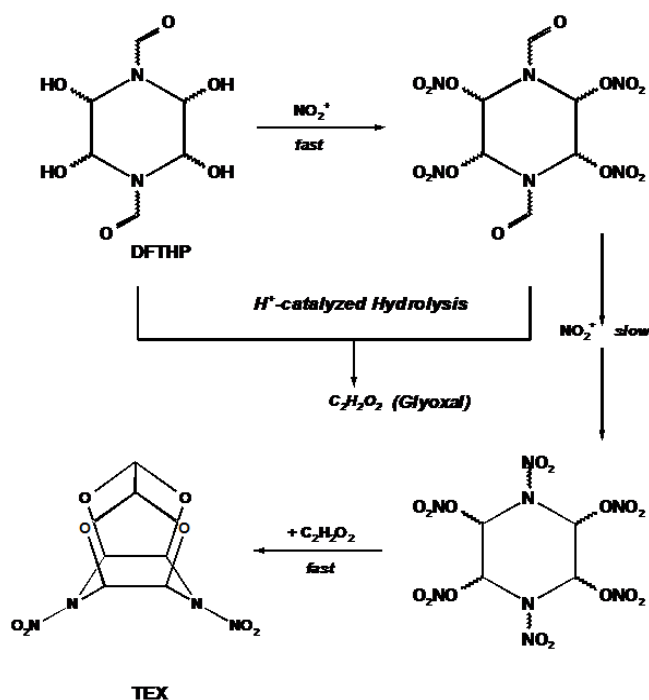
Tabulka 3.4: Vlastnosti TEX [7,14]

IUPAC název:	4,10-dinitro-2,6,8,12-tetraoxa-4,10-diazotetracyklo[5,5,0 ^{5,9} ,0 ^{3,11}] dodekan
CAS číslo:	130919-56-1
Sumární vzorec:	C ₆ H ₆ N ₄ O ₈
Molekulová hmotnost:	262,136 g/mol
Rozpuštnost ve vodě:	27 mg/l
Hustota:	1,985 g/cm ³
Bod tání:	260 °C
Detonační tlak:	370 kbar
Detonační rychlost:	8665 m/s
Kyslíková bilance:	-42,7 %
Teoretická brisance:	140,5 · 10 ⁶

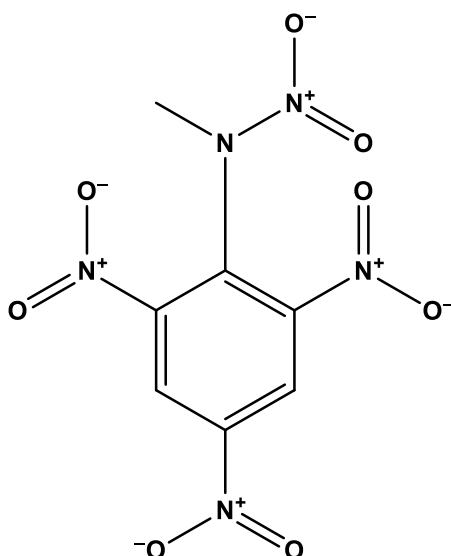
3.1.4.2 Syntéza

Na rozdíl od HNIW, jehož syntéza je těžkopádná a nákladná, lze TEX získat v dobrých výtěžcích z poměrně levných sloučenin. Prvním krokem je příprava prekursoru DFTHP, který vzniká bazicky katalyzovanou kondenzací formamidu a glyoxalu. TEX se připravuje nitrací DFTHP (1,4-diformyl-2,3,5,6-tetrahydroxypiperazinu) pomocí 20% olea (lze použít i 96% kyselinu sírovou) a dýmavé kyseliny dusičné (90%). První krok syntézy (tvorba 1,4-diformyl-2,3,5,6-tetranitratopiperazinu z DFTHP) je katalyzovaná hydrolyza H⁺ protonem, při které vzniká glyoxal, který reaguje s dalším z meziproductů 1,4-dinitramino-2,3,5,6tetranitropiperazinem za tvorby TEX. [14]

Obrázek 3.7: Schéma syntézy TEX [14]



3.1.5 Tetryl



Tetryl patří mezi sekundární nitraminy, zároveň jde o polynitrosloučeninu se čtyřmi nitroskupinami, z toho tři jsou na benzenovém jádře v polohách 2,4 a 6 a jedna je součástí N-NO₂ skupiny.

Poprvé byl tetryl syntetizován v roce 1877 Mertensem. V první polovině 20. století se používal jako náplň do výbušných složí nebo do rozbušek. [6]

Společně s TNT tvoří směs zvanou Tetrytol (70 % Tetryl/30 % TNT), která se v minulém století odlévala v polotekutém stavu do munice, ženijních náloží, pozemních min a leteckých bomb. Směs má větší brzanci a také snadněji detonuje. [1]

3.1.5.1 Fyzikální, chemické a výbušinářské vlastnosti

Tetryl tvoří bezbarvé krystaly, které však vlivem světla rychle zežloutnou. Je mírně citlivý na mechanické podněty, jako jsou tření nebo náraz.

Tabulka 3.5: Vlastnosti tetrylu [6,7,8]

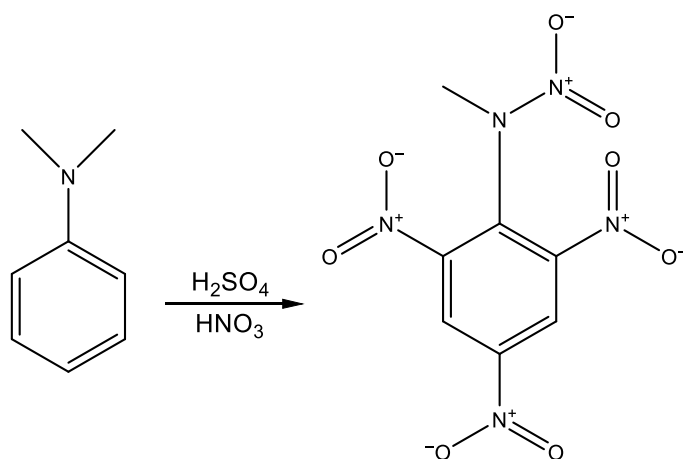
IUPAC název:	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(2,4,6-trinitrofenyl)nitramid
CAS číslo:	479-45-8
Sumární vzorec:	C ₇ H ₅ N ₅ O ₈
Molekulová hmotnost:	287,15 g/mol
Rozpustnost ve vodě:	7,5 mg/l při 20 °C
Hustota:	1,73 g/cm ³
Bod tání:	129 °C
Teplota výbuchu:	3530 °C
Detonační tlak:	253 kbar
Detonační rychlost:	7750 m/s
Kyslíková bilance:	-29,61 %
Poměrná síla k TNT:	126-130 %

3.1.5.2 Syntéza

Tetryl se vyrábí nitrací *N,N'*-dimethylanilinu. Nitrační směs tvoří koncentrovaná kyselina sírová a koncentrovaná kyselina dusičná, přičemž tato směs má být bohatší na kyselinu dusičnou (65 %).

Další způsob syntézy tetrylu může vycházet z 2,4-dinitrochlorbenzenu, který kondenzuje s methylaminem. Vzniklý 2,4-dinitrofenyl-*N*-methylamin se poté nitruje směsí kyseliny dusičné a kyseliny sírové a vzniká tetryl. [15]

Obrázek 3.8: Schéma syntézy tetrylu



3.2 Ekotoxikologie

Ekotoxikologie je obor zabývající se působením cizorodých látek na živé organismy v jejich přirozeném prostředí a v jejím rámci je zahrnut i přestup škodlivin z přírody na člověka. Jde o obor, který spojuje klasickou toxikologii s ekologií a umožňuje tak spojovat poznatky z těchto obou odvětví. Vůbec první, kdo definoval ekotoxikologii, byl v roce 1969 René Truhaut, který řekl, že jde o vědu studující nepříznivé účinky chemikálií s cílem chránit přírodní druhy a společnost. Kromě sledování účinků toxických látek je úkolem ekotoxikologie i jejich monitoring v životním prostředí, tímto je toto odvětví úzce spojeno s environmentální chemií a analytikou životního prostředí.

Hlavním cílem ekologie je poznání interakcí mezi živými organismy a toxickými látkami v životním prostředí, ale také využití poznatků na ochranu celého našeho ekosystému před chemickým znečištěním. [16,17]

3.3 Ekotoxikologické biotesty

Nástrojem ekotoxikologie jsou biotesty, jedná se o testy toxicity prováděné na živých systémech (buňkách, organismech, ekosystémech atd.).

Biotest slouží k určení míry nepříznivého účinku látky na testovaný organismus, tento nepříznivý účinek je výstupem, podle kterého je hodnoceno riziko spojené s výskytem testovaného toxikantu v životním prostředí.

3.3.1 Rozdělení ekotoxikologických biotestů

Ekotoxikologické biotesty lze rozdělit dle mnoha faktorů:

- Dle cílového ekosystému: sladkovodní, mořský, půdní, sedimenty
- Dle doby expozice: akutní, semiakutní a chronické testy
- Dle pokročilosti designu testovaného organismu: testy s producenty, konzumenty a destruenty
- Dle testované matrice: voda, půda, vzduch, sediment, odpad, chemická látka
- Dle počtu testovacích organismů: jednodruhové a vícedruhové
- Dle testovaného vzorku: čistá chemická látka, směs látek, přírodní vzorek
- Dle sledované odpovědi: letální či subletální účinky, hodnocení fyziologické aktivity, reprodukční aktivita

Nejvýznamnější rozdělení biotestů je dle doby expozice na testy:

- Akutní toxicity
- Semiakutní (subchronické) toxicity
- Chronické toxicity

Test akutní toxicity slouží spíše pro orientační informaci o toxicitě sledované látky. Jde o krátkodobé testy toxicity trvající obvykle 24-96 hodin. Výsledkem testů akutní toxicity jsou faktory LD₅₀ (letální dávka, při které zahyne 50 % všech organismů), LC₅₀ (letální koncentrace, při které zahyne 50 % všech organismů), EC₅₀ (efektivní koncentrace, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50 % všech organismů) nebo IC₅₀ (inhibiční koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou).

Semiakutní (subchronické) testy trvají 28-90 dní a organismus je v něm vystaven opakovaně nižším koncentracím testované látky (menší koncentrace než LD₅₀ nebo LC₅₀). Test má za cíl určit hodnoty NOEC (angl. *No Observed Effect Concentration* - nejvyšší testovaná koncentrace látky, u které ještě nebyl pozorován významný účinek ve srovnání s kontrolou) a LOEC (angl. *Lowest Observed Effect Concentration* - nejnižší koncentrace testované látky v testu, při které byl pozorován již významný účinek ve srovnání s kontrolou).

Chronické testy slouží k určení dlouhodobého účinku toxikantu na testovaný organismus. Test trvá minimálně 90 dní a jeho výsledky jsou hodnoty NOAEL (angl. *No Observed Adverse Effect Level* - množství nebo koncentrace toxikantu, při kterém může být účinek látky pozorován, není však považován za nežádoucí) a LOAEL (angl. *Lowest Observed Adverse Effect Level* - nejnižší testovaná koncentrace toxikantu, při které jsou již pozorovány nežádoucí účinky).

Dále se testy toxicity mohou dělit dle pokročilosti testovacího systému na testy:

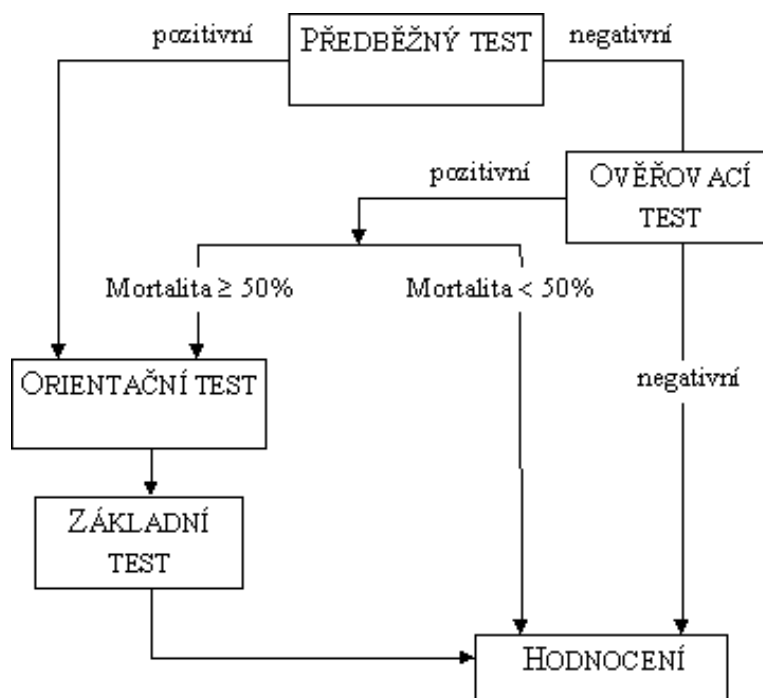
- 1. generace – klasické (standardní, konvenční) biotity
- 2. generace – mikrobiotesty (alternativní biotesty)
- 3. generace – biosondy, biosenzory a biomarkery [16,17,18]

3.3.2 Princip provedení biotestu

Každý test toxicity musí být prováděn způsobem vedoucím k určitému cíli. V případě ekotoxikologického biotestu je sledovaným cílem odpověď na otázku týkající se míry toxického účinku látky na živé organismy.

Doporučený postup biotestu je zachycen schematicky zachycen na obrázku č. 3.9.

Obrázek 3.9: Schéma doporučeného postupu při ekotoxikologickém biotestu [19]



3.3.2.1 Předběžný test

V předběžném testu se látka nebo neznámý vzorek poprvé podrobí první zkoušce s testovaným organismem. Cílem testu je zjistit, zdali testovaný toxikant vykazuje známky toxicity. Používají se dvě paralelní nasazení s dvěma kontrolami. Nevykazuje-li látka žádné účinky, je test hodnocen jako negativní a přistupuje se k ověřovacímu testu, v opačném případě k testu orientačnímu.

3.3.2.2 Ověřovací test

V ověřovacím testu se v šesti paralelních nasazeních potvrzuje negativní výsledek z předběžného testu. Nedojde-li k úhynu většímu než 10 % ve srovnání s kontrolou, je test hodnocen jako negativní. Převýší-li úhyn 10 % ve srovnání s kontrolou, je výsledek pozitivní. Další postup závisí na tom, je-li úhyn/inhibice organismů vyšší než 50% nebo nikoli:

- V případě, že je úhyn nižší než 50 %, se další testy neprovádí a test je vyhodnocen
- V případě, že je úhyn větší než 50 %, se přistoupí k orientačnímu testu

3.3.2.3 Orientační test

Účelem orientačního testu je určit rozmezí koncentrací, kde by se mohla nacházet hodnota EC_{50} (LC_{50} , IC_{50}). Rozpětí volených koncentrací musí být relativně široké, v testu je nutno najít

nejvyšší koncentraci, při které ještě nedochází k odpovědi (OC₀) a zároveň nejnižší koncentraci, při které je pozorována odpověď u 100 % organismů (OC₁₀₀).

3.3.2.4 Základní test

Základní test je test, jehož cílem je přesné stanovení hodnoty EC₅₀ (LC₅₀, IC₅₀). Látka je testována obvykle v 6 až 10 koncentracích a ve dvou až třech paralelních nasazeních. Na základě orientačního testu se pro základní test určí koncentrační řada, tak aby obsahovala nejmenší koncentraci OC₀, nejvyšší koncentraci OC₁₀₀ a koncentrace mezi nimi.

Test je uznán za platný, když nedojde v kontrole k větší jak předepsané úmrtnosti testovacích organismů (obvykle 5-10% úmrtnost). [17,18,19]

3.3.3 Standardní testy toxicity

Tyto testy toxicity představují první generaci biotestů. Jsou to testy akutní toxicity na chovaných organismech a udržovaných kulturách v laboratoři. Používají se pro hodnocení ekotoxicity chemických látek, pesticidů, odpadů nebo léčiv.

Dle norem organizací jako jsou ČSN EN ISO, TNV, ASTM, US EPA, EEC, AFNOR nebo OECD je standardizována celá řada ekotoxikologických testů. V České republice se vzhledem k požadavkům legislativy provádí následující testy toxicity:

- ČSN EN ISO 6341 Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia Magna Straus* (*Cladocera, Crustacea*) – Zkouška akutní toxicity
- ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod. Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby *Brachydanio rerio Hamilton* – Buchanan (*Teleostei, Cyprinidae*) – část 2: Obnovovací metoda.
- ČSN EN 28692 Jakost vod. Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas *Desmodesmus Subspicatus* a *Pseudokirchneriella subcapitata* (ISO 8692; 1989).
- Zkouška inhibice růstu kořene hořčice bílé *Sinapis Alba*. Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ZP11/2007 ke stanovení ekotoxicity odpadů.
- Mezi standardní testy toxicity patří i test akutní toxicity na akvarijních rybách *Poecilia reticulata* a testy semichronické toxicity na chlorokokální řase *Scenedesmus quadricauda* nebo *Scenedesmus subspicetus*. [20]

3.3.3.1 Test akutní toxicity na hrotnatce velké (*Daphnia Magna Straus*)

Zkouška je založena na určení koncentrace látky, která za dobu testu (24 nebo 48 hodin) imobilizuje 50 % testovaných organismů. Výsledkem testu jsou efektivní koncentrace ${}_{24h}EC_{50}$ nebo ${}_{48h}EC_{50}$.

Test se provádí při teplotě 20 ± 2 °C bez osvětlení, bez aerace a bez krmení hrotnatek. Požadované koncentrace se připraví ředěním testované látky s ředící vodou. Do každé z koncentrací se nasadí 10 až 60 dafnií, v koncentracích by mělo připadat 5 ml roztoku na jedince. Zároveň s testovanými koncentracemi se nasadí i kontrola, která obsahuje jen živný

roztok bez testované látky. Během testu se pozoruje imobilizace a úhyn hrotnatek, na konci testu se určí konečný počet imobilizovaných jedinců z původního počtu a vyhodnotí se výsledky. [21]

3.3.3.2 Test akutní toxicity na akvarijních rybách

Druhy akvarijních ryb živorodka duhová (*Poecilia reticulata*) a dánio pruhované (*Brachydanio rerio*) jsou testovány v této metodě na mortalitu. Výsledkem testu je hodnota letální koncentrace $_{96h}LC_{50}$.

Test probíhá za teploty 22 ± 2 °C a při osvětlení 12 až 16 hodin denně intenzivním 2000 lux. Délka testu je 48 hodin, dle metodik ISO se prodlužuje až na 96 hodin. V průběhu testu je zaznamenáváno chování ryb, měří se pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku a teplota. První se provádí předběžný test s deseti koncentracemi, přičemž v každé je 5 kusů ryb. Na základě výsledků z předběžného testu se určí koncentrační rozmezí pro test základní, který probíhá ve třech paralelních stanoveních po deseti koncentracích, kdy v každé je 10 kusů ryb. Z letality v jednotlivých koncentracích se pro každou řadu určí $_{96h}LC_{50}$, letální koncentrace pro jednotlivé řady se zprůměrují a určí se výsledná. Podmínkou platnosti testu je, že hodnoty dílčích koncentrací LC_{50} se od sebe nesmí lišit o 30 %. [22]

Obrázek 3.11: *Brachydanio rerio* [23]



Obrázek 3.10: *Poecilia reticulata* [24]



3.3.3.3 Test toxicity na sladkovodních řasách

Řasové testy toxicity slouží k testování účinků látek na vodní producenty a díky rychlému růstu řas lze sledovat i účinky chronické. O testu na řasách lze mluvit jako o semichronickém, protože po dobu působení testu (3-4 dny) je účinkům látky vystaveno 4-5 generací populace. [25]

Během testu se pozoruje inhibice a rozmnožování chlorokokální řasy (*Scenedesmus quadricauda*, *S. subspitatus*, *Selenastrum capricornutum*) v různých koncentracích testované látky. Stav v roztocích toxikantu je porovnáván s kontrolou, kde je řasa kultivována bez přítomnosti testované látky.

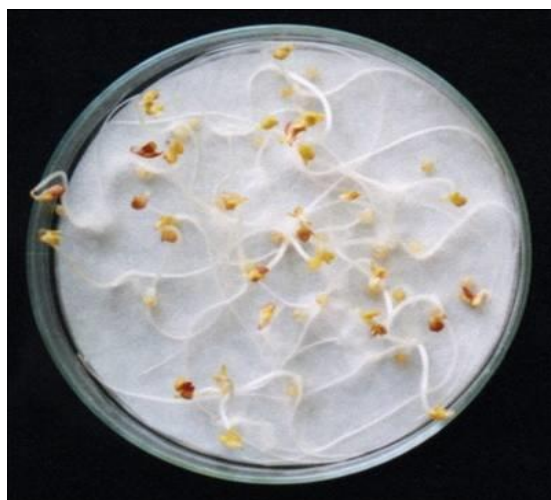
Kmenová kultura řasy je před testem kultivována na 1,5% agaru v živném roztoku v zazátkovaných zkumavkách uložených v termoluminostatu při teplotě 25 ± 2 °C s intenzitou osvětlení 6000 lux. Přeočkováním řas do živného média v Erlenmeyerových baňkách se připraví zásobní inokulační kultura, ta je udržována při stejných podmínkách jako kultura kmenová. U inokulační kultury se zjistí její hustota v počítací komůrce a do každé testované koncentrace se přidá stejný objem řasové suspenze, který je určen výpočtem.

Baňky s testovanými vzorky (každý o objemu 50 ml) se umístí do termoluminostatu s teplotou 27 ± 2 °C o intenzitě osvětlení 6000-10 000 lux. Test trvá 72 hodin a vzorky se alespoň třikrát denně promíchávají. V průběhu testu je pozorován růst řas alespoň jednou denně a na jeho konci je výsledkem hodnota $72hIC_{50}$. [26]

3.3.3.4 Test toxicity se semeny hořčice bílé (*Sinapis alba*)

Test byl vyvinut k testování neškodnosti odpadních vod, které by mohly být použity pro závlahy (např. zemědělských plodin). Semena hořčice bílé jsou kultivována po dobu 72 hodin bez přístupu světla v Petriho miskách na filtračním papíru nasáklém testovaným roztokem. Testuje se účinek toxické látky na klíčivost semene a růst kořene v počátečním stádiu vývoje. K posouzení stačí pouhé srovnání průměrné délky kořene klíčících semen oproti průměrné délce v kontrole, kde je pouze živné médium. Z průměrných délek kořenů se vypočítají inhibice pro dané koncentrace a výsledkem testu je faktor $72hIC_{50}$. Podmínkou platnosti tohoto fytotestu je 90% klíčivost semen v kontrole a $72hIC_{50}$ standardu dichromanu draselného musí být v rozmezí 10-50 mg/l pro testovaná semena. [18,27]

Obrázek 3.12: Test se semeny *Sinapis Alba* [28]



3.3.4 Alternativní biotesty

Tyto testy využívají k testování toxicity klidová stádia organismů např. vajíčka, cysty, tkáně, lyofilizované a imobilizované kultury organismů. Testy bývají někdy označovány za miniaturizované díky minimálnímu množství objemů potřebných pro provedení testu a minimálním požadavkem na laboratorní vybavení a prostory. [29]

Mikrobiotesty trvají 24 hodin (popř. 48 hodin) a testovacími organismy jsou např. bakterie, prvoci, řasy, bezobratlí nebo i zástupci ryb. Tyto organismy se uvádějí do klidového stádia a podle potřeby se oživují až před samotným testováním. [30]

Nejpoužívanějším typem mikrobiotestu je tzv. toxkit, který je dostupný v komerčně prodávaných baleních. Tato balení obsahují veškeré pomůcky (pipety, testovací destičky, živné médium, testovací organismy v klidovém stádiu), návod a protokol o provedeném testu. Mezi nejznámější a nejpoužívanější toxkity jsou Thamnotoxkit F, Daphtoxkit F, Rotoxkit F, Algaltoxkit F a Rapidtoxkit F. [30]

3.3.4.1 *Thamnotoxkit F*

Testovacím organismem je v tomto toxkitu nižší korýš *Thamnocephalus platyurus*, test trvá 24 hodin a slouží k určení toxicity sloučenin, sedimentů, povrchových vod nebo vod odpadních. Každé balení obsahuje pomůcky k provedení šesti testů akutní toxicity a testovací organismy ve stádiu cysty, které se musí před testem nechat vylíhnout při teplotě 25 °C a při intenzitě osvětlení 3000-4000 lux (líhnutí trvá 20-22 hodin). Samotný test se provádí v inkubátoru za nepřístupu světla a za teploty 25 °C. Výsledky testu se vyhodnotí z mortality larev korýše a určí se hodnota $_{24h}LC_{50}$. Podmínkou platnosti testu je maximálně 10% mortalita v kontrole. [31]

Obrázek 3.13: *Thamnotoxkit F* [32]



3.3.4.2 *Daphtoxkit F magna*

Screeningové biotesty s dafniemi byly vyvinuty výzkumnými týmy prof. Dr. Persooneho na Universitě v Gentu v Belgii. V *Daphtoxkit F magna* jsou testovacím organismem korýši *Daphnia Magna*, kteří jsou v klidovém stádiu ve formě vajíček tzv. ehipií.

Ehipia se nechávají vylíhnout po dobu 72 hodin, za intenzity osvětlení 6000 lux a při teplotě 20 ± 2 °C. Na testovací destičku se do každého otvoru poté přenesou 5 vylíhnutých neonátů, které jsou před testem ještě 2 hodiny krmeny řasovou suspenzí *Spirulina microalgae*. Testovací destička je poté inkubována za nepřístupu světla za teploty 20 °C. Po 24 hodinách nebo 48 hodinách inkubace se z počtu mrtvých a imobilizovaných organismů určí $_{24h}LC_{50}$ nebo $_{48h}LC_{50}$.

Podmínkou validity testu je podmínka, že počet mrtvých a imobilizovaných organismů v kontrole nesmí být víc jak 10 %. [33]

Obrázek 3.14: *Daphtoxkit F Magna* [34]



3.3.4.3 Rotoxkit F

Tento toxkit využívá jako testovací organismus nedospělého vířníka *Brachionus calyciflorus* vylíhnutého z cyst. Citlivost vířníka *Brachionus calyciflorus* je porovnatelná s ostatními bezobratlými používanými v testech toxicity na vodních organismech.

Cysty se před testem líhnou v inkubátoru po dobu 16-18 hodin, při teplotě 25 °C a za intenzity osvětlení 3000-4000 lux. Test s vylíhnutými jedinci probíhá za nepřístupu světla při teplotě 25 °C, na jeho konci se z počtu mrtvých jedinců určí $24hLC_{50}$. Podmínkou platnosti testu je maximálně 10% mortalita v kontrole. [35]

Obrázek 3.16: *Brachionus calyciflorus* [36]



Obrázek 3.15: Rotoxkit F [37]



3.3.4.4 Algaltoxkit F

V tomto toxkitu se pozoruje inhibice růstu řasy *Selenastrum capricornutum* (dnes přejmenované na *Pseudokirchneriella subcapitata*). Před začátkem testu jsou řasy imobilizovány v inertní matrici, měly by být uchovávány při teplotě 5 ± 2 °C v temném prostředí.

Deimobilizace řas probíhá za pomoci centrifugace s rozpouštěcím médiem při 3000 ot./min po dobu 10 minut. Takto centrifugovaná suspenze se převede do odměrné baňky a doplní se roztokem testované látky o určité koncentraci. Takto připravenými roztoky jsou naplněny testovací vialky, které jsou poté 72 hodin inkubovány při teplotě 23 ± 2 °C. Po 24, 48 a 72 hodinách inkubace se měří spektrofotometricky optická hustota při vlnové délce 670 nm, přičemž spektrofotometr je kalibrován kontrolním roztokem bez testované látky.

Národní a mezinárodní organizace mají pro testy toxicity na řasách vlastní kritéria pro validitu testu, ale kritéria dle ISO a OECD se shodují v podmínce, že pH v kontrolním roztoku se nesmí lišit o 1,5 jednotky oproti pH v imobilizovaném stádiu. [38]

3.3.4.5 Rapidtoxkit

Rapidtoxkit představuje kratší verzi Thamnotoxkitu, využívá larvy korýšů *Thamnocephalus platyurus*, u kterých měří stres po 15, 30 nebo 60 minutách expozice. Balení tohoto mikrobiotestu obsahuje vše potřebné pro provedení třech nezávislých sérií testu.

Cysty korýšů se nechají líhnout v nádobce se standardní vodou po dobu 35-45 hodin, za intenzity osvětlení 3000-4000 luxů a při teplotě 25 °C. Larvy se ponechají s testovanými vzorky

k inkubaci po dobu 60 minut, za teploty 25 °C a za nepřístupu světla. Po hodině inkubace jsou přidány červené mikrospory, které slouží jako potrava testovaných jedinců. Přidáním mikrospor začíná inkubace trvající 15-30 minut za nepřístupu světla. Následně je přidáno činidlo, které larvy usmrtí. Usmrcené larvy jsou pomocí mikropipety přeneseny na destičku, která je zkoumána pod stereomikroskopem. Podle počtu jedinců s tmavě červenými orgány se určuje procentuální inhibice příjmů mikrospor larvami. Toxický účinek je prokázán v případě, je-li inhibice příjmu mikrospor větší než 30 %. Test je prohlášen za neplatný v případě, že méně jak 50 % testovaných organismů v kontrole vykazuje příjem potravy. [39]

Obrázek 3.17: *Thamnocephalus platyurus* [40]



3.3.5 Fytotesty

Testy fytotoxicity jsou používány při hodnocení toxicity chemických látek a hodnocení jejich účinků na strukturu a funkci ekosystému. Výhodou těchto testů je jejich ekonomická a materiálová nenáročnost.

Fytotesty byly využívány už na začátku 20. století, ale až v roce 1970 byly vytvořeny testovací metody, které se i v současnosti používají ke stanovení toxicity komerčně vyráběných produktů (zejména pesticidů). V posledních letech fytotesty nabývají na významu ještě více, přispívají k tomu environmentální regulační opatření, která provedení fytotestů požadují. [41]

Tabulka 3.6: Typy fytotestů a jejich měřená odezva [41]

Test	Měřená odezva
1. Elongace kořene	Délka kořene
2. Enzymatický test	Aktivita enzymů
3. Fyziologické testy	Rychlost fotosyntézy, rychlost respirace
4. Klíčivost semen	Procento vyklíčených semen
5. Produkce biomasy	Sušina
6. Růst klíčnicích rostlin	Výška rostlin, velikost listové plochy
7. Životní cyklus	Výška rostliny, sušina, počet květů, plodů a semen

3.3.5.1 Test toxicity na okřehku menším (*Lemna Minor*)

3.3.5.1.1 Charakteristika testu

Toxicita syntetizovaných vzorků *N*-nitroaminů a *N*-nitrosoaminů se určí pomocí testu semichronické expozice na okřehku menším (*Lemna Minor*). Roztoky vzorků o různých koncentracích rozpuštěné v živném roztoku se sledují po dobu expozice trvající 7 dní. Vzorky

jsou každých 24 hodin srovnávány s kontrolním roztokem bez testované látky. Toxicita je vyhodnocována na základě srovnání počtu stélek (rychlost růstu) a alespoň jedné ze tří charakteristik: velikosti listové plochy, obsahu chlorofylu a hmotnosti sušiny.

3.3.5.1.2 *Charakteristika organismu*

Okřehek menší se taxonomicky řadí do krytosemenných rostlin (*Angiospermophyta*) kvetoucích, třídy jednoděložných (*Monocotyledonopsida*), čeledě *Lemnaceae*. Tato jednoletá rostlina se vyskytuje v nížinách až subalpinských polohách na všech kontinentech, chybí jen na Antarktidě a vysoké Arktidě. Obvykle pokrývá hladiny stojatých a pomalu tekoucích vod, snáší úplné zaslunění i zastínění, za příhodných podmínek pokrývá celou plochu hladiny a výrazně tak mění kvalitu ekosystému. Rozmnožuje se zpravidla pouze vegetativně a kvete velmi vzácně. Jeho výskyt je vítán v obhospodařovaných vodách, kde může sloužit jako vhodná potrava pro ryby a vodní ptactvo. Zdravá kolonie okřehku má 2-5 zelených, plochých, vejčitých až eliptických stélek (lístků) o průměru 1,5-5 mm, přitom na jednu stélku připadá jeden jemný kořínek. [42]

Obrázek 3.18: Okřehek menší (*Lemna Minor*) [43]



3.3.5.1.3 *Provedení testu*

Pro provedení testu je vhodný kultivační box s kontinuálním osvětlením o intenzitě 6500-10 000 lux a udržování konstantní teploty 24 ± 2 °C. Objem testované koncentrace je volitelný, avšak 100 ml ve 150 ml kádince se zdá být nejvhodnější, přičemž ve všech testovaných koncentracích musí být počet lístků totožný (mezi 10 až 16 lístky). Na začátku i na konci testu je dobré změřit pH a teplotu v každé kádince.

Během sedmidenní expozice se sledují kádinky s testovanými vzorky i kontrolní kádinky nejlépe každých 24 hodin a zaznamenává se počet lístků (rychlost růstu okřehku). Zaznamenává se také odumírání částí rostliny tzv. nekróza, žloutnutí tkáně tzv. chloróza a případně i rozpad kolonií na 1 až 2 stélkové kolonie. Pro vyhodnocení listové plochy se na začátku a na konci testu pořídí fotografie, které poté poslouží k digitální analýze obrazu pomocí programu NIS-Elements.

3.3.5.1.4 Vyhodnocení testu

3.3.5.1.4.1 Vyhodnocení rychlosti růstu

Z údajů o počtu lístků nebo z velikosti listové plochy na začátku a na konci testu lze vyhodnotit růstovou rychlost. Růstová rychlost se vyhodnocuje pro každé období, kdy byl zaznamenáván počet lístků či velikost jejich plochy. Výsledná růstová rychlost je pak jejich průměrnou hodnotou.

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n} \quad (1)$$

kde

N_0 je počet lístků (velikost plochy) na počátku testu nebo zaznamenávaného období

N_n je počet lístků (velikost plochy) na konci testu nebo zaznamenávaného období

t_n je doba trvání testu nebo zaznamenávaného období

3.3.5.1.4.2 Vyhodnocení obsahu chlorofylu pomocí spektrofotometrie

Rostliny se přenášejí do zkumavek, kde jsou přelity metanolem a uzavřeny víčky. Extrakce probíhá 2-7 dní v lednici, kde nejsou rostliny vystaveny světlu a teplu. Extrakce se urychluje každodenním protřepáním zkumavek. Po skončení extrakce se změří absorbance při vlnových délkách 666 nm a 653 nm.

$$C_{\text{Chl}_a} = 15,65 \cdot A_{666} - 7,34 \cdot A_{653} \quad (2)$$

$$C_{\text{Chl}_b} = 27,05 \cdot A_{653} - 11,21 \cdot A_{666} \quad (3)$$

$$C_{\text{Chl celk.}} = C_{\text{Chl}_a} + C_{\text{Chl}_b} \quad (4)$$

kde

C_{Chl} je koncentrace chlorofylu [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$] (koncentrace chlorofylu *a* a chlorofylu *b* se určují zvlášť)

A_{666} a A_{653} jsou naměřené absorbance při vlnové délce 666 nm nebo 653 nm

Výše uvedené vzorce platí pro objem vzorku 1 cm^3 a pro délku optické dráhy 1 cm, takže je nutné zahrnout do výpočtu i jeho ředění.

3.3.5.1.4.3 Vyhodnocení inhibice

Pro každou testovanou koncentraci se vypočítá inhibice růstu z hodnot růstové rychlosti nebo obsahu chlorofylu. Takto získané hodnoty inhibice růstu se graficky vynesou jako závislost na logaritmu koncentrace a z rovnice závislosti se určí inhibice odpovídající 50 % (IC_{50}).

$$I_i = \frac{H^K - H^{Vzi} \cdot 100 [\%]}{H^K} \quad (5)$$

kde

I_i je inhibice měřeného znaku pro danou koncentraci i ; je-li $I_i < 0$, jedná se o stimulaci růstu

H^K je rychlost růstu nebo obsah chlorofylu v kontrole

H^{Vzi} je rychlost růstu nebo obsah chlorofylu v testované koncentraci vzorku [18,44,45]

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem zadání bakalářské práce byla syntéza *N*-nitro a *N*-nitrososloučenin z levných prekurzorů a následně otestování jejich toxicity na standardním fytotestu (inhibice růstu okřehku menšího *Lemna Minor*).

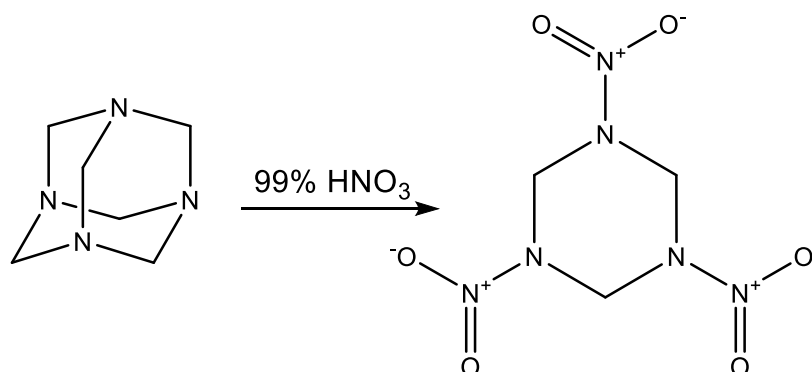
Z celkového počtu 10 syntetizovaných látek byly pro testování vybrány *hexogen*, *1,3,5-trinitroso-1,3,5-triazin*, *dinitropentamethylentetramin* a *dinitrosopentamethylentetramin*.

4.1 Syntéza nitraminů

4.1.1 Syntéza RDX

7,0 g hexaminu bylo přidáváno do 45 ml 99 % kyseliny dusičné po dobu 15 minut, tak aby teplota nepřesáhla 30 °C. Během přidávání hexaminu byla směs důkladně míchána. Po posledním příhozu byla směs ještě důkladně promíchávána a následně byla ochlazena na 0 °C, při této teplotě byla směs pomalu promíchávána po dobu 20 minut. Směs byla poté vylita do ledové vody o 4x větším objemu než objem směsi. Vysrážený produkt byl odfiltrován, promyt 2x10 ml ledové vody a usušen na vzduchu. Po rekrystalizaci z acetonu bylo získáno 6,5 g RDX (58,6 % z maximálního možného výtěžku) s teplotou tání 201 °C. [46]

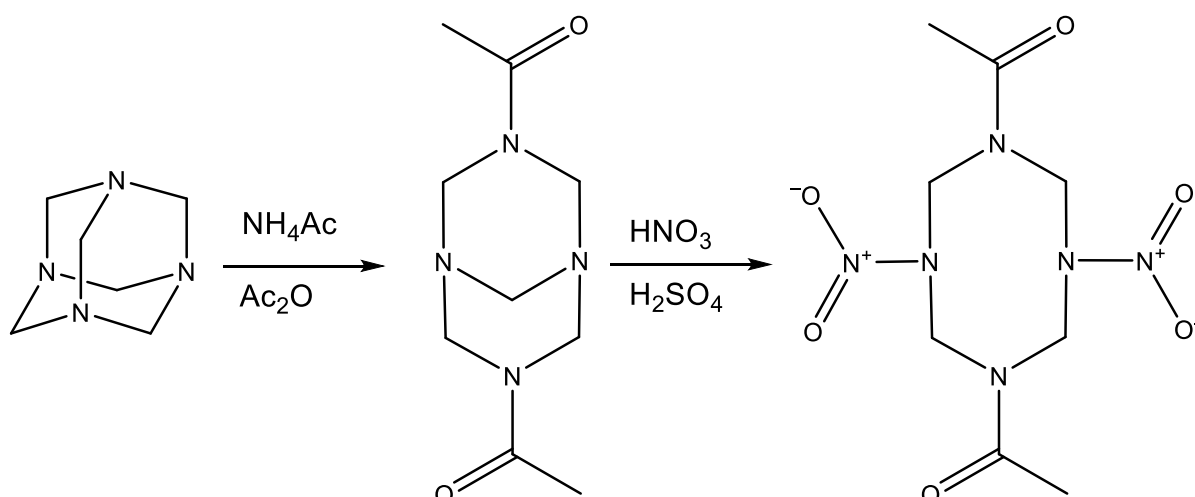
Obrázek 4.1: Schéma laboratorní přípravy RDX



4.1.2 Syntéza DADN

Do trojhrdlé baňky opatřené chladičem a magnetickým míchadlem bylo dáno 1,6 g hexaminu, 0,7 g octanu amonného a 0,8 g vody za teploty 5-10 °C. Do míchaného roztoku bylo po kapkách přidáváno 3,2 ml acetanhydridu po dobu 60 minut a teplota byla udržována pod 10 °C. Poté byla směs ještě chvíli míchána a převedena do kádinky. Tato směs byla poté pomocí přikapávátka přidávána při 18-20 °C po dobu 80 minut do směsi z 4,4 ml koncentrované kyseliny dusičné a 12,9 ml 96% kyseliny sírové. Po 20 minutách míchání byla směs smíchána s 230 g kostek ledu. Vysrážel se bílý produkt, který byl odfiltrován, promyt ledovou vodou a usušen na vzduchu. Bylo získáno 0,9 g DADN, což je 27,2 % z maximálního možného výtěžku (vztaženo na hexamin). [47]

Obrázek 4.2: Schéma laboratorní přípravy DADN

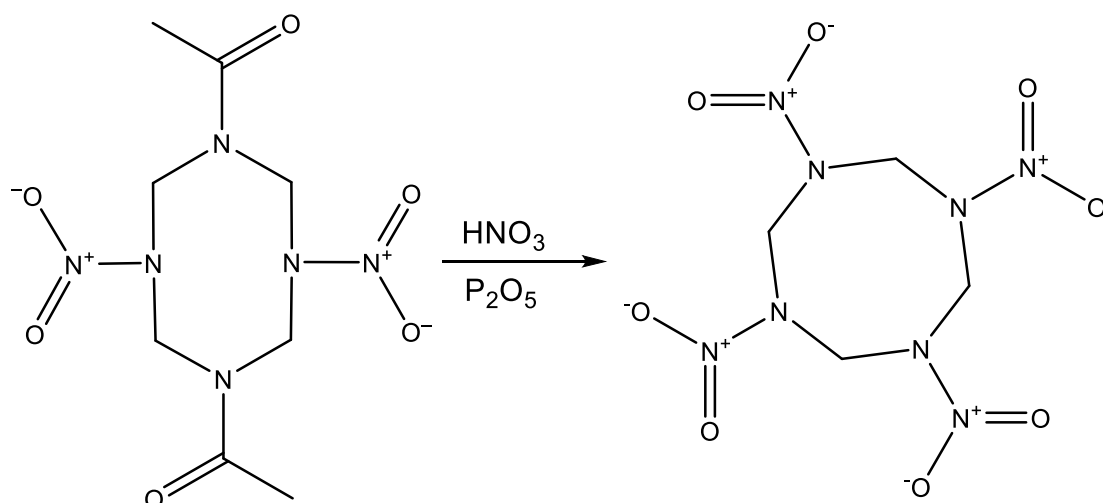


4.1.3 Syntéza HMX

4.1.3.1 Syntéza z DADN

V trojhrdlé baňce bylo smícháno 6,6 ml dýmavé kyseliny dusičné a 3,4 g oxidu fosforečného, do takto připravené nitrační směsi bylo najednou přidáno 0,4 g DADN. Obsah baňky byl míchán hodinu při teplotě 50 °C a poté 3 hodiny při pokojové teplotě. Míchání bylo zastaveno a baňka byla ponechána při pokojové teplotě dalších 20 hodin. Reakční směs byla vylita na 100 g ledu a přidáním 200 ml studené vody se vysrážel produkt. Produkt byl odfiltrován na fritě a promyt ledovou vodou. Bylo získáno 0,2 g HMX, což je 49 % z maximálního možného výtěžku. [47]

Obrázek 4.3: Schéma laboratorní přípravy HMX z DADN



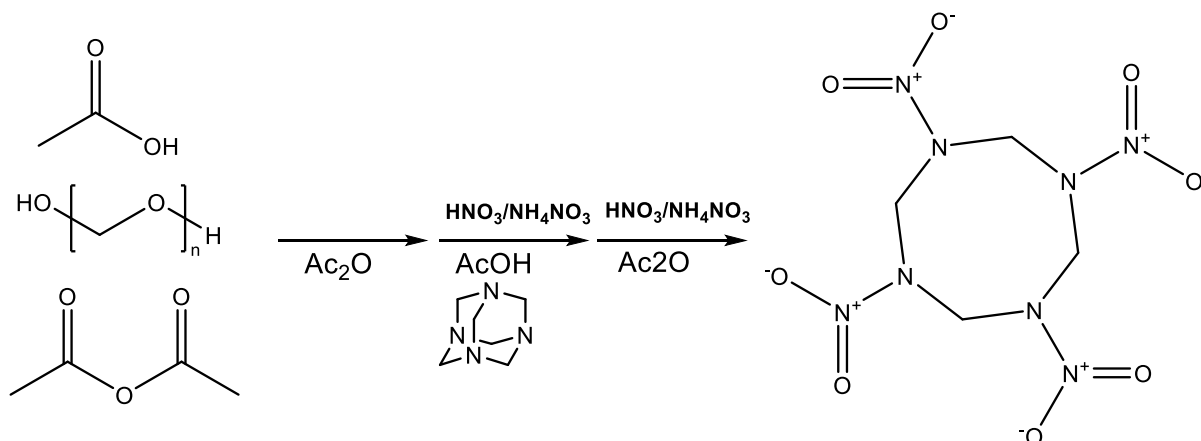
4.1.3.2 Syntéza z paraformaldehydu

Do trojhrdlé baňky bylo dáno 50 ml kyseliny octové, 0,8 g acetanhydridu a 1,0 g paraformaldehydu. Baňka byla opatřena magnetickým míchadlem, teploměrem a byly do ní zavedeny dvě přikapávací nálevky. Do první bylo nalito 11,0 g směsi připravené z 15,0 g dusičnanu amonného a 9 ml dýmavé kyseliny dusičné. Druhá nálevka byla naplněna 6,4 g hexaminu a 20 ml kyseliny octové. Směsi z obou přikapávacích nálevek byly přikapávány do

baňky po dobu 40 minut za neustálého chlazení pomocí lázně z vody a ledu, tak aby teplota nepřesáhla 45 °C. Po přidání ¼, ½ a ¾ obsahu prikapávacích nálevek byly vždy přidány 4 ml acetanhydridu a po přidání celého obsahu bylo přidáno 8 ml acetanhydridu (v průběhu prikapávání směsí bylo tedy přidáno dohromady 20 ml acetanhydridu).

Prikapávací nálevky byly doplněny, do první byl nalit zbytek (17,0 g) směsi dusičnanu amonného s kyselinou dusičnou a do druhé 25 ml acetanhydridu. Takto naplněné nálevky byly opět prikapávány po dobu 30 minut, tak aby teplota nepřesáhla 45 °C. Směs v baňce byla hodinu míchána pod teplotou 45 °C, poté do ní bylo nalito 20 ml teplé vody a byla refluxována hodinu při teplotě 90-100 °C. Následně byla směs ochlazená na okolní teplotu a vylita na 120 g ledu. Po rozmíchání s ledem se vysrážel bílý produkt. Po roztání veškerého ledu byl produkt odfiltrován, promyt ledovou vodou a usušen na vzduchu. Bylo získáno 2,2 g HMX, což je 16,3 % z maximálního možného výtěžku (vztaženo na hexamin). [48]

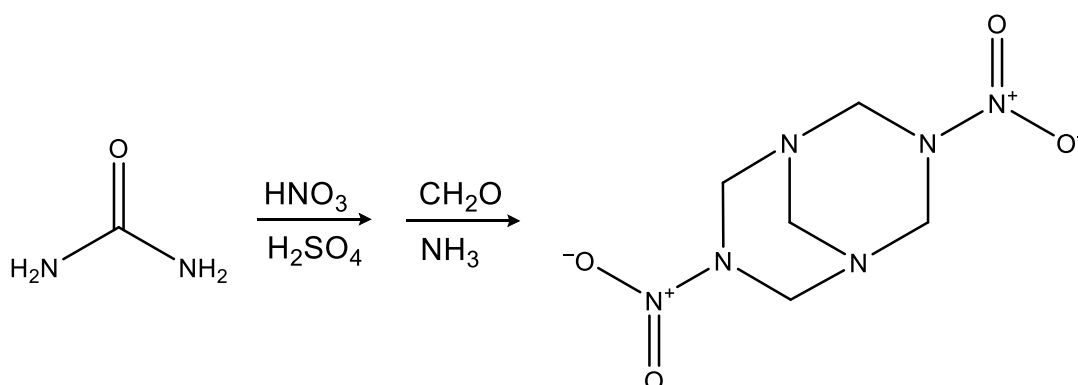
Obrázek 4.4: Schéma laboratorní přípravy HMX pomocí paraformaldehydu



4.1.4 Syntéza DPT

6,0 g močoviny bylo za stálého míchání po porcích přidáváno do směsi z 14,8 ml koncentrované kyseliny dusičné a z 15 ml 96% kyseliny sírové, tak aby teplota se teplota pohybovala v rozmezí -5 - 0°C. Po přidání močoviny byla reakční směs slita s 30 ml ledové vody. Do této směsi bylo pak přidáváno 50 ml 37% formaldehydu tak, aby teplota nepřesáhla 20 °C. Poté byla směs zahřáta na 35 °C, míchána 30 minut, ochlazená a zneutralizována na pH 6 25% amoniakem při teplotě 20-25 °C. Bílá sraženina byla odfiltrována a promyta ledovou vodou. Po rekrystalizaci z acetonu bylo získáno 3,0 g DPT, což je 13,8 % z maximálního možného výtěžku (vztaženo na močovinu). Po rekrystalizaci měl produkt teplotou tání 205 °C [49]

Obrázek 4.5: Schéma laboratorní přípravy DPT



4.1.5 Syntéza *N*-nitromočoviny

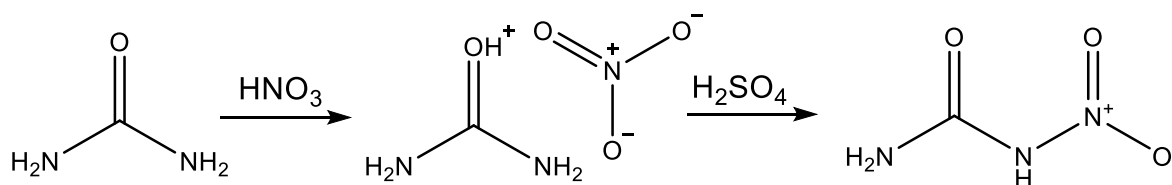
4.1.5.1 Nitrát močoviny

25,0 g močoviny a 10 ml vody bylo pomalu mícháno v kádince opatřené magnetickým míchadlem a pomalu bylo přilito 32 ml 65% kyseliny dusičné. Kádinka byla chvíli promíchávána a po zhoustnutí směsi byla kádinka dána na 20 minut do mrazáku. Nitrát močoviny byl zbaven zbývající kyseliny vakuovou filtrací na fritě. Tímto krokem bylo získáno 33,2 g nitrátu močoviny.

4.1.5.2 *N*-nitromočovina

5,5 g nitrátu bylo poté přidáváno do kádinky s 15 ml 96% kyseliny sírové, tak aby teplota nepřesáhla 0 °C. Směs byla pak míchána 40 minut a udržována na teplotě 0 °C. Následně byly do směsi přidávány kostky ledu, tak aby měla směs objem 35 ml. Vysrážený bílý produkt byl odfiltrován na fritě, promyt ledovou vodou a usušen na vzduchu. Tímto způsobem bylo získáno 3,6 g *N*-nitromočoviny. [50]

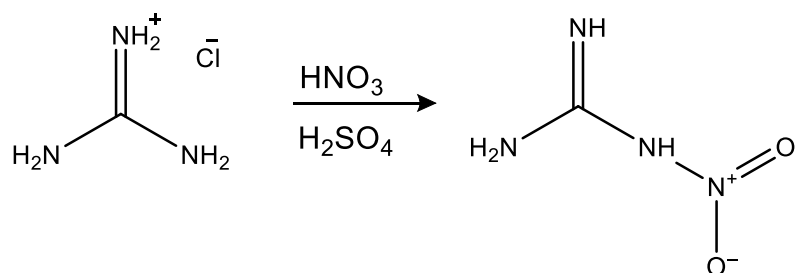
Obrázek 4.6: Schéma laboratorní přípravy *N*-nitromočoviny



4.1.6 Syntéza nitroguanidinu

Do kádinky opatřené magnetickým míchadlem bylo umístěno 24,5 ml 96% kyseliny sírové a byla zchlazena na 0 °C pomocí lázně s ledem a solí. Jakmile teplota dosáhla 0 °C, bylo za míchání po porcích přidáváno 9 g guanidin hydrochloridu a teplota směsi byla udržována stále na 0 °C. Po přidání guanidin hydrochloridu bylo do směsi přikapáváno 8 ml 65% kyseliny dusičné po dobu 40 minut při teplotě -5 - 0 °C za neustálého míchání. Po přidání kyseliny dusičné byla směs ještě 20 minut míchána při teplotě 0 °C a poté byla vylita na 50 g drceného ledu. Po roztání ledu byl produkt odfiltrován, promyt 2x10 ml ledové vody a usušen volně na vzduchu. Po rekrystalizaci produktu z vroucí vody bylo získáno 8,1 g nitroguanidinu, což je 82,6 % maximálního možného výtěžku. [48]

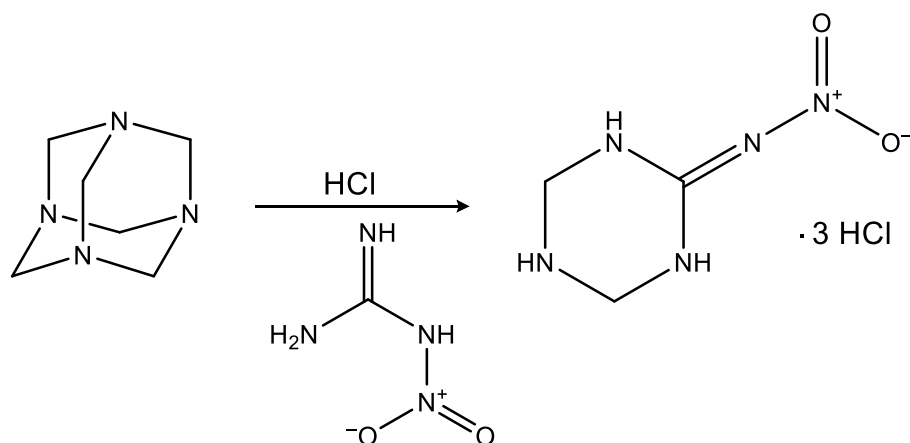
Obrázek 4.7: Schéma laboratorní přípravy Nitroguanidinu



4.1.7 Syntéza 2-nitrimino-hexahydro-1,3,5-triazinu

2,7 ml kyseliny chlorovodíkové bylo nalito do trojhrdlé baňky opatřené míchadlem, teploměrem a chladičem. Poté bylo přidáno 1,5 g nitroguanidinu a po jeho rozpuštění bylo po malých dávkách přidáváno 3,6 g hexaminu po dobu 30 minut tak, aby reakční teplota vystoupala na 38 °C. Po skončení reakce byla baňka zchlazena na laboratorní teplotu a po dobu 24 hodin byla ponechána v klidu. V průběhu 24 hodin se v baňce vytvořily krystaly 2-nitrimino-hexahydro-1,3,5-triazin trihydrochloridu, které byly odfiltrovány a promyty 2x5 ml metanolu. Tímto způsobem bylo získáno 0,8 g 2-nitrimino-hexahydro-1,3,5-triazin trihydrochloridu, což je 29,6 % z maximálního možného výtěžku. [48]

Obrázek 4.8: Schéma laboratorní přípravy 2-nitrimino-hexahydro-1,3,5-triazin trihydrochloridu

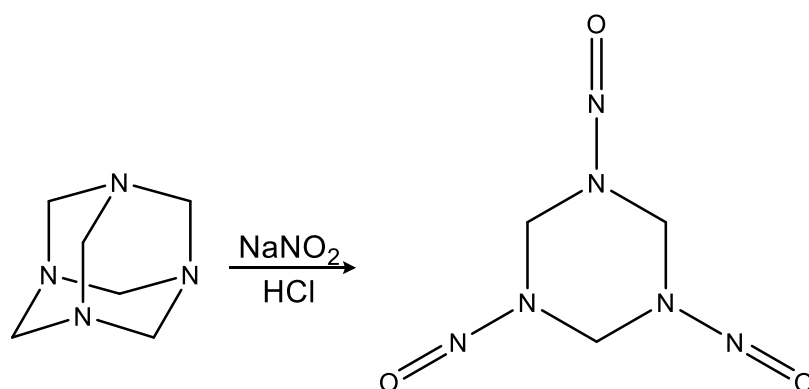


4.2 Syntéza nitrosoaminů

4.2.1 Syntéza 1,3,5-trinitroso-1,3,5-triazinu

2,0 g hexaminu byly rozpuštěny v 80 ml destilované vody, k takto připravenému roztoku bylo přilito 30 ml 10% kyseliny chlorovodíkové. Za stálého chlazení ledovou lázní bylo do kádinky přidáváno 5 g dusitanu sodného rozpuštěného v 30 ml destilované vody. Po přidání veškerého dusitanu se reakční směs začala žlutě zabarvovat a produkt se začal srážet v podobě žluté pěny, takto vysrážený produkt byl ponechán 10 minut v lednici ke ztuhnutí. Po rekrystalizaci produktu z acetonu bylo získáno 1,4 g 1,3,5-trinitroso-1,3,5-triazinu, což je 56,3 % z maximálního možného výtěžku. Produkt měl po rekrystalizaci teplotu tání 104 °C. [51]

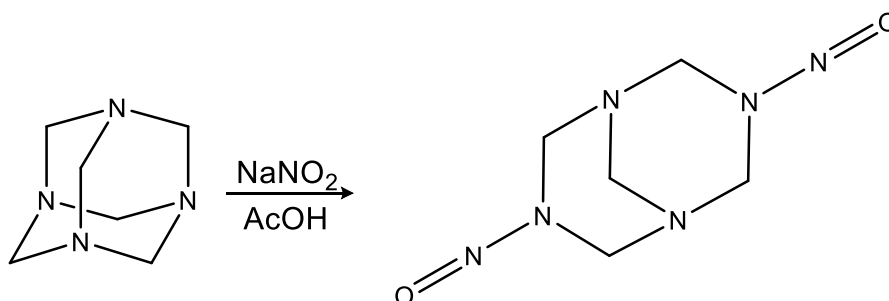
Obrázek 4.9: Schéma laboratorní přípravy 1,3,5-trinitroso -1,3,5-triazinu



4.2.2 Syntéza DNPT

Do roztoku 7,0 g hexaminu a 9,7 ml kyseliny octové v 250 ml destilované vody byl přidáván po dobu 10 minut za neustálého míchání ledový roztok 10,4 g dusitanu sodného v 50 ml destilované vody. Po přidání roztoku dusitanu se vysrážel žlutě zbarvený produkt. Kádinka byla hodinu ponechána v lednici, aby produkt ztuhnul. Následně byl produkt odfiltrován a promyt 10 ml studené vody. Po rekrystalizaci produktu z acetonu bylo získáno 4,9 g dinitrosopentamethylentetraminu (DNPT), což je 52,7 % z maximálního možného výtěžku. Takto získaný produkt měl teplotu tání 205 °C. [51]

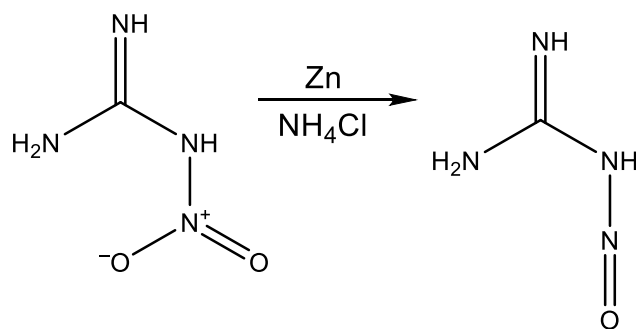
Obrázek 4.10: Schéma laboratorní přípravy dinitrosopentamethylentetraminu



4.2.3 Syntéza N-nitrosoguanidinu

Do kádinky s 50 ml destilované vody, 0,84 g N-nitroguanidinu a 20 g nadrceného ledu bylo přidáno 0,72 g práškového zinku a vše bylo důkladně promícháno. Pomocí kapátka byl poté do kádinky přikapáván za stálého míchání roztok 0,44 g chloridu amonného v 10 ml destilované vody tak, aby teplota reakční směsi nepřesáhla 25 °C. Během přidávání roztoku chloridu amonného se reakční směs zbarvila z šeda do zelena. Zelený produkt byl poté odfiltrován přes skládaný papírový filtr a byl promyt ledovou vodou. Bylo připraveno 0,61 g N-nitrosoguanidinu, to je 85,1 % z maximálního možného výtěžku. [52]

Obrázek 4.11: Schéma laboratorní přípravy *N*-nitrosoguanidinu

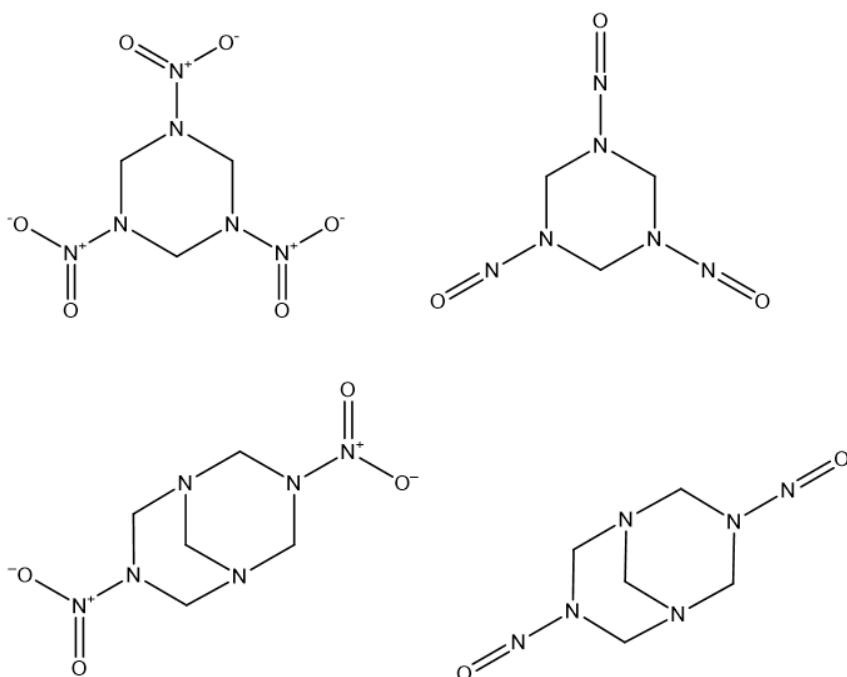


4.3 Test inhibice růstu okřehku menšího

K testování toxicity byly vybrány dvě dvojice látek s totožnou strukturou, lišící se pouze funkčními skupinami. Jde o *1,3,5-trinitro-1,3,5-triazinan* (dále jen *RDX*), *1,3,5-trinitroso-1,3,5-triazinan* (dále jen *TNX*), *3,7-dinitro-1,3,5,7-tetrazabicyklo[3.3.1]nonan* (dále jen *DPT*) a *3,7-dinitroso-1,3,5,7-tetrazabicyklo[3.3.1]nonan* (dále jen *DNPT*).

Výsledkem testu by měly být inhibiční koncentrace $_{168h}IC_{50}$.

Obrázek 4.12: Strukturální vzorce testovaných látek *RDX*, *TNX*, *DPT* a *DNPT*



4.3.1 Příprava koncentračních řad testovaných látek

Jako médium bylo pro test toxicity nitraminů vybrán 2% roztok acetonu v ředící vodě, která byla připravena smícháním zásobních roztoků živin a destilované vody. [20]

Tabulka 4.1: Vliv acetonu na růst okřehku menšího [20]

Roztok rozpouštědla (%)	μ	Inhibice růstu (%)
1	0,0032	33
2	0,0028	40
4	0,0006	88

Příprava ředící vody:

Do 1000 ml odměrné baňky bylo napipetováno 20 ml zásobního roztoku č. 1, č. 2 a č. 3 a 1 ml zásobního roztoku č. 4, č. 5, č. 6, č. 7 a č. 8. Po napipetování zásobních roztoků byla baňka doplněna po rysku destilovanou vodou.

Tabulka 4.2: Zásobní roztoky pro namíchání ředící vody a jejich složení

Zásobní roztok č. 1	NaNO ₃ (17,5 g/l) KH ₂ PO ₄ (4,5 g/l) K ₂ HPO ₄ (0,63 g/l)
Zásobní roztok č. 2	MgSO ₄ · 7H ₂ O (5 g/l)
Zásobní roztok č. 3	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O (14,75 g/l)
Zásobní roztok č. 4	H ₃ BO ₃ (120 mg/l)
Zásobní roztok č. 5	ZnSO ₄ · 7H ₂ O (180 mg/l)
Zásobní roztok č. 6	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O (44 mg/l)
Zásobní roztok č. 7	MnCl ₂ · 4H ₂ O (180 mg/l)
Zásobní roztok č. 8	FeCl ₃ · 6H ₂ O (0,76 g/l) Na ₂ EDTA · 2H ₂ O (1,5 g/l)

Základní koncentrační řady pro všechny látky byly v rozmezí 0,01 – 100 mg/l a byly připraveny následujícím způsobem:

První byly připraveny zásobní roztoky o koncentracích 5 g/l, 50 mg/l a 0,5 mg/l, z nich byly dále ředěny ostatní koncentrace podle tabulky 4.3.

Tabulka 4.3: Příprava zásobních roztoků látek

ZR 1	250 mg látky + 50 ml acetonu
ZR 2	0,1 ml ZR 1 + 9,9 ml acetonu
ZR 3	0,1 ml ZR 2 + 9,9 ml acetonu

Tabulka 4.4: Příprava koncentračních řad látek pro orientační test

100 mg/l	98 ml ŘV + 2 ml ZR 1
10 mg/l	98 ml ŘV + 0,2 ml ZR 1 + 1,8 ml acetonu
1 mg/l	98 ml ŘV + 2 ml ZR 2
0,1 mg/l	98 ml ŘV + 0,2 ml ZR 2 + 1,8 ml acetonu
0,01 mg/l	98 ml ŘV + 2 ml ZR 3

U látek RDX a TNX bylo provedení orientačního testu v koncentračním rozmezí 0,01-100 mg/l neobjektivní a hodnotu IC₅₀ nebylo možno určit.

RDX bylo podrobenu základnímu testu v koncentračním rozmezí 10-200 mg/l a TNX v rozmezí 10-100 mg/l.

Tabulka 4.5: Příprava koncentrační řady pro základní test u RDX

200 mg/l	98 ml ŘV + 20 mg RDX + 2 ml acetonu
150 mg/l	98 ml ŘV + 15 mg RDX + 2 ml acetonu
100 mg/l	98 ml ŘV + 2 ml ZR 1
50 mg/l	98 ml ŘV + 1 ml ZR 1 + 1 ml acetonu
10 mg/l	98 ml ŘV + 0,2 ml ZR 1 + 1,8 ml acetonu

Tabulka 4.6: Příprava koncentrační řady pro základní test TNX

100 mg/l	98 ml ŘV + 2 ml ZR 1
70 mg/l	98 ml ŘV + 1,4 ml ZR 1 + 0,6 ml acetonu
50 mg/l	98 ml ŘV + 1 ml ZR 1 + 1 ml acetonu
30 mg/l	98 ml ŘV + 0,6 ml ZR 1 + 1,4 ml acetonu
10 mg/l	98 ml ŘV + 0,2 ml ZR 1 + 1,8 ml acetonu

4.3.2 Průběh testu

Koncentrace všech toxikantů u orientačního i základního testu byly nality do 150 ml kádinek. Do každé z kádinek včetně kontrol bylo přeneseno 9 lístků okřehku a kádinky byly přikryty Petriho miskami.

Kádinky byly umístěny do laboratoře se stálou teplotou 24-25 °C pod umělé osvětlení, kde byly nepřetržitě po dobu 7 dní.

Každých 24 hodin byl zaznamenáván počet lístků okřehku a jejich případná chloróza (nažloutlá tkáň) nebo nekróza (bílá rozmočená tkáň).

5 VÝSLEDKY

Z několika existujících metod pro stanovení inhibice růstu okřehku menšího byla použita metoda stanovení na základě růstové rychlosti. Růstová rychlost byla měřena v různých koncentracích testované látky a v kontrole a podle vztahů z experimentální části byla vypočítána jejich inhibice.

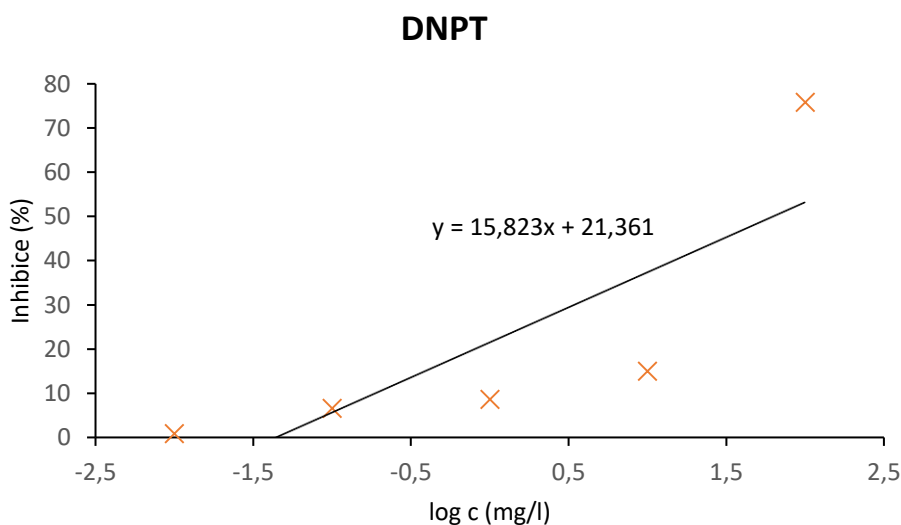
5.1 Výsledky orientačního testu

V kontrole (2% roztok acetonu v ředící vodě) bylo na konci testu 97 lístků okřehku a byla tak splněna podmínka validity testu (nárůst počtu lístků v kontrole na osminásobek). Růstová rychlost v kontrole byla tak stanovena na hodnotu 0,3442.

Tabulka 5.1: Výsledky orientačního testu látky DNPT

Koncentrace (mg/l)	Růstová rychlost μ	I_μ (%)
0,01	0,3367	0,9
0,1	0,3174	6,6
1	0,3103	8,6
10	0,2889	14,9
100	0,0822	75,8

Obrázek 5.1: Graf závislosti inhibice na logaritmu koncentrace DNPT



Rovnice lineární regrese odečtená z grafu pro DNPT:

$$y = 15,823x + 21,361$$

Příklad výpočtu IC_{50} pro DNPT:

$$50 = 15,823x + 21,361$$

$$x = \frac{50 - 21,361}{15,823} = 1,81$$

$$IC_{50} = 10^x = 10^{1,81} = 64,56 \text{ mg/l}$$

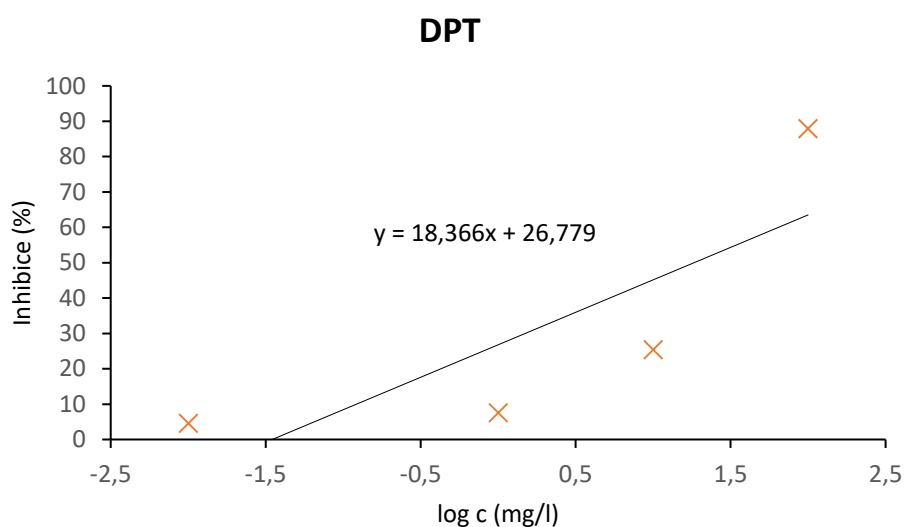
Pomocí této rovnice byla vypočítána hodnota koncentrace odpovídající 50% inhibici:

${}_{168h}IC_{50}$ 64,56 mg/l

Tabulka 5.2: Výsledky orientačního testu látky DPT

Koncentrace (mg/l)	Růstová rychlost μ	I_{μ} (%)
0,01	0,3241	4,6
0,1	0,2421	28,7
1	0,3139	7,6
10	0,2533	25,4
100	0,0411	87,9

Obrázek 5.2: Graf závislosti inhibice na logaritmu koncentrace DPT



Rovnice lineární regrese odečtená z grafu pro DPT:

$$y = 18,366x + 26,779$$

Pomocí této rovnice byla vypočítána hodnota koncentrace odpovídající 50% inhibici:

${}_{168h}IC_{50}$ 18,38 mg/l

Tabulka 5.3: Výsledky orientačního testu RDX

Koncentrace (mg/l)	Růstová rychlost μ	I_{μ} (%)
0,01	0,3048	10,3
0,1	0,3191	6,1
1	0,3305	2,7
10	0,3257	4,1
100	0,2825	16,8

Tabulka 5.4: Výsledky orientačního testu TNX

Koncentrace (mg/l)	Růstová rychlost μ	I_{μ} (%)
0,01	0,3029	10,8
0,1	0,3321	2,2
1	0,3367	0,9
10	0,3367	0,9
100	0,0631	81,4

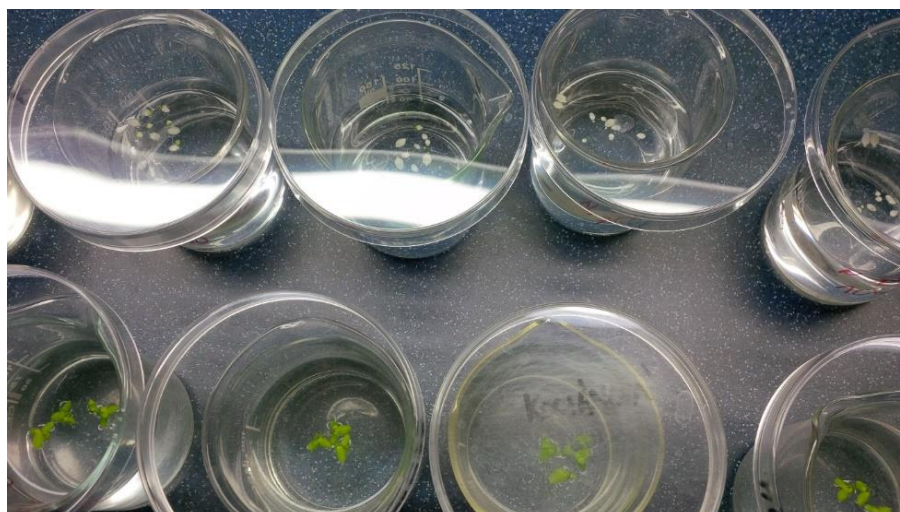
U látek RDX a TNX nebylo možno faktor $_{168h}IC_{50}$ objektivně stanovit. U RDX nedošlo k výraznější inhibici růstové rychlosti u žádné koncentrace. V testu TNX u nejvyšší koncentrace došlo k inhibici 81,4 %, ale ani tak nebylo možno sestavit přímkou lineární regrese pro vyhodnocení faktoru. Obě látky musely být tedy podrobeny základnímu testu s jiným koncentračním rozmezím.

5.2 Výsledky základního testu RDX a TNX

U základního testu v kontrole vyrostlo pouze 22 lístků z původních 9, nebyla tedy splněna podmínka nárůstu osminásobku lístků z jejich původního počtu. Test musel být vyhodnocen jako neplatný.

Na lístcích v kontrole byla zpozorována nepatrná nekróza, chloróza a také plíseň na kořincích rostliny. Z porovnání nekrózy a chlorózy u testovaných látek lze tvrdit, že více toxickou látkou je TNX. U všech testovaných koncentrací TNX došlo k rozmočení a k zblednutí tkáně lístků, oproti tomu v koncentracích látky RDX byl stav stejný jako v kontrole a k rozmočení lístků nedošlo (viz obrázek 5.3).

Obrázek 5.3: Základní test - nahoře TNX, dole RDX



6 DISKUZE VÝSLEDKŮ

Kvůli nesplnění podmínek pro platnost základního testu mohly být určeny faktory $_{168h}IC_{50}$ jen u dvou látek ze čtyř.

Již z orientačního testu mohly být určeny inhibiční koncentrace $_{168h}IC_{50}$ u látek DNPT a DPT. U látky DNPT byla hodnota inhibiční koncentrace $_{168h}IC_{50}$ vypočítána na 64,56 mg/l, u DPT na 18,38 mg/l. Z grafu pro DPT (viz obrázek 5.2) musel být odstraněn bod představující inhibici při koncentraci 0,1 mg/l, kádinka s touto koncentrací musela být před použitím znečištěna, došlo v ní totiž k nepřiměřené inhibici.

U RDX a TNX nebylo možno hodnoty IC_{50} z orientačního testu určit a muselo se přistoupit k základnímu testu, kde byla látka RDX testována v rozmezí koncentrací 10-200 mg/l a TNX v rozmezí 10-100 mg/l. Nedošlo ke splnění podmínek platnosti testu, rostlina byla na kořincích pokryta plísní a při množení rostliny se tvořily kolonie zakrslých lístků. Přestože test nesplnil očekávání, bylo z něj možno vypočítat rozdíl v toxicitě testovaných látek. U RDX byl stav rostliny stejný jako v kontrole, ale u TNX došlo ke kompletní nekróze všech rostlin.

Orientační test u TNX napověděl, že hodnota $_{168h}IC_{50}$ této látky se bude nacházet v rozmezí 10-100 mg/l.

RDX se projevvalo ze všech testovaných látek nejméně toxicky, hodnotu jeho $_{168h}IC_{50}$ lze těžko odhadovat. V orientačním testu koncentrace 100 mg/l vykazovala 16,8% inhibici, při základním testu v koncentraci 200 mg/l (skoro nasycený roztok) nebyly pozorovány žádné změny oproti kontrole.

Výsledky mohly být ovlivněny odpařováním acetonu, ve kterém byly testované látky rozpuštěny. Kádinky nebyly dokonale utěsněny a díky odpaření acetonu byly zejména v nejvyšších koncentracích pozorovány vypadnuvší krystaly testovaných látek.

Tabulka 6.1: Souhrn výsledků čtyř testovaných látek

Test. látka	RDX	TNX	DPT	DNPT
$_{168h}IC_{50}$ (mg/l)	-	10-100	18,38	64,56

Na základě provedených testů můžeme označit testované látky TNX, DPT a DNPT za škodlivé pro vodní organismy (viz tabulka 6.2).

Tabulka 6.2: Hodnocení chemických látek a přípravků se provádí dle nařízení vlády č. 25/1998 a podle vyhlášky MZe ČR č.84/1997 [53]

R věty	Míra toxicity	IC_{50}
R 50	Vysoce toxické pro vodní organismy	$IC_{50} \leq 1$ mg/l
R 51	Toxické pro vodní organismy	1 mg/l < $IC_{50} \leq 10$ mg/l
R 52	Škodlivé pro vodní organismy	10 mg/l < $IC_{50} \leq 100$ mg/l

7 ZÁVĚR

Z provedeného testu toxicity na okřehekku menším (*Lemna Minor*) bylo možno posoudit velikost vlivu toxicity na testovaný organismus. Testem byly zjištěny inhibiční koncentrace $_{168h}IC_{50}$ u látky DNPT 64,56 mg/l a u látky DPT 18,38 mg/l.

Přestože podmínky platnosti u testování RDX a TNX nebyly splněny, byl pozorován větší účinek toxicity u TNX. Hodnota $_{168h}IC_{50}$ pro TNX je odhadována na základě orientačního testu na 10-100 mg/l.

RDX se v testech prokazovalo nejmenší toxicitu ze všech testovaných látek, její hodnotu IC_{50} ale nelze z testů ani odhadnout.

Průběh testu naznačil, že tři ze čtyř (DNPT, DPT a TNX) testovaných látek jsou škodlivé pro vodní organismy.

RDX, které je vyráběno pro vojenské účely nebylo v testu shledáno toxickým, avšak je možné, že tato látka toxicky působí v průběhu své degradace, jejíž meziproduktem jsou některé *N*-nitrosolátky (např. TNX).

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. URBAŃSKI, Tadeusz. *Chemie a technologie výbušnin – III. díl*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1958.
2. BECKER, Naomi. Fate of selected high explosives in the environment: A literature review [online]. 1995 [cit. 2017-04-30]. Dostupné z: http://www.sciencemadness.org/lanl2_a/lib-www/la-pubs/00276619.pdf
3. KALDERIS, Dimitrios, Albert L. JUHASZ, Raj BOOPATHY a Steve COMFORT. Soils contaminated with explosives: Environmental fate and evaluation of state-of-the-art remediation processes (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* [online]. 2011-01-7, 83(7), - [cit. 2017-05-01]. DOI: 10.1351/PAC-REP-10-01-05. ISSN 1365-3075. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/pac.2011.83.issue-7/pac-rep-10-01-05/pac-rep-10-01-05.xml>
4. PENNINGTON, Judith C. a James M. BRANNON. Environmental fate of explosives. *Thermochimica Acta* [online]. 2002, 384(1-2), 163-172 [cit. 2017-05-01]. DOI: 10.1016/S0040-6031(01)00801-2. ISSN 00406031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040603101008012>
5. WAGNER, Elizabeth D., Jennifer OSIOL, William A. MITCH a Michael J. PLEWA. Comparative in Vitro Toxicity of Nitrosamines and Nitramines Associated with Amine-based Carbon Capture and Storage. *Environmental Science* [online]. 2014, 48(14), 8203-8211 [cit. 2017-05-01]. DOI: 10.1021/es5018009. ISSN 0013-936x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es5018009>
6. AKHAVAN, Jacqueline. *The chemistry of explosives*. Repr. Cambridge: Royal Soc. of Chemistry, 1998. ISBN 978-085-4045-631.
7. *Chemie, pyrotechnika, trhavyiny. Project X. vs Detonator* [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <http://cairo.wz.cz/PXD/cl/home.htm>
8. WEINHEIMER, Robert. *Properties of Selected High Explosives* [online]. 2002 [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <http://www.psemc.com/wp-content/uploads/2015/04/Properties-Selected-High-Explosives.pdf>
9. YI, Wen-Bin a Chun CAI. Synthesis of RDX by nitrolysis of hexamethylenetetramine in fluorous media. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2008, 150(3), 839-842 [cit. 2017-05-12]. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.10.040. ISSN 03043894. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389407014860>
10. MATYS, Z., D. POWAŁA, A. ORZECZOWSKI a A. MARANDA. Methods for obtaining octogen (hmx). *CHEMIK*. 2012, 66(1), 58-63.

11. NAIR, U. R., R. SIVABALAN, G. M. GORE, M. GEETHA, S. N. ASTHANA a H. SINGH. Hexanitrohexaazaisowurtzitane (CL-20) and CL-20-based formulations (review). *Combustion, Explosion, and Shock Waves* [online]. 2005, 41(2), 121-132 [cit. 2017-05-05]. DOI: 10.1007/s10573-005-0014-2. ISSN 0010-5082. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10573-005-0014-2>
12. BOLTON, Onas a Adam J. MATZGER. Improved Stability and Smart-Material Functionality Realized in an Energetic Cocrystal. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2011, 50(38), 8960-8963 [cit. 2017-05-05]. DOI: 10.1002/anie.201104164. ISSN 14337851. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201104164>
13. VAN DER HEIJDEN, Antoine E. D. M. a Richard H. B. BOUMA. Crystallization and Characterization of RDX, HMX, and CL-20. *Crystal Growth*. 2004, 4(5), 999-1007. DOI: 10.1021/cg049965a. ISSN 1528-7483. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cg049965a>
14. KOCH, Ernst-Christian. TEX - 4,10-Dinitro-2,6,8,12-tetraoxa-4,10-diazatetracyclo[5.5.0.0 5,9 .0 3,11]-dodecane - Review of a Promising High Density Insensitive Energetic Material. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics* [online]. 2015, 40(3), 374-387 [cit. 2017-05-05]. DOI: 10.1002/prop.201400195. ISSN 07213115. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/prop.201400195>
15. MUSTAFA, Ahmed a Ahmed Anwar ZAHRAN. Tetryl, Pentyl, Hexyl, and Nonyl. Preparation and Explosive Properties. *Journal of Chemical* [online]. 1963, 8(1), 135-150 [cit. 2017-05-05]. DOI: 10.1021/je60016a042. ISSN 0021-9568. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/je60016a042>
16. PROKEŠ, Jaroslav. *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-726-2301-X.
17. PAVLÍKOVÁ, Daniela. *Ekotoxikologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, 2008. ISBN 978-80-213-1843-4
18. KOČÍ, Vladimír a Klára MOCO VÁ. *Ekotoxikologie pro chemiky*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. ISBN 978-80-7080-699-9.
19. Testy akutní a semichronické toxicity [online]. [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: http://ekotoxikologie.sweb.cz/toxlab/vyuka/obecna.htm#_Toc525629224

20. MARCELOVÁ, Štěpánka. *Toxicita nitroderivátů toluenu a produktů jejich transformací*. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. Vedoucí práce Ing. Karel Bednařík, Ph.D.
21. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. Testy toxicity na korýších. From *Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2017-05-11]. Dostupné z www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=T002
22. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. Testy toxicity na rybách. From *Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2017-05-11]. Dostupné z www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=T003
23. Taxonomy - Danio rerio (Zebrafish) (Brachydanio rerio). *UniProt* [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <http://www.uniprot.org/taxonomy/7955>
24. *Poecilia reticulata*. *ZipcodeZoo* [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: http://zipcodezoo.com/index.php/Poecilia_reticulata
25. HÁJKOVÁ, T. Využití řasových testů v ekotoxikologii. Brno : Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 61 s. Vedoucí diplomové práce Mgr. Helena Doležalová Weissmannová, Ph.D.
26. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Test toxicity na řasách*. From *Encyklopedie hydrobiologie : výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2017-05-11]. Dostupné z www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=T001
27. JANEČKOVÁ, Petra. *Ekotoxikologický screening léčiv – Paralen tbl. a Panadol tbl*. Hradec Králové, 2010. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci králové. Vedoucí práce Mgr. Jitka Vytlačilová.
28. *Sinapis Alba / Lactuca sativa L. VUSTAH* [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <http://www.vustah.cz/zamereni-spolecnosti/zvasl/akreditovane-laboratore/>
29. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Mikrobiotesty*. From *Encyklopedie hydrobiologie : výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2017-05-12]. Dostupné z www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=M018
30. BALLNÉROVÁ, P. *Ekotoxikologické testy a jejich aplikace k hodnocení vedlejších energetických produktů*. Brno: Vysoké učení technické v Brno, Fakulta chemická, 2009. 116 s. Vedoucí diplomové práce MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.

31. THAMNOTOXKIT F Crustacean Toxicity Screening Test for Freshwater. *MicroBio Tests* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Thamnotoxkit%20F%20SOP%20-%20A5.pdf>
32. *Thamnotoxkit F* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.sinice.cz/index.php?pg=aktuality--vybaveni-laboratori--ekotoxikologicke-biotesty>
33. DAPHTOXKIT F MAGNA Crustacean Toxicity Screening Test for Freshwater. *MicroBio Tests* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Daphtoxkit%20magna%20F%20SOP%20-%20A5.pdf>
34. *Daphtoxkit F Magna* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.ecotox.it/prodotti/ecotossicologia/daphtoxkit-f-magna/>
35. ROTOXKIT F: Rotifer Toxicity Screening Test for Freshwater. *MicroBio Tests* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Rotoxkit%20F%20acute%20SOP%20-%20A5.pdf>
36. *Brachionus calyciflorus* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.plingfactory.de/Science/Atlas/KennkartenTiere/Rotifers/01RotEng/source/Brachionus%20calyciflorus1.html>
37. *Rotoxkit F* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.sepra.gt/index.php/2016-03-11-00-30-55/2016-03-11-00-31-44/toxkits-de-agua-dulce-y-terrestres/24-rotoxkit-f>
38. ALGALTOXKIT F: Freshwater Toxicity Test with Microalgae. *MicroBio Tests* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Algaltoxkit%20F%20SOP%20-%20A5.pdf>
39. RAPIDTOXKIT: Microbiotest for rapid detection of water contamination. *MicroBio Tests* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/SOPs/Rapidtoxkit%20F%20SOP%20-%20A5.pdf>
40. *Thamnocephalus platyurus*. *MicroBio Tests* [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/type-of-application/chemicals/>
41. BAKALOVÁ, L. *Testy fytoxicity a jejich využití pro hodnocení vlivu xenobiotik*. Bakalářská práce, Masarykova univerzita Brno, 2006, 41 s. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/106666/prif_b/bakalarka_nova.pdf
42. LEMNA MINOR L. – okřehek menší / žaburinka menšia. *Botany.cz* [online]. 2012 [cit. 2017-02-02]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/lemna-minor/>

43. DUCK WEED (LEMNA MINOR). *ASCOT VALE GARDEN CENTRE* [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <http://www.ascotvalegardencentre.com.au/product/duck-weed-lemna-minor/>
44. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. Aplikovaná a technická hydrobiologie. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-708-0521-8.
45. Stanovení účinnosti čištění odpadních vod pomocí mikrometody, testu na okřehku menším (Lemna minor) [online]. [cit. 2017-05-09]. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/bednarova-prezentace.pdf>
46. HALE, George C. THE NITRATION OF HEXAMETHYLENETETRAMINE 1,2. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1925, 47(11), 2754-2763 [cit. 2017-05-05]. DOI: 10.1021/ja01688a017. ISSN 0002-7863. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01688a017>
47. AMPLEMAN G, MAROIS A, THIBOUTOUT S, HAWARI J, GREER C W, GODBOUT J, SUNAHARA G. I, SHEN C. F, GUIOT S. Synthesis of ¹⁴C-labelled octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX) and ¹⁵N-isotopically labelled hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) for use in microcosm experiments. DREV-TR-1999-99. Quebec, Canada: Defence Research Establishment Valcartier, Val Bélair; 1999.
48. LEDGARD, Jared. The preparatory manual of explosives: a book. 3rd ed. [S.l.: s.n.], 2007. ISBN 978-061-5142-906.
49. BING, L. I. U. Xiao a L. U. MING. Synthesis of 3,7-Dinitro-1,3,5,7-tetraazabicyclo-[3,3,1]nonane (DPT) Using Task-Specific Ionic Liquids as Recoverable Catalysts. *E-Journal of Chemistry* [online]. 2011, 8(1), 97-100 [cit. 2017-05-06]. DOI: 10.1155/2011/573540. ISSN 0973-4945. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/jchem/2011/573540/>
50. Nitrourea preparation scaled up [online]. [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=VU5PeBthkyI>
51. BACHMANN, W. E. a N. C. DENO. The Nitrosation of Hexamethylenetetramine and Related Compounds 1. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1951, 73(6), 2777-2779 [cit. 2017-05-05]. DOI: 10.1021/ja01150a102. ISSN 0002-7863. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01150a102>
52. TENNEY L. DAVIS. The chemistry of powder and explosives. Reprinted. Hollywood, Calif: Angriff Press, 1984. ISBN 09-130-2200-4.
53. Toxicita. *Oddělení rybářství a hydrobiologie* [online]. [cit. 2017-05-12]. Dostupné z: <http://www.rybarstvi.eu/dok%20rybari/toxicita.pdf>

9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

RDX	1,3,5-trinitro-1,3,5-triazinan
HMX	1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazokan
TNT	2,3,6-trinitrotoluen
HNIW	2,4,6,8,10,12-Hexanitro-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyklo[5.5.0.0 ^{3,11} .0 ^{5,9}]dodekan
TEX	4,10-dinitro-2,6,8,12-tetraoxa-4,10-diazotetracyklo[5,5,0 ^{5,9} ,0 ^{3,11}] dodekan
TENGU	1,3,5,7-tetranitroglykouril
C-4	Composition 4 – plastická trhavina
HBX	High Blast Explosive – plastická trhavina
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
CAS	Chemical Abstracts Service
DPT	3,7-dinitro-1,3,5,7-tetrazabicyklo[3.3.1]nonan
HBIW	2,4,6,8,10,12-hexabenzyl-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitan
TAIW	4,10-dibenzyl-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitan
DFTHP	1,4-diformyl-2,3,5,6-tetrahydroxypiperazin
LD ₅₀	letální dávka, při které zahyne 50 % všech organismů
LC ₅₀	letální koncentrace, při které zahyne 50 % všech organismů
EC ₅₀	efektivní koncentrace, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50 % všech organismů
IC ₅₀	inhibiční koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou

NOEC	<i>No Observed Effect Concentration</i> - nejvyšší testovaná koncentrace látky, u které ještě nebyl pozorován významný účinek ve srovnání s kontrolou
LOEC	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i> - nejnižší koncentrace testované látky v testu, při které byl pozorován již významný účinek ve srovnání s kontrolou
NOAEL	<i>No Observed Adverse Effect Level</i> - množství nebo koncentrace toxikantu, při kterém může být účinek látky pozorován, není však považován za nežádoucí
LOAEL	<i>Low Observed Adverse Effect Level</i> - nejnižší testovaná koncentrace toxikantu, při které jsou již pozorovány nežádoucí účinky
ČSN EN ISO	Česká technická norma
TNV	Česká norma vodohospodářská
ASTM	American society for Testing and Materials; americká společnost pro testování a materiály
US EPA	United States Environmental Protection Agency
EEC	European Economic Community
AFNOR	Association Francoise de Normalisation
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development; mezinárodní organizace, která provádí standardizaci
DADN	1,5-diacetyl-3,7-dinitro-1,3,5,7-tetraazacyklooktan
TNX	1,3,5-trinitroso-1,3,5-triazinan
DNPT	3,7-dinitroso-1,3,5,7-tetrazabicyklo[3.3.1]nonan
MZe ČR	Ministerstvo zemědělství České republiky