

ABITEC

Citlivost terestrických zkoušek ekotoxicity

Robin Kyclt, Vít Matějů, Simona Vosáhlová, Sandra Pšeničková

ABITEC, s.r.o., info@abitec.cz, , laborator@abitec.cz

Radiová 7, 102 31 Praha 10

Legislativa odpadů

- Vyhláška č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu

| Vyhláška č. 294/2005 Sb., Příloha č. 10 | | |
|---|------------------------|--------|
| Tabulka č. | Organismus | Limit |
| 10.2 neřaděný výluh | Ryby | 0 % |
| | Dafnie | 30 % |
| | Řasy | ± 30 % |
| | Hořčice | ± 30 % |
| 10.4 neřaděný výluh | Luminiscenční bakterie | ± 20 % |
| | Dafnie | 20 % |
| | Řasy | ± 20 % |
| 50 %hm. | Salát terestrický | ± 30 % |

Ekotoxicita podle Tabulky č. 10.2. - toxicita způsobená látkami ve vodě málo rozpustnými nebo nerozpustnými nebude prokázána.

Legislativa odpadů

- ▶ vyhláška č. 94/2016 Sb., o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů

| Vyhláška č. 94/2016 Sb., Příloha č. 10 | | |
|--|------------------------|------------------------------|
| Tabulka č. | Organismus | Limit |
| 1.1 | Ryby | LC50 ≤ 10 ml.l ⁻¹ |
| | Dafnie | EC50 ≤ 10 ml.l ⁻¹ |
| | Řasy | IC50 ≤ 10 ml.l ⁻¹ |
| | Hořčice | IC50 ≤ 10 ml.l ⁻¹ |
| 1.2 Výluh 100 ml.l ⁻¹ | Luminiscenční bakterie | 20 % |
| | Dafnie | 20 % |
| | Řasy | ± 20 % |
| 10 %hm. | Salát terestrický | ± 30 % |

Vlastník odpadu se může rozhodnout, kterou sadu zkoušek využije.

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

- ▶ Stanovení jako NEL v původní zemině a ve vodném výluhu, připraveném podle ČSN EN 12457-4.

Koncentrace NEL v původním vzorku a ve vodném výluhu vzorku

| Vzorek | 1 | 2 | 3 |
|--|-------|-------|-------|
| NEL [$\text{mg.kg}_{\text{suš}}^{-1}$] | 43600 | 28300 | 23200 |
| NEL [mg.l^{-1}] | 24 | 4,0 | 3,5 |

- ▶ Lze očekávat odlišnou ekotoxicitu stanovenou terestrickými a akvatickými zkouškami.



Ekotoxicita ropných uhlovodíků

- ▶ Zkoušky s 10 odpady, kde byly ropné uhlovodíky dominantním kontaminantem.
- ▶ Zkoušky s rostlinami: hořčice, salát, okurka, ječmen, pšenice.
- ▶ Akvatické (modifikace metody pro hořčici podle Metodického pokynu MŽP z r. 2007) i terestrické zkoušky(ISO 11269-1).

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

► Zkouška růstu kořene hořčice

| Vzorek č. | NEL [mg.kg _{suš} ⁻¹] | Akvatická zkouška | | Terestrická zkouška | |
|-----------|---|-------------------|----------|---------------------|----------|
| | | I [%] | Toxicita | I [%] | Toxicita |
| 1 | 370 | 14,1 | - | - 19,9 | - |
| 2 | 420 | - 55,7 | + | - 0,7 | - |
| 3 | 430 | 21,5 | - | 54,2 | + |
| 4 | 620 | - 21,8 | - | 16,1 | - |
| 5 | 910 | - 17,4 | - | - 33,7 | + |
| 6 | 1370 | - 31,1 | + | 33,6 | + |
| 7 | 2550 | - 24,3 | - | - 7,5 | - |
| 8 | 4060 | - 9,1 | - | 23,8 | - |
| 9 | 5450 | - 26,7 | - | 47,6 | + |
| 10 | 14900 | 24,8 | - | 46,3 | + |

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

► Zkouška růstu kořene salátu

| Vzorek č. | NEL [mg.kg _{suš} ⁻¹] | Akvatická zkouška | | Terestrická zkouška | |
|--------------|--|-------------------|----------|---------------------|----------|
| | | I [%] | Toxicita | I [%] | Toxicita |
| 1 | 370 | - 16,7 | - | 16,8 | - |
| 2 | 420 | - 40,0 | + | 59,1 | + |
| 3 | 430 | - 66,7 | + | 100,0 | + |
| 4 | 620 | - 18,1 | - | 18,4 | - |
| 5 | 910 | 10,4 | - | 50,9 | + |
| 6 | 1370 | - 39,2 | + | 100,0 | + |
| 7 | 2550 | - 23,1 | - | 54,6 | + |
| 8 | 4060 | - 82,9 | + | 66,3 | + |
| 9 | 5450 | - 3,6 | - | 84,4 | + |
| 10 | 14900 | - 28,9 | - | 60,2 | + |

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

► Zkouška růstu kořene okurky

| Vzorek č. | NEL [mg.kg _{suš} ⁻¹] | Akvatická zkouška | | Terestrická zkouška | |
|-----------|---|-------------------|----------|---------------------|----------|
| | | I [%] | Toxicita | I [%] | Toxicita |
| 1 | 370 | - | - | - | - |
| 2 | 420 | - 21,1 | - | - 7,1 | - |
| 3 | 430 | 5,0 | - | - | - |
| 4 | 620 | 29,3 | - | - | - |
| 5 | 910 | 14,0 | - | 19,0 | - |
| 6 | 1370 | 4,9 | - | - 19,0 | - |
| 7 | 2550 | - 25,1 | - | - | - |
| 8 | 4060 | - 11,7 | - | 32,6 | + |
| 9 | 5450 | - 2,8 | - | 25,8 | - |
| 10 | 14900 | - 4,2 | - | 43,6 | + |

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

► Zkouška růstu kořene ječmene

| Vzorek č. | NEL [mg.kg _{suš} ⁻¹] | Akvatická zkouška | | Terestrická zkouška | |
|-----------|---|-------------------|----------|---------------------|----------|
| | | I [%] | Toxicita | I [%] | Toxicita |
| 1 | 370 | - | - | - | - |
| 2 | 420 | - 22,4 | - | 18,2 | - |
| 3 | 430 | - | - | - | - |
| 4 | 620 | 17,2 | - | - | - |
| 5 | 910 | 2,3 | - | - 1,4 | - |
| 6 | 1370 | - 3,4 | - | 60,5 | + |
| 7 | 2550 | - | - | - | - |
| 8 | 4060 | - 19,1 | - | 28,9 | - |
| 9 | 5450 | - 7,7 | - | 26,9 | - |
| 10 | 14900 | 1,5 | - | 26,7 | - |

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

► Zkouška růstu kořene pšenice

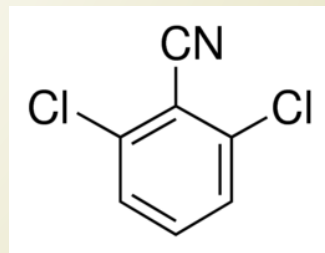
| Vzorek č. | NEL [mg.kg _{suš} ⁻¹] | Akvatická zkouška | | Terestrická zkouška | |
|-----------|---|-------------------|----------|---------------------|----------|
| | | I [%] | Toxicita | I [%] | Toxicita |
| 1 | 370 | - 13,2 | - | 46,2 | + |
| 2 | 420 | - | - | - | - |
| 3 | 430 | 51,9 | + | 84,2 | + |
| 4 | 620 | - 6,4 | - | 28,8 | - |
| 5 | 910 | 12,3 | - | - 17,4 | - |
| 6 | 1370 | 13,4 | - | 55,6 | + |
| 7 | 2550 | 0,3 | - | 28,8 | - |
| 8 | 4060 | - | - | - | - |
| 9 | 5450 | - 26,9 | - | 30,4 | + |
| 10 | 14900 | - | - | - | - |

Ekotoxicita ropných uhlovodíků

- ▶ Terestrická zkouška se salátem byla z vybraných rostlin nejcitlivější, s výjimkou vzorku č. 1. Zkouška prokázala s jistotou ekotoxicitu půdy při koncentraci NEL nad $620 \text{ mg.kg}_{\text{suš}}^{-1}$, 8 vzorků z 10 bylo toxických.
- ▶ V akvatických zkouškách byl obvykle stanoven stimulační efekt vodného výluhu na růst kořene rostlin.
- ▶ Ekotoxicita vzorku nebyla v akvatických zkouškách prokázána ani při koncentraci NEL $14900 \text{ mg.kg}_{\text{suš}}^{-1}$.
- ▶ Ekotoxicitu vzorku bude ovlivňovat kromě celkové koncentrace ropných uhlovodíků i jejich kvalitativní zastoupení. Rozpustnost ropných uhlovodíků ve vodě se řádově liší podle jejich vlastností.

Ekotoxicita benzonitrilových pesticidů

- ▶ Nacházejí v půdě i ve vodě. Jedná se o halogenované deriváty benzonitrilů a hydroxybenzonitrilů, patří do skupiny kontaktních herbicidů.
- ▶ Nejsou zahrnuty do ukazatelů chemické analýzy odpadů.
- ▶ Hubení širokolistých plevelů v obilných a cibulových polích, použití i v průmyslových zónách, v parcích, na loukách, na okrasných trávnících, chodnících, atd.
- ▶ Dichlobenil - širokospektrální kontaktní herbicid vhodný pro použití v zahradách, sadech, lesních školkách a k ošetření chodníků, nedávno zakázán v EU.



Ekotoxicita benzonitrilových pesticidů

| Název zkoušky | Zkoušený organismus | Dichlobenil [mg.l ⁻¹ , mg.kg _{suš} ⁻¹] | |
|--|--------------------------------|---|-------------|
| | | EC ₅₀ | NOEC |
| Zkouška inhibice pohyblivosti dafnií | <i>Daphnia magna</i> | 7,0 | 2,0 |
| Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas | <i>Desmodesmus subspicatus</i> | 11,1 | 4,0 |
| Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby | <i>Poecilia reticulata</i> | 14,0 | 5,0 |
| Stanovení inhibičního účinku vzorků na světelnou emisi luminiscenčních bakterií – 30 min | <i>Vibrio fischeri</i> | 190,7 | 25,0 |
| Zkouška inhibice reprodukce chvostoskoků | <i>Folsomia candida</i> | 160,2 | 30,0 |
| Zkouška inhibice reprodukce roupic | <i>Enchytraeus crypticus</i> | 1,1 | 0,5 |
| Zkouška inhibice reprodukce žížal | <i>Eisenia fetida</i> | 130,0 | 50,0 |
| Stanovení inhibice nitrifikace – rychlý test oxidace amonných iontů | nitrifikační bakterie | > 100 | 25,0 |
| Inhibice růstu kořene salátu – terestrická zkouška | <i>Lactuca sativa</i> | 0,24 | 0,05 |

Ekotoxicita PCDD/F

| Označení vzorku | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | |
|---|------------|--|-------------|--|------------|--|-------------|--|
| Zkušební organismus | I [%] | EC ₅₀ [ml.l ⁻¹] | I [%] | EC ₅₀ [ml.l ⁻¹] | I [%] | EC ₅₀ [ml.l ⁻¹] | I [%] | EC ₅₀ [ml.l ⁻¹] |
| salát akvatický | 75,0 | 771,0 | 100,0 | 419,2 | 100,0 | 640,9 | 34,3 | n |
| řasy | 6,0 | n | 92,5 | 560,3 | 96,5 | 467,0 | 34,5 | n |
| dafnie | 100,0 | 250,1 | 100,0 | 254,0 | 100,0 | 193,2 | 100,0 | 482,3 |
| luminiscenční bakterie 15 min | 9,9 | n | 37,1 | 647,7 | 63,0 | 200,4 | 0 | n |
| luminiscenční bakterie 30 min | 11,5 | n | 39,3 | 630,2 | 65,0 | 184,1 | 2,3 | n |
| | I [%] | EC ₅₀ [g.kg ⁻¹] | I [%] | EC ₅₀ [g.kg ⁻¹] | I [%] | EC ₅₀ [g.kg ⁻¹] | I [%] | EC ₅₀ [g.kg ⁻¹] |
| salát terestrický | 100,0 | 167,2 | 100,0 | 133,6 | 100,0 | 149,0 | 100,0 | 243,8 |
| roupice | 94,8 | 521,5 | 100,0 | 228,0 | 100,0 | 322,8 | 100,0 | 378,3 |
| PCDD/F celkem [mg.kg⁻¹] | 260 | | 1600 | | 730 | | 1200 | |

Ekotoxicita půdy z parku

- Vybrány 2 parky v Praze 2

| Název zkoušky | Zkoušený organismus | Půdy z parků Praha 2 [mg.l ⁻¹ , mg.kg _{suš} ⁻¹] | |
|---|--------------------------------|--|-----------------|
| | | Park 1 I [%] | Park 2 I [%] |
| Zkouška inhibice pohyblivosti dafnií | <i>Daphnia magna</i> | 4,0 | 0 |
| Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas | <i>Desmodesmus subspicatus</i> | 1,9 | 1,5 |
| Inhibice růstu kořene hořčice – akvatická zkouška | <i>Sinapis alba</i> | 4,8 | -5,1 |
| Inhibice růstu kořene salátu – terestrická zkouška | <i>Lactuca sativa</i> | 41,9 | 41,4 |

Závěr

- ▶ Zahrnutí terestrických zkoušek do hodnocení ekotoxicity odpadů má příznivý dopad na životní prostředí.
- ▶ Terestrická zkouška je v sadě zkoušek pro hodnocení ekotoxicity odpadů vybrána podle našeho názoru správně a k hodnocení ekotoxicity by se měla využívat, pokud nás zajímají skutečné vlastnosti hodnoceného vzorku.
- ▶ Doporučujeme ve vyhlášce č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu zrušit Tabulku č. 10.2 v Příloze č. 10 a dále ve vyhlášce č. 94/2016 Sb., o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů zrušit Tabulku č. 1.1 v Příloze č. 1.



Terestrická zkouška – reprodukce žížal

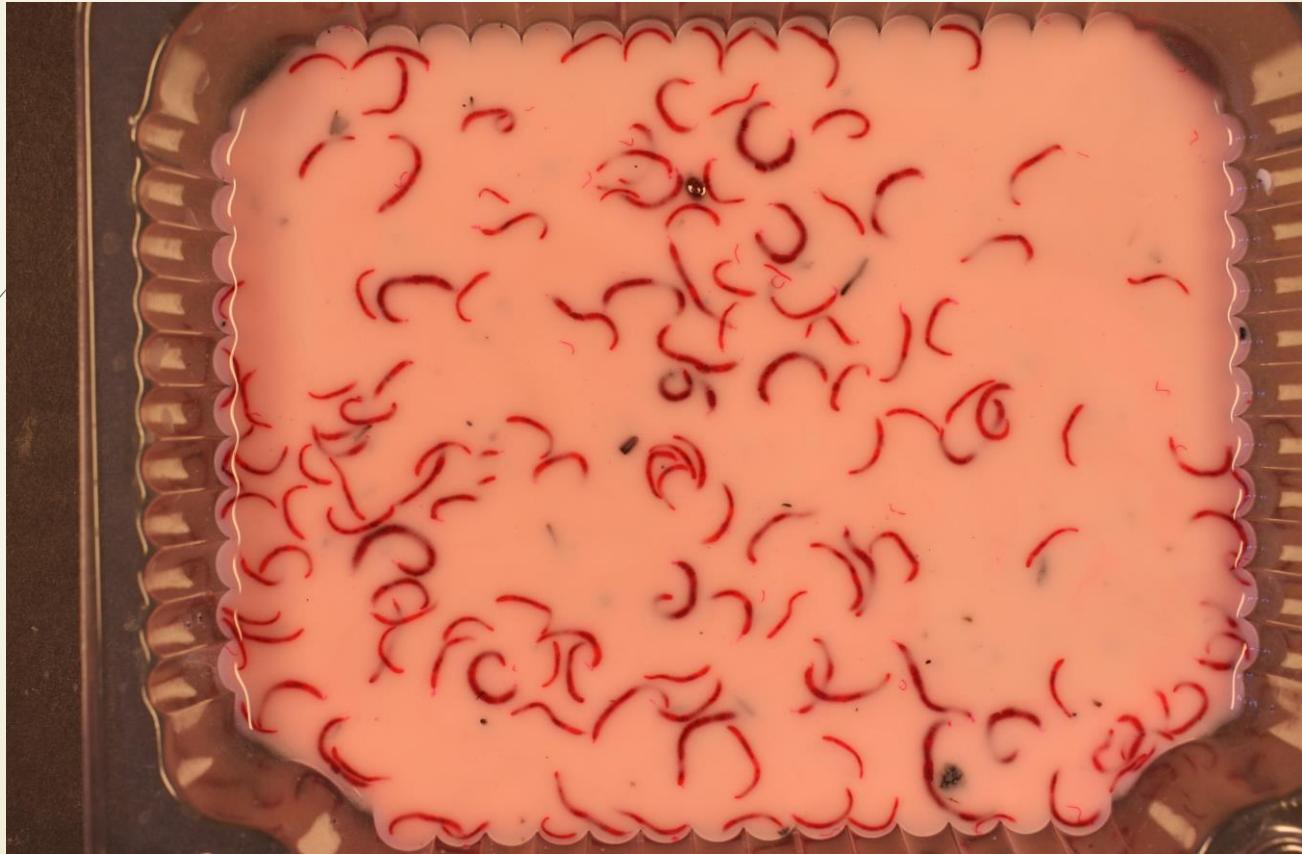
- ▶ ČSN ISO 11268-2 (2014): Kvalita půdy - Účinky znečišťujících látek na žížaly - Část 2: Stanovení účinků na reprodukci *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*.
- ▶ Při provádění zkoušky je časově nejnáročnější částí počítání nedospělých jedinců na konci zkoušky. Nádoby se zemínou se umístí na 20 min do vodní lázně s teplotou 50 °C až 60 °C. Asi po 20 min se nedospělí jedinci objeví u povrchu zeminy, odkud je lze snadno odstranit a spočítat.
- ▶ Počítání je nutné provádět ihned a vzhledem k tomu, že v každé nádobě se nachází více než 100 kusů nedospělých jedinců, je vyhodnocení zkoušky náročné.



Terestrická zkouška – reprodukce žížal

- ▶ Nedospělí jedinci se po zahřátí nádoby na vodní lázni odeberou z povrchu zeminy, **fixují se ethanolem** (96 %) a **obarví se Bengálskou červení** (1 % roztok v ethanolu). Po nejméně 12 h se obarvení jedinci **flotují 30 % roztokem koloidního oxidu křemičitého** (např. LUDOX AM-30 nebo technická kvalita dodávaná např. pro účely restaurátorů). Pro zvýšení kontrastu lze roztok obarvit bílou akrylátovou barvou. Po šetrném ručním zamíchání suspenze nedospělé žížaly flotují k hladině a po 1 min až 2 min se **hladina vyfotografuje**. Digitální snímek je pak vyhodnocen počítačovým softwarem pro **analýzu obrazu**, např. *UTHSCSA ImageTool*, který je volně dostupný na internetu.

Terestrická zkouška – reprodukce žížal



ABITEC



www.abitec.cz



Děkuji za pozornost

Výzkum byl financován Technologickou agenturou ČR
v rámci projektu TA ČR TA03021234.