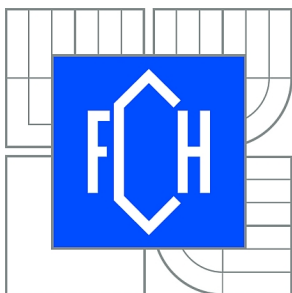




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

HODNOCENÍ KALŮ A SEDIMENTŮ POMOCÍ TESTŮ EKOTOXICITY

SEWAGE SLUDGE AND SEDIMENTS EVALUATION VIA ECOTOXICITY TESTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. JANA ONDROVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

MVDr. HELENA ZLÁMALOVÁ
GARGOŠOVÁ, Ph.D.

BRNO 2013



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0693/2012** Akademický rok: **2012/2013**
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
Student(ka): **Bc. Jana Ondrová**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)
Vedoucí práce **MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.**
Konzultanti:

Název diplomové práce:

Hodnocení kalů a sedimentů pomocí testů ekotoxicity

Zadání diplomové práce:

- 1) Zpracování literární rešerše k příslušné problematice
- 2) Výběr vhodných lokalit pro odběr sedimentů
- 3) Výběr vhodných testů ekotoxicity pro hodnocení kalů a sedimentů
- 4) Stanovení ekotoxikologických hodnot a posouzení případné ekotoxicity kalů a sedimentů

Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2013

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Jana Ondrová
Student(ka)

MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2013

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Sedimenty a čistírenské kaly jsou jednou ze součástí životního prostředí. Kaly vznikají v čistírnách odpadních vod jako pevný zbytek po vyčištění vody, jsou tudíž antropogenního původu. Ačkoli sedimenty vznikají přirozenými procesy, k jejich vzniku z velké části člověk také přispívá. Sedimenty a kaly mohou být vzhledem ke svým vlastnostem a původu rezervoárem mnoha kontaminantů. V současné době je podporováno využití sedimentů a kalů například k rekultivacím nebo jako přirozeného hnojiva. Po aplikaci na půdu může z těchto matric dojít k uvolnění kontaminantů do prostředí. Proto je důležité zabývat se jejich případnými ekotoxickými účinky. Sedimenty a kaly byly ekotoxikologicky zhodnoceny prostřednictvím biotestů s vodným výluhem a biotestů v kontaktním uspořádání. Pro provedení biotestů s vodným výluhem byly použity organismy *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*, *Sinapis alba* a *Lemna minor*. Biotesty v kontaktním uspořádání byly provedeny na organismech *Heterocypris incongruens*, *Lactuca sativa* a *Eisenia fetida*.

ABSTRACT

Sediments and sewage sludges are part of the environment. Sewage sludges are formed in wastewater treatment plants as solid residues after water purification, therefore they have anthropogenic origine. Although the sediment are formed by natural processes, humans also contribute to their formation. Sediments and sewage sludges can be a reservoir of a number of contaminants, due to their properties. Utilisation of sediments and sewage sludges as material for recultivation or a natural fertilizer is currently supported. But after application to the land, contaminants can be released to the environment. The consideration of ecotoxicological effects of sediments and sewage sludges is very important. Sediments and sewage sludges were ecotoxicologically evaluated by bioassays with water leacheate and by whole sediment bioassays. *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*, *Sinapis alba* and *Lemna minor* were used to perform tests with water leacheate. *Heterocypris incongruens*, *Lactuca sativa* and *Eisenia fetida* were used to perform whole sediment tests.

KLÍČOVÁ SLOVA

sedimenty, čistírenské kaly, ekotoxicita, biotesty

KEY WORDS

sediments, sewage sludge, ecotoxicity, biotests

Ondrová J. Hodnocení kalů a sedimentů pomocí testů ekotoxicky, Brno, Fakulta chemická, 2013. 104 s. Vedoucí MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji MVDr. Heleně Zlámalové Gargošové, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, cenné rady, ochotu, trpělivost a vstřícnost.

OBSAH

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Čistírenské kaly	8
2.1.1	Vznik a zpracování kalů	8
2.1.2	Složení kalů	10
2.1.3	Polutanty v kalech	13
2.2	Sedimenty.....	20
2.2.1	Úprava sedimentů.....	20
2.2.2	Složení sedimentů.....	21
2.2.3	Polutanty v sedimentech.....	22
2.3	Biodostupnost polutantů po aplikaci kalů a sedimentů na půdu	25
2.4	Ekotoxikologické biotesty využívané k posouzení kalů a sedimentů.....	29
2.4.1	Testy s vodným výluhem.....	31
2.4.2	Kontaktní testy	33
2.5	Studie zaměřené na ekotoxikologické posouzení kalů a sedimentů	34
2.6	Sedimenty a kaly v legislativě České republiky	40
2.7	Sedimenty a kaly v evropské legislativě.....	42
3	Experimentální část.....	44
3.1	Odběr vzorků	44
3.2	Pomůcky a zařízení.....	46
3.3	Příprava vodného výluhu	47
3.4	Biotesty s vodným výluhem zvolené pro posouzení ekotoxicity vzorků sedimentů a kalu..	48
3.4.1	Daphtoxkit F TM	48
3.4.2	Thamnotoxkit F TM	49
3.4.3	Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (<i>Sinapis alba</i>)	50
3.4.4	Test inhibice růstu okřehku menšího (<i>Lemna minor</i>).....	52
3.5	Kontaktní biotesty zvolené pro posouzení ekotoxicity vzorků sedimentů a kalu.....	53
3.5.1	Ostracodtoxkit F	53
3.5.2	Screeningový test na klíčivost semen salátu setého (<i>Lactuca sativa</i> L.)	56
3.5.3	Test únikového chování žížal <i>E. fetida</i>	57
3.6	Výsledky.....	58
3.6.1	Příprava vodného výluhu.....	59
3.6.2	Biotesty s vodným výluhem	59
3.6.2.1	Daphtoxkit F TM	59
3.6.2.2	Thamnotoxkit F TM	61
3.6.2.3	Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (<i>Sinapis alba</i>)	64
3.6.2.4	Test inhibice růstu okřehku menšího (<i>Lemna minor</i>).....	66
3.6.3	Kontaktní biotesty	68
3.6.3.1	Ostracodtoxkit F.....	68
3.6.3.2	Screeningový test klíčivosti salátu setého (<i>Lactuca sativa</i>)	69
3.6.3.3	Test únikového chování s žížalou <i>E. fetida</i>	70
4	Diskuze výsledků	71
4.1	Biotesty s vodným výluhem.....	71

4.1.1	Srovnání výsledků jednotlivých biotestů.....	71
4.1.2	Srovnání výsledků jednotlivých vzorků	75
4.2	<i>Kontaktní biotesty</i>	80
4.2.1	Srovnání výsledků jednotlivých biotestů.....	80
4.2.2	Souhrné srovnání výsledků jednotlivých vzorků.....	82
4.3	<i>Srovnání testů s vodným výluhem a kontaktních testů</i>	83
5	Závěr	84
6	Reference	85
7	Seznam Příloh	94
	<i>Příloha 1: Výsledky předběžných testů s D. magna a T. platyurus</i>	94
	<i>Příloha 2: Tabulka probitových hodnot</i>	94
	<i>Příloha 3: Dunettova tabulka</i>	94
	<i>Příloha 4 Výběr norem, které upravují způsob ekotoxikologického posouzení odpadů</i>	94
8	Seznam zkratk	102

1 ÚVOD

Kaly a sedimenty tvoří nedílnou součást životního prostředí. Kaly vznikají v čistírnách odpadních vod jako pevný zbytek po vyčištění vody, jsou tedy antropogenního původu. Ačkoli sedimenty vznikají přirozenými procesy, k jejich vzniku z velké části člověk také přispívá. Vzhledem k velké produkci kalů a sedimentů a obsahu živin v nich, je možno tyto materiály za určitých podmínek využít místo komerčně vyráběných hnojiv na zemědělské půdě a k remediaci poškozené krajiny.

Kaly a sedimenty ale obsahují také polutanty, které se zde kumulovaly v procesu čištění a úpravy vod nebo přirozenými procesy probíhajícími v přírodě. Vysoký obsah organické hmoty, jílových minerálů a drobných částic představuje ideální povrch pro sorpci organických polutantů a rizikových prvků. Kaly je proto nutno před jejich použitím vhodně upravit a stabilizovat. Sedimenty jsou na povrch terénu aplikovány po svém odvodnění a posouzení jejich kontaminace polutanty. Úroveň stabilizace a koncentrace polutantů je možno zjistit pomocí chemické analýzy, ta ale nevypovídá o skutečné toxicitě materiálu. Vhodnou alternativou k chemické analýze jsou ekotoxikologické biotesty. Biotesty mohou poskytnout informaci o skutečné toxicitě kalů a sedimentů, o tom, jakým způsobem působí na organismy a jaké koncentrace jsou pro organismy nebezpečné.

Využití biotestů k posouzení ekotoxicity sedimentů a kalů je zakotveno také v české legislativě. Biotesty slouží k posouzení nebezpečné vlastnosti H 14, vhodnosti uložení sedimentů a kalů na povrch terénu či k posouzení vhodnosti využití sedimentů na zemědělské půdě.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Kaly a sedimenty představují bohatý zdroj živin a nutrienu, jsou bohaté na organickou hmotu, dusík, fosfor a další živiny. Obsahují ale také vysoká množství kontaminantů.

Intenzivní využívání půd vede k poklesu obsahu organické hmoty a nutrienu a tím ke snížení úrodnosti půdy. Poptávka po zemědělských plodinách v důsledku populační exploze 20. století stále stoupá a zemědělské půdy jsou intenzivně hnojeny průmyslově vyráběnými hnojivy. Kaly, které vznikají v čistírnách odpadních vod a sedimenty naopak obsahují vysoká množství nutrienu i organické hmoty. Nabízí se tedy možnost využití kalů a sedimentů jako zemědělských hnojiv nebo při remediacích. Kaly i sediment musí být před svým použitím vhodně upraveny a musí být posouzena jejich toxicita, stabilita a hygienická nezávadnost podle platné legislativy.

2.1 Čistírenské kaly

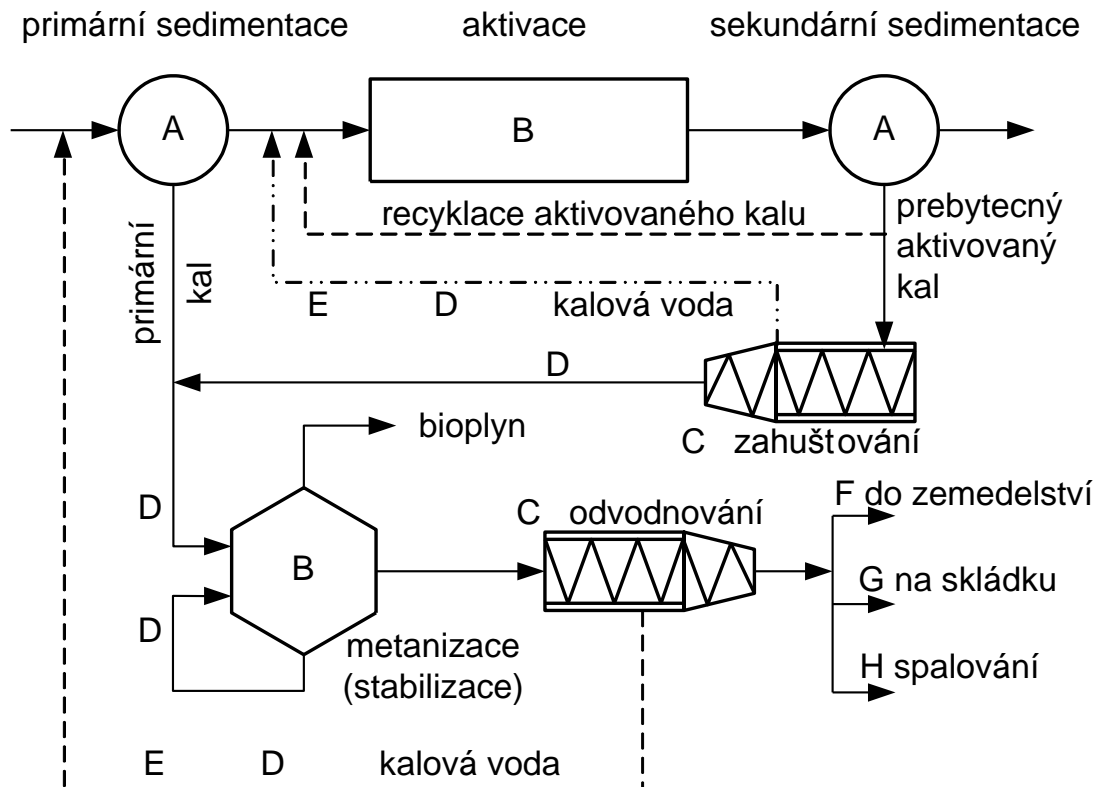
Čistírenské kaly jsou pevným zbytkem po vyčištění odpadních vod z různých zdrojů jako domácností, průmysl, lékařská zařízení či splachy z ulic a cest. Z uvedeného vyplývá, že kaly jsou velmