

NOVÉ NORMY PRO BIOLOGICKÉ METODY

Ing. Lenka Fremrová

Sweco Hydroprojekt a.s.

Evropské normy zavedené jako ČSN překladem

ČSN EN ISO 5667-16 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 16: Návod pro biologické zkoušení vzorků - nahradila ČSN EN ISO 5667-16 z října 1999

ČSN EN 16870 Kvalita vod – Návod pro určení stupně modifikace hydromorfologie jezer – vydána v říjnu 2017

Norma byla vydána v listopadu 2017 a nahradila ČSN EN ISO 5667-16 z října 1999. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- doplnění nové kapitoly **3 Termíny a definice** (obsahuje 28 termínů, například **účinná koncentrace, nejnižší neúčinné ředění, hustota buněk, růstová rychlost**);
- podrobnější zpracování kapitoly týkající se odběru vzorků a jejich dopravy (např. podrobnější popis vybavení pro odběr vzorků, vzorkovacích nádob a vzorkovnic);
- úplné přepracování kapitoly **Prokazování kvality biologického zkoušení**.

- obsahuje praktický návod pro odběr vzorků a jejich úpravu, pro provádění zkoušek a hodnocení environmentálních vzorků na podkladě biologických zkoušek;
- používá se odpadní vody, podzemní vody, sladké vody, výluhy a sedimenty. Tato norma se používá také pro chemické látky.
- Pro každou zkoušku se má použít několik replikátů kontrol a skupin koncentrací (ředění). Minimální počet replikátů je obvykle předepsán v příslušné normě. Příklad výpočtu potřebného počtu pozorování (replikátů) je uveden v článku 4.2.3 ČSN EN ISO 5667-16.
- Doporučuje se minimalizovat vliv rozdílů v podmínkách zkoušky (osvětlení, teplota) například náhodným rozmístěním zkušebních nádob ve zkušební komoře. Aby bylo zajištěno, že laboratorní podmínky zkoušky (včetně stavu a citlivosti zkušebních organismů) jsou přiměřené a že se významně nezměnily, má se zkoušet referenční látka jako pozitivní kontrola.

ČSN EN ISO 5667-16 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 16: Návod pro biologické zkoušení vzorků

Při statistické analýze výsledků zkoušek ekotoxicity s environmentálními vzorky se používají převážně tři statistické přístupy.

- a) stanovení nejnižšího neúčinného ředění (LID), například při zkoušení odpadních vod;
- b) porovnání dvou vzorků, tj. kontroly (nebo referenční sady) a buď zkoušené sady, nebo sady pro pozitivní kontrolu (toxický standard);
- c) výpočet bodových odhadů (např. EC_{20} , LC_{50}) z modelovaných vztahů koncentrace-odezva nebo ředění-odezva.

V normě jsou podrobně popsány rušivé vlivy při provádění zkoušek [např. odpařování těkavých látek, sorpce na stěny nádob nebo filtrů, biologický rozklad, abiotický rozklad (např. hydrolýza a fotolýza)] a možná preventivní opatření.

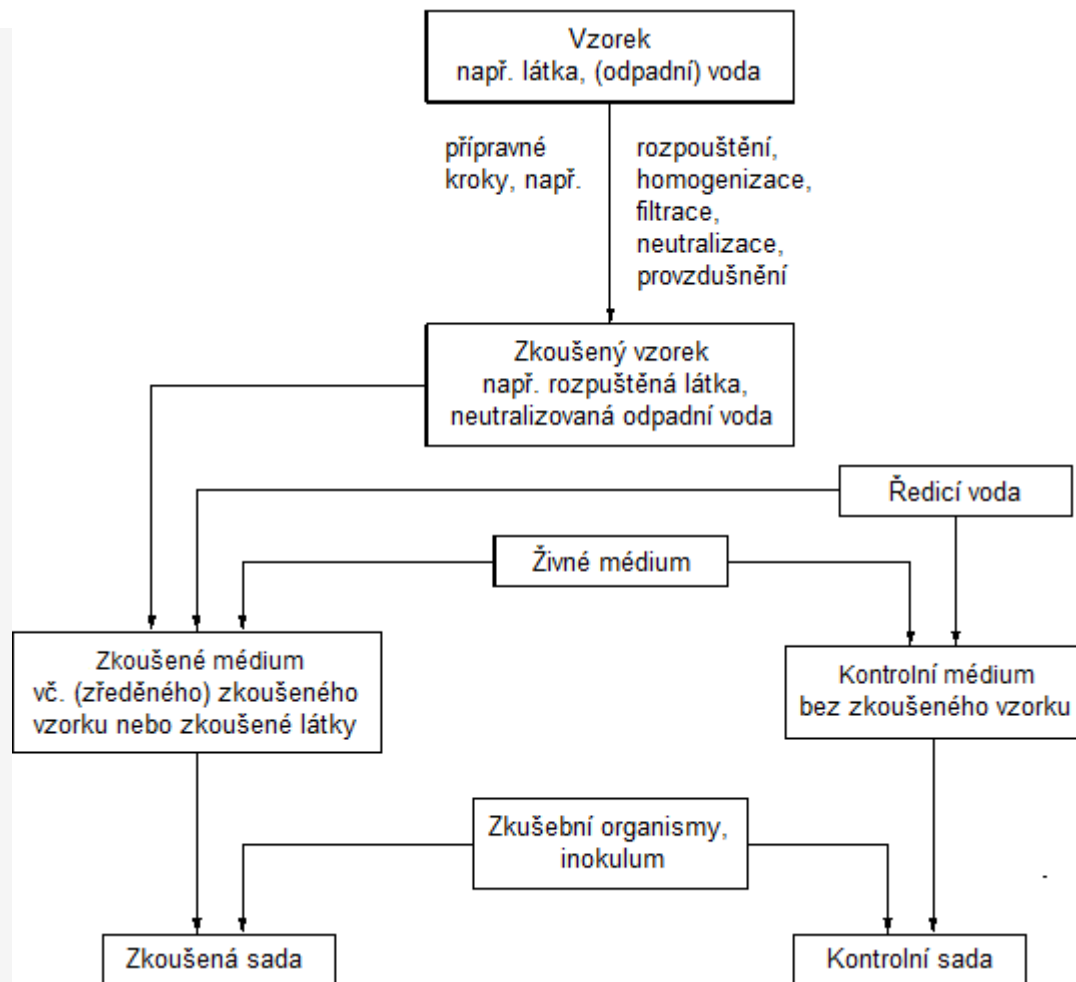
Je uveden návrh pro přípravu zásobních roztoků látek rozpustných ve vodě i těžko rozpustných látek, které tvoří disperze a emulze. Norma popisuje také speciální problémy se směsmi látek nebo technických výrobků..

Odběr a doprava vzorků

- postupuje se podle norem:
ČSN EN ISO 5667-1 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 1: Návod pro návrh programu odběru vzorků a pro způsoby odběru vzorků;
- ČSN EN ISO 5667-3 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 3: Konzervace vzorků vod a manipulace s nimi;
- ČSN EN ISO 5667-15 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 15: Pokyny pro konzervaci a manipulaci se vzorky kalu a sedimentu.

Doporučuje konzultace s laboratoří, která bude provádět biologickou zkoušku.

Vzorkovnice se mají úplně naplnit. Pokud se předpokládá konzervace vzorku zmrazením, mají se vzorkovnice plnit tak, aby se umožnilo zvětšování objemu.



Příprava vzorků k biologickému zkoušení

Úprava vzorků

- **Konzervace a uchovávání** - vzorky se mají zpracovat pokud možno ihned po odběru, aby nedošlo ke změnám původního složení v důsledku fyzikálních a chemických reakcí a/nebo biologických procesů.

Pokud není možné zahájit zkoušení ihned po odběru vzorků, ochladí se vzorky na teplotu 2 °C až 8 °C. Vzorky se mají uchovávat v temnu, aby se zabránilo růstu řas. Většina vzorků ochlazených na tuto teplotu a uchovávaných v temnu je obvykle stálá po dobu až 48 h.

Pokud není možné začít provedení zkoušky do 48 h, zmrazí se vzorky vody co nejdříve po odběru na teplotu ≤ -18 °C.

- **Homogenizace** - mícháním nebo třepáním; úprava ultrazvukem se nepoužívá, protože by se mohl změnit stav vzorku, pokud obsahuje nerozpuštěné látky;

- **Oddělování rozpuštěných a nerozpuštěných látek** - Biologické zkoušky se obvykle provádějí s původním vzorkem. Velký obsah nerozpuštěných látek, kalu a sedimentu však v některých případech ruší tím, že omezuje normální funkce zkušebních organismů. Pokud je nutné oddělit nerozpuštěné látky, dává se přednost sedimentaci a odstředování před filtrací.

- **Úprava hodnoty pH** - V mnoha biologických zkouškách mohou být bez úpravy zkoušeny vzorky s hodnotou $\text{pH} \geq 6$ a ≤ 9 . Hodnoty pH od 6 do 9 (což je obvykle pro vodní biotu přijatelné) umožňují posoudit ionizovatelné toxické látky, které by jinak byly při hodnotách mimo tento rozsah maskovány.

Vzorky s extrémními hodnotami pH, které překračují meze tolerance zkušebních organismů (obvykle $\text{pH} < 6$ nebo > 9) se mají upravit na $\text{pH} 7,0 \pm 0,2$. Fyziologické meze organismů jsou uvedeny v příslušných normách..

Koncentrace kyseliny nebo zásady potřebná k úpravě hodnoty pH vzorku má být taková, aby změna objemu byla co nejmenší.

Úprava hodnoty pH se má vynechat, má-li se účinek hodnoty pH projevit ve výsledku zkoušky, nebo pokud v důsledku úpravy hodnoty pH došlo k fyzikální změně nebo k chemickým reakcím (např. srážení).

Rušivé vlivy při provádění zkoušky .

Rozklad - složky se během zkoušky mohou rozkládat různým způsobem, a to biologicky, hydrolyticky nebo fotolyticky. Tím mohou vznikat sekundární produkty (metabolity), jejichž toxicita se liší od toxicity původní složky. Ve statických zkušebních systémech obvykle není možné zabránit biologickému rozkladu. Některé složky (např. isokyanatany, estery, anhydridy) ve vodě hydrolyzují. V případě hydrolýzy je možno měnit hodnotu pH ve zkušební sadě, čímž se někdy změní rychlost hydrolýzy.

Opatření u zbarvených nebo zakalených vzorků:

- změna metody pro zjišťování výsledku (např. počítání buněk místo měření zákalu u zkoušek na řasách);
- měření zákalu způsobeného organismy při jiné vlnové délce nebo měření při dvou vlnových délkách (barviva jsou často charakterizována vlnovou délkou, která se liší od světelného rozptylu způsobeného mikroorganismy);
- kombinace s jinou vhodnou metodou (např. s měřením spotřeby kyslíku nebo jeho produkce na konci zkoušky inhibice rozmnožování buněk).

Rušivé vlivy při provádění zkoušky .

Odpařování těkavých látek - zvláště u metod prováděných v otevřených systémech nebo vyžadujících provzdušňování. V takových případech se má uvažovat o uzavřených nebo průtočných zkušebních systémech. Ale v případě zkoušky inhibice růstu bakterií nebo řas má být zaručena dostatečná výměna plynů.

Tvorba pěny povrchově aktivních činidel - potřebnou dodávku kyslíku je možno zajistit bez vzniku pěny tak, že se zvětší poměr plochy hladiny k objemu (ploché zkušební nádoby).

Adsorpce na stěny nádoby nebo do filtrů - aby se zamezilo velkým ztrátám látky, mohou být nádoby a materiál pro pipetování a přenos předběžně inkubovány vzorkem s plánovanou koncentrací před zkouškou. Pak se vzorek vylije a nahradí se čerstvým vzorkem.

Srážení – má se postupovat podle ČSN ISO 14442 Jakost vod – Návod na provedení zkoušek inhibice růstu řas s málo rozpustnými materiály, těkavými sloučeninami, kovy a odpadní vodou.

Příprava zásobních a zkoušených roztoků

Látky rozpustné ve vodě - navážka látky při přípravě zásobního roztoku nemá překročit množství, které odpovídá koncentraci nasyceného roztoku.

Těžko rozpustné látky - míchání, třepání, použití ultrazvuku, inertních nosičů (fólií z polyethenu nebo mikroskopických sklíček), nebo použití rozpouštědel.

- .

Prokazování kvality biologického zkoušení

Pro analýzu environmentálních vzorků (např. odpadní vody, povrchová voda, sedimenty a půdy) je odsouhlaseným systémem managementu kvality pro laboratoře **ČSN EN ISO/IEC 17025 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří.**

Pro neklinické zkoušení chemických látek, pesticidů a léčebných výrobků byla do evropských právních předpisů implementována ustanovení OECD o správné laboratorní praxi (GLP).

ČSN EN ISO/IEC 17025 obsahuje dva hlavní oddíly: požadavky na management a technické požadavky. **Požadavky na management** se týkají fungování a účinnosti systému managementu kvality a vztahují se na stanovení odpovědností, řízení dokumentů (schvalování, přezkoumání) a na provádění interních auditů kvality. **Technické požadavky** se vztahují se způsobilost pracovníků, na kalibraci a validaci metod, přesnost zařízení a jasné, jednoznačné a objektivní uvádění výsledků zkoušek. Jedním z cílů je neustálé zlepšování kvality prostřednictvím monitorování všech neshod, analýzy příčin a výběru a uplatnění opatření k nápravě.

- poskytuje návod pro určení stupně modifikace hydromorfologických charakteristik jezer a vodních nádrží, popsanych v **ČSN EN 16039 Kvalita vod – Návod pro hodnocení hydromorfologických charakteristik jezer**;
- umožňuje porovnání hydromorfologických charakteristik jezer v jednotlivé zemi i mezi různými zeměmi v Evropě;
- základním cílem je hodnotit „odchylku od přirozeného stavu“ pro daný typ jezera jako důsledek antropogenních vlivů;
- norma doporučuje vhodné zdroje informací, které mohou přispět k popisu stupně ovlivnění (modifikace) hydromorfologických charakteristik;
- pro zcela umělé vodní nádrže nebo nádrže vytvořené přehrazením vodních toků je cílem hodnotit rozsah, v jakém se procesy přibližují procesům v porovnatelných přírodních vodních útvarech.

- Proveďte se hodnocení pro kategorie uvedené v ČSN EN 16039 (např. hydraulika, vodní vegetace, formy dna a substrát), s rozdělením na specifické charakteristiky, pokud je to vhodné.
- Má se zaznamenat, zda hodnocené jezero je přirozené (N), silně ovlivněné (H) nebo umělé (Ar).
- Příloha A uvádí návod pro přidělování skóre pro každou kategorii charakteristik. Obsahuje dva samostatné postupy pro určování skóre – s použitím skupiny skóre A s kvantitativními údaji, nebo skupiny skóre B s kvalitativními údaji.

Skupina skóre A je pětibodová stupnice (1 = nejnižší stupeň modifikace, 5 = nejvyšší stupeň modifikace).

Skupina skóre B je tříbodová stupnice (1, 3, 5; se stejným obecným přístupem jako pro skupinu skóre A).

Příloha B Změny proti průměrnému ročnímu rozmezí úrovně vodní hladiny

Příloha C Pokryv půdy v povodí jezera

Příloha D Příklady případových studií - pomáhají při pochopení a interpretaci celého systému skóre.

Evropské normy, zavedené převzetím originálu v anglickém jazyce

ČSN EN ISO 10253 Kvalita vod – Zkouška inhibice růstu mořských řas
Skeletonema costatum a *Phaeodactylum tricornutum*;

ČSN EN 16859 Kvalita vod – Návod pro monitoring populací perlorodek
říčních (*Margaritifera margaritifera*) a jejich prostředí.

