



# EKOTOXICITA ODPADŮ STANOVENÁ AKVATICKÝMI A TERESTRICKÝMI ZKOUŠKAMI PODLE NAVRŽENÝCH METODICKÝCH POKYNŮ MŽP K HODNOCENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ

---

Vosáhlová, S., Sirotková, D.,  
Hofman, J., Kočí, V., Matějů, V.,  
Záleská, M.

# Výzkumný záměr MZP0002071102

---

- Výzkum pro hospodaření s odpady v rámci ochrany životního prostředí a udržitelného rozvoje (prevence a minimalizace vzniku odpadů a jejich hodnocení)
- 2005 až 2011
- Řešitelé: *VÚV T.G.M., v.v.i. - CeHO, Podbabská 30/2582, 160 00 Praha 6, RECETOX, Masarykova Univerzita, Kamenice 126/3, 625 00 Brno, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, ENVISAN-GEM, a.s., Radiová 7, 102 31 Praha 10 a další.*



# Cíl projektu

---

- Navrhnout a ověřit novou baterii zkoušek pro hodnocení ekotoxicity odpadů, s cílem minimalizovat negativní dopady odpadového hospodářství na životní prostředí.

# Současný stav legislativy

---

- Česká legislativa pro hodnocení ekotoxicity odpadů předepisuje použití pouze akvatických zkoušek ekotoxicity s vodným výluhem odpadu, jsou to zkoušky:
  - s rybami (*Poecilia reticulata* nebo *Brachydanio rerio*),
  - s dafniemi (*Daphnia magna* Straus),
  - s řasami (*Pseudokirchneriella subcapitata* nebo *Desmodesmus subspicatus*),
  - se semeny hořčice (*Sinapis alba*).
- V EU je ekotoxicita odpadů vyhodnocována různým způsobem, neboť dosud není schválen jednotný přístup v EU legislativě.

# Průběh a výsledky řešení projektu

---

- Výběr zkoušek
- Návrh limitních hodnot pro ukládání odpadů na povrch terénu podle vyhlášky č. 294/2005 Sb. a pro hodnocení nebezpečné vlastnosti odpadů H14 Ekotoxicita podle vyhlášky č. 376/2001 Sb.

# Akvatické zkoušky ekotoxicity

Organismus	Doba expozice	Rok zkoušení	Počet vzorků
Inhibice pohyblivosti dafnií – <i>Daphnia magna</i>	48 h	2005-2007, 2010	19
	21 d	2007	3
Letální toxicita pro ryby <i>Poecilia reticulata</i>	96 h	2005,2006	10
Inhibice růstu řas <i>Desmodesmus subspicatus</i>	72 h	2005-2007, 2010	19
Inhibice luminiscence <i>Vibrio fischeri</i>	15 a 30 min.	2005-2007, 2010	19
Inhibice růstu kořene hořčice <i>Sinapis alba</i>	72 h	2005	4
Inhibice růstu kořene salátu <i>Lactuca sativa</i>	96 h	2005,2006	10
Inhibice růstu kořene ječmene <i>Hordeum vulgare</i>	96 h	2005	4
Inhibice růstu kořene pšenice <i>Triticum aestivum</i>	96 h	2005	4
Inhibice růstu okřehku <i>Lemna minor</i>	96 h	2005-2007	15

# Terestrické zkoušky ekotoxicity

Organismus	Doba expozice	Rok zkoušení	Počet vzorků
Inhibice růstu kořene hořčice <i>Sinapis alba</i>	120 h	2005-2007	15
Inhibice růstu kořene salátu <i>Lactuca sativa</i>	120 h	2005-2011	27
Inhibice růstu kořene ječmene <i>Hordeum vulgare</i>	120 h	2005-2007	15
Inhibice růstu kořene pšenice <i>Triticum aestivum</i>	120 h	2005,2006	10
Inhibice růstu vodnice <i>Brassica rapa</i>	18 d	2007	5
Inhibice růstu ovsa <i>Avena sativa</i>	18 d	2007	5
Inhibice reprodukce chvostoskoků <i>Folsomia candida</i>	28 d	2005-2011	27
Inhibice reprodukce roupic <i>Enchytraeus crypticus</i>	28 d	2007-2011	17
Inhibice reprodukce žížal <i>Eisenia fetida</i>	56 d	2005-2007	15
Inhibice luminiscence(kinetický test) - <i>Vibrio fischeri</i>	15 a 30 min.	2005,2006	10
Inhibice transformace dusíku	28 d	2007	5
Inhibice transformace uhlíku	28 d	2007	5

# Přehled zkoušených odpadů

<b>Rok zkoušení</b>	<b>Vzorky</b>
2005	kontaminovaná zemina z moření a impregnace dřeva, kontaminovaná zemina (směsná kontaminace kovy, PAU + kaly z průmyslové ČOV), kaly z mechanické čistírny průmyslových odpadních vod, popílek z elektroodlučovačů elektrárny
2006	vysokopeční struska, kontaminovaná zemina (směsná kontaminace, přítomnost nitrotoluenů), kompost, kontaminovaná zemina (směsná kontaminace, přítomnost PCB), škvára, sediment
2007	kompost, 2 stavební odpady, zemina kontaminovaná TNT, nekontaminovaná zemina
2008	struska, kompost, stavební odpad
2009	umělá půda – kyselina boritá
2010	zemina, stabilizát, popílek, kal + uměle připravený vzorek pro zkoušení způsobilosti
2011	kontaminovaná zemina, kal z čistírny průmyslových odpadních vod, kompost, popílek ze spalovny odpadů



# Hodnocení citlivosti zkoušek

---

- Sada akvatických zkoušek ekotoxicity podle platné legislativy vykázala jako celek malou citlivost na kontaminaci odpadů.
- Terestrické zkoušky byly citlivější a vhodnější pro hodnocení ekotoxicity pevných odpadů obsahujících ve vodě málo rozpustné či hydrofóbní látky.
- Z výsledků akvatických zkoušek vyplynula nízká citlivost zkoušky s rybami a se semeny hořčice bílé, vhodnější se zdála zkouška s luminiscenčními bakteriemi.
- Zkouška s okřehkem byla méně citlivá než zkouška s luminiscenčními bakteriemi.

# Hodnocení citlivosti zkoušek

---

- V akvatických i terestrických zkouškách s růstem kořene hořčice, salátu, pšenice a ječmene byla prokázána nejvyšší citlivost salátu na přítomnou kontaminaci.
- Zkouška vzrůstu rostlin *Brassicca rapa* (vodnice) a *Avena sativa* (oves) byla velmi citlivá na dodržení podmínek zkoušky (teplota, osvětlení, vlhkost).
- Zkouška reprodukce žížal byla velmi citlivá, avšak doba expozice 8 týdnů by významně prodlužovala dobu posouzení toxicity vzorků.
- Zkouška reprodukce rouspic byla srovnatelně citlivá se zkouškou reprodukce žížal.
- Velmi citlivý byl kinetický test s luminiscenčními bakteriemi se suspenzí vzorků.

# Hodnocení citlivosti zkoušek

---

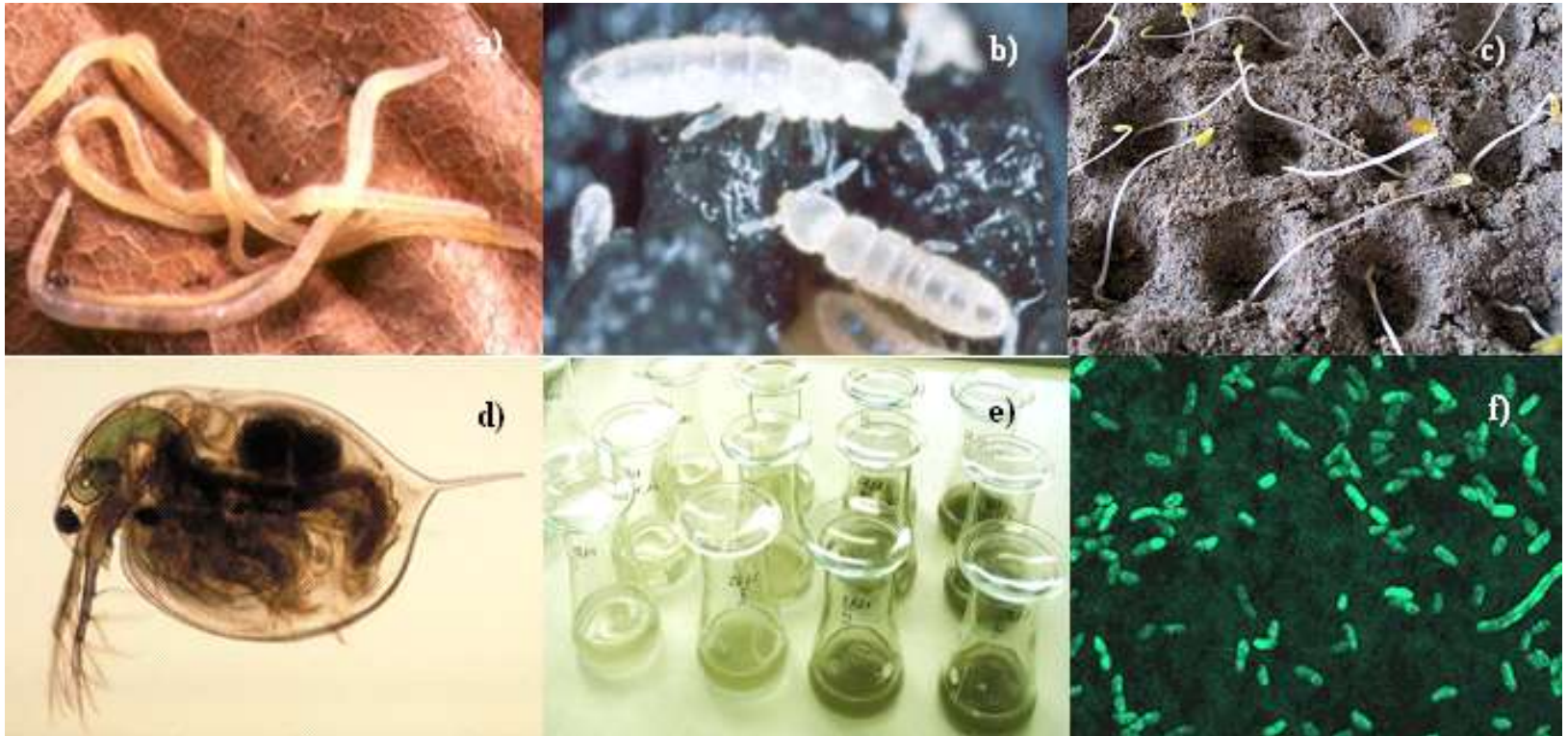
- Reprodukční test s *Daphnia magna* ukázal citlivost srovnatelnou s půdními reprodukčními testy toxicity, je však náročný na provedení.
- Zkouška transformace dusíku byla citlivější než zkouška transformace uhlíku. Použití zkoušky transformace dusíku je zaměřeno na zeminy s přirozenou biocenózou a není vhodná pro biologicky ošetřené materiály.
- V terestrickými zkouškách se projevil i vliv fyzikálních vlastností odpadů, zejména při jejich vysokých koncentracích (500 až 1000 g/kg).

# Navržená sada zkoušek ekotoxicity

---

- **Akvatické zkoušky:**
  - inhibice pohyblivosti dafnií (ČSN EN ISO 6341 )
  - inhibice růstu řas (ČSN EN ISO 8692)
  - inhibičního účinek vzorků na světelnou emisi luminiscenčních bakterií (ČSN EN ISO 11348-2)
- **Terestrické zkoušky:**
  - inhibice reprodukce chvostoskoků (ČSN ISO 11267)
  - inhibice reprodukce roupic (ČSN ISO 16387)
  - inhibice růstu kořene salátu (ISO 11269-1, ASTM E 1963-09).
- **Postup:** zahájení akvatickými zkouškami, při pozitivním výsledku se terestrické zkoušky neprovádí.

# Zkušební organismy



a) roupice  
d) dafnie

b) chvostoskok  
e) řasy

c) salát  
f) luminiscenční bakterie

# Zkoušené koncentrace

---

- Vyhláška č. 294/2005 Sb.  
akvatické zkoušky: neředěný vodný výluh  
terestrické zkoušky: 500 g/kg, ředění  
umělou půdou
- Vyhláška č. 376/2001 Sb.  
akvatické zkoušky: 100 ml/l vodného  
výluhu, ředění ředícím médiem  
terestrické zkoušky: 100 g/kg, ředění  
umělou půdou

# Limitní hodnoty inhibice

---

- Imobilizace dafnií: 20 %
- Inhibice růstu řas: 25 %
- Inhibice svítivosti luminiscenčních bakterií: 25 %
- Inhibice reprodukce chvostoskoků: 50 %
- Inhibice reprodukce roupic: 50 %
- Inhibice růstu kořene salátu: 50 %

# Standardní látka

---

- V normách pro terestrické zkoušky jsou navrženy různé standardní látky.
- Kyselina boritá splňuje požadavky na vhodnou referenční látku pro provádění terestrických zkoušek ekotoxicity.
- Navržená rozpětí hodnot EC50 kyseliny borité pro jednotlivé zkoušky jsou následující:  
chvostoskok *Folsomia candida* 50 – 200 mg/kg;  
roupice *Enchytraeus crypticus* 100 – 300 mg/kg;  
salát *Lactuca sativa* 250 – 850 mg/kg.



# Zkoušení způsobilosti - CSlab spol. s.r.o.

---

- Terestrické zkoušky – salát, roupice, chvostoskok  
koncentrace vzorku 500 g/kg
- 12 laboratoří
- Směrodatná odchylka reprodukovatelnosti byla pro zkoušku s roupicemi 62,4 %, pro zkoušku s chvostoskoky 111,1 % a pro růst kořene salátu 67,3 %. Mnoho zúčastněných laboratoří provádělo zkoušku poprvé bez předchozí zkušenosti s jejím provedením, což ovlivnilo výsledky.

# Zkoušení způsobilosti - CSlab spol. s.r.o.

---

Podmínky platnosti zkoušky byly splněny téměř ve všech laboratořích, tj.

- Počet mladých chvostoskoků v kontrole byl  $> 100$  (min. 120, max. 874, průměr 429) a variační koeficient paralelních stanovení byl  $< 30\%$  (min. 4,1% a max. 51,5%, průměr 17,5 %).
- Počet mladých roupic v kontrole byl  $> 50$  (min. 102, max. 1088, průměr 403) a variační koeficient paralelních stanovení byl  $< 50\%$  (min. 2,7 % a max. 52,1%, průměr 15,3 %)
- Průměrná délka kořene salátu v kontrole byla  $> 15$  mm (min. 18 mm a max. 29 mm, průměr 22 mm) a variační koeficient paralelních stanovení byl  $< 20\%$  (min. 1,1 % a max. 19,7 %, průměr 8,7 %).

# Dotazník ke zkoušení způsobilosti

---

- Vzorek byl skladován v lednici nebo při laboratorní teplotě.
- Vzorek byl různým způsobem předupraven – bez předúpravy, sušení, prosévání.
- Vzorek byl zvlhčován na základě stanovení WHC (vodní kapacita), ale některé laboratoře dopočítaly množství vody z WHC neředitelného vzorku a umělé půdy, některé laboratoře stanovily WHC směsi vzorku s umělou půdou.
- Stanovená hodnota WHC umělé půdy se u 2 laboratoří významně lišila.

# Dotazník ke zkoušení způsobilosti

---

- Jako kontrolní půda byla použita umělá půda připravená dle návodu, jedna laboratoř použila standardní půdu LUFA. Pro přípravu umělé půdy byli použiti různí dodavatelé
- Počítání mladých roupic bylo prováděno buď ručně nebo po vyfotografování hladiny vyflotovaného vzorku.
- Z uvedeného vyplynulo, že postupy provedení zkoušek musí být popsány co nejpřesněji, aby bylo jejich provádění ve všech laboratořích shodné.

# Závěrečné zkoušení v r. 2011

---

- Terestrické zkoušky (salát, chvostoskok, roupice) při koncentracích vzorků 100 g/kg a 500 g/kg
- 4 laboratoře
- 4 odpady – zemina, kal, popílek, kompost
- kontrola a ředící médium:
  - centrálně připravená umělá půda
  - umělá půda připravená v každé laboratoři
  - standardní půda LUFA (2.2, 2.3).
- Postupy zkoušek byly na základě výsledků dotazníkové akce doplněny tak, aby byly postupy co nejvíce sjednoceny.

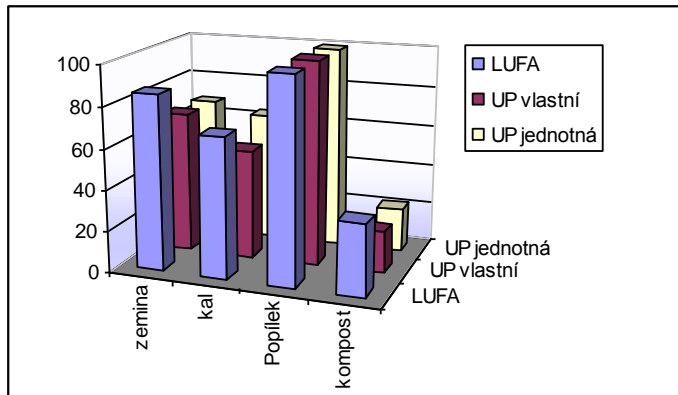
# Závěrečné zkoušení v r. 2011

---

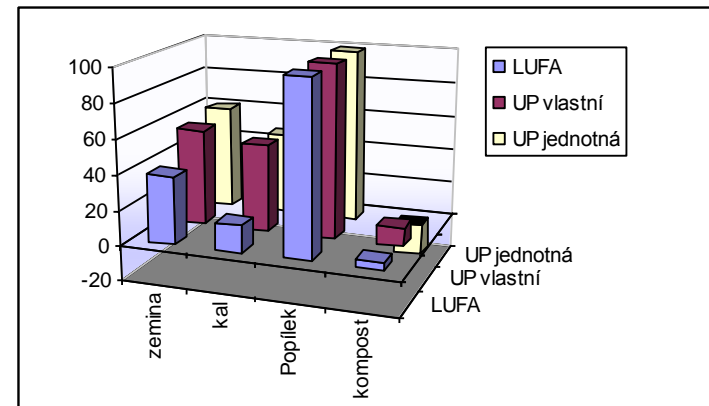
- Není statisticky významný rozdíl ve výsledcích zkoušek při použití centrálně připravené umělé půdy a umělé půdy připravené v laboratoři, tzn. není nutné zajistit jednotnou umělou půdu.
- Není statisticky významný rozdíl ve výsledcích zkoušek při použití centrálně připravené umělé půdy a standardní půdy LUFA. Použití standardní půdy LUFA však představuje zvýšení nákladů na zkoušku a ani její kvalitu nelze považovat za stabilní.

# Výsledky zkoušek z r.2011

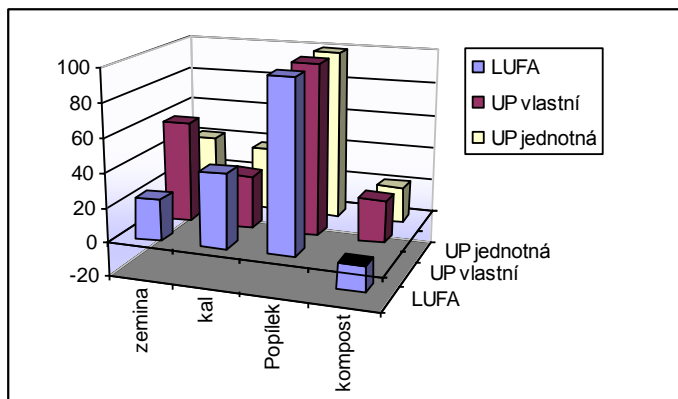
Obr.1 Inhibice reprodukce chvostoskoků



Obr.2 Inhibice reprodukce roupic



Obr.3 Inhibice růstu kořene salátu



# Výsledky zkoušek z r.2011

---

- **Není statisticky významný rozdíl ve stanovení WHC v jednotlivých laboratořích, stanovení WHC by proto nemělo být zdrojem chyb při provádění terestrických zkoušek.**

Vzorek	Konc. [g/kg]	WHC [%]			
		Lab. 1	Lab. 2	Lab.3	Lab.4
Zemina	100	62	57	77	60
	500	49	38	58	38
Kal	100	61	60	72	58
	500	57	57	73	41
Popílek	100	77	75	77	63
	500	92	103	91	78
Kompost	100	71	67	72	65
	500	89	80	118	98
JUP	1000	67	59	71	64
LUFA 2.2	1000	41	44	-	48
LUFA 2.3	1000	38	35	-	38



# Výsledky zkoušek z r.2011

- Je statisticky významný rozdíl mezi laboratořemi v počtu mladých chvostoskoků i roupic v kontrole. Tato skutečnost významně neovlivnila výsledky zkoušek, neboť inhibice se uvádí v porovnání s kontrolou. Přesto lze doporučit přezkoumání podmínek chovu a podmínek provedení zkoušky, pokud počet mladých chvostoskoků nebo roupic v kontrole přesáhne 1000 jedinců.

Organismus	Ředící médium	počet mladých/délka kořene				Průměr
		Lab. 1	Lab. 2	Lab. 3	Lab. 4	
Chvostoskok <i>Folsomia candida</i>	LUFA 2.2	203	<b>43</b>	1028	139	457
	UP vlastní	343	-	1352	174	623
	UP jednotná	343	70	1454	119	497
Roupice <i>Enchytraeus crypticus</i>	LUFA 2.2	259	228	513	427	357
	UP vlastní	169	-	572	300	347
	UP jednotná	169	137	684	279	317
Salát <i>Lactuca sativa</i>	LUFA 2.3	15	19	23	25	21
	UP vlastní	28	-	20	31	26
	UP jednotná	28	36	22	31	29

# Výsledky zkoušek z r.2011

---

- Největší rozptyl hodnot byl zaznamenán ve zkoušce inhibice reprodukce rousic, nejmenší ve zkoušce růstu kořene salátu. Lepší shody výsledků bylo dosaženo při koncentraci vzorku 100 g/kg než při koncentraci 500 g/kg.

# Příklad hodnocení odpadu

## Popílek z elektroodlučovačů elektrárny

Vyhláška č. 294/2005 Sb., Tab. 10.2	
Organismus	Inhibice %
	1000 ml/l
Dafnie	20
Ryby	0
Řasy	22,0
Hořčice	18,2
<i>V. fischeri</i>	21,3
	500 g/kg
chvostoskok	<b>51,3</b>
žížaly	<b>51,0</b>
salát	<b>55,6</b>

Vyhláška č. 294/2005 Sb., Tab. 10.1		
Ukazatel	Naměřená koncentrace mg/kg	Limit mg/kg
As	<b>407</b>	<b>10</b>
Cd	<b>2,9</b>	<b>1</b>
Cr celk.	57,6	200
Hg	0,054	0,8
Ni	73,6	80
Pb	13,2	100
BTEX	0,362	0,4
PAU	0,3225	6
EOX	<b>10</b>	<b>1</b>
Uhlovodíky C <sub>10</sub> -C <sub>40</sub>	11	300
PCB	0,0026	0,2

# Závěry

---

- Při použití pouze akvatických zkoušek může být podhodnocen toxický účinek málo rozpustných nebo nerozpustných látek ve vodě
- Terestrické zkoušky zahrnují efekt matrice – matrice samotná, bez ohledu na přítomnost kontaminantů, může mít negativní vliv na organismy nebo může ovlivňovat chování kontaminantu.
- Je nutná aktualizace současně platné legislativy pro hodnocení ekotoxicity odpadů.

# Hlavní změny

---

- Aktualizace sady akvatických zkoušek ekotoxicity (vyřazení zkoušek s rybami a hořčicí, zařazení zkoušky s luminiscenčními bakteriemi).
- Zařazení terestrických zkoušek ekotoxicity.
- Změna limitních hodnot pro akvatické zkoušky.
- Návrh limitních hodnot pro terestrické zkoušky.
- Hodnocení nebezpečné vlastnosti H14 Ekotoxicita pouze při jedné koncentraci vzorku, bez stanovení EC50.
- Příprava vodného výluhu – ČSN EN 12457-2, pro materiály se zrnitostí menší než 4 mm, filtrace membránovým filtrem 0,45  $\mu\text{m}$ .



# Poděkování

---

Děkujeme Ministerstvu životního prostředí ČR za financování výzkumného záměru,  
Výzkumnému ústavu vodohospodářskému T.G.M.-  
Centrum pro hospodaření s odpady, v.v.i. za koordinování projektu,  
všem laboratořím, které se účastnily na řešení projektu i mimořádného zkoušení způsobilosti,  
pořádaného společností CSlab spol. s r.o.

Děkuji za pozornost

---