ISO 11348-1:2007/DAM 1	Stanovení inhibičního vlivu vzorků vod na světelnou emisi <i>Vibrio fischeri</i> (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) – Část 1: Metoda s čerstvě připravenými bakteriemi
ISO 11348-2:2007/DAM 1	Stanovení inhibičního vlivu vzorků vod na světelnou emisi <i>Vibrio fischeri</i> (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) – Část 2: Metoda se sušenými bakteriemi
ISO 11348-3:2007/DAM 1	Stanovení inhibičního vlivu vzorků vod na světelnou emisi <i>Vibrio fischeri</i> (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) – Část 3: Metoda s lyofilizovanými bakteriemi
prEN 17136	Návod pro terénní a laboratorní postupy pro kvantitativní analýzu a identifikaci velkých bezobratlých z vnitrozemských povrchových vod
ISO/DIS 10634	Pokyny pro přípravu a zpracování ve vodě těžko rozpustných organických látek pro následující hodnocení jejich biologické rozložitelnosti ve vodním prostředí

Vysvětlivky:

- zkratka DAM 1 označuje návrh změny mezinárodní normy;
- zkratka prEN označuje návrh evropské normy;
- ◀ zkratka ISO/DIS označuje návrh mezinárodní normy ISO.

revize ČSN 75 7221 Kvalita vod – Klasifikace kvality povrchových vod

- Normu zpracoval kolektiv autorů z Výzkumného ústavu vodohospodářského T. G. Masaryka, v.v.i.
- Norma se používá pro jednotné určování třídy kvality tekoucích povrchových vod – klasifikaci, která slouží k porovnání jejich kvality na různých místech a v různém čase, a pro orientační posouzení kvality vody.
- V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto změny:
 - byly revidovány ukazatele znečištění a mezní hodnoty tříd kvality povrchové vody (včetně mezních hodnot pro saprobní index makrozoobentosu);
 - v předmětu normy je uvedena možnost využití normy pro orientační posouzení kvality povrchové vody při menší četnosti naměřených hodnot;
 - byla rozšířena příloha A Výpočet charakteristických hodnot;
 - byla doplněna nová informativní příloha B Charakterizace jednotlivých ukazatelů kvality vody nebo jejich skupin (zahrnuje také biologické ukazatele).

Dostupnost norem ČSN

Normy ČSN jsou přístupné hlavně v elektronické formě – přístup je umožněn prostřednictvím internetu.

Podrobnosti o této službě naleznete na internetu na stránkách Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví (ÚNMZ) (www.unmz.cz, nadpis „ČSN online“).

Věstník Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví je dostupný na internetu na stránkách ÚNMZ.

Od ledna 2018 pracuje **Česká agentura pro standardizaci** (státní příspěvková organizace se sídlem v Praze).

Česká agentura pro standardizaci

V říjnu 2017 byla zřízena příspěvková organizace **Česká agentura pro standardizaci** (ČAS), která od 1.1.2018 převzala od Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví všechny činnosti související s tvorbou, vydáváním a distribucí technických norem.

Podrobnosti jsou uvedeny na www.unmz.cz.

V České agentuře pro standardizaci byl založen také **odbor Koncepce BIM** [BIM (Building Information Modelling) neboli informační modelování staveb]. Tento odbor je pověřen realizací opatření specifikovaných ve vládou schválené **Koncepci zavedení BIM v České republice**.

Navrhované standardy, metodiky, návody a doporučení budou konzultovány se zástupci odborné veřejnosti včetně hledání optimálního způsobu začlenění do běžné praxe (normy, vyhlášky, doporučení či případně náměty na změny v legislativě).

Informace o technických normách vodního hospodářství

Centrum technické normalizace ve Sweco Hydroprojekt a.s.

(www.sweco.cz, složka Služby, nadpis **Tvorba norem pro vodní hospodářství a ekologii**)

Sweco Hydroprojekt a.s. vydává v lednu a v červenci každého roku aktualizovaný seznam technických norem vodního a odpadového hospodářství.



Děkuji za pozornost.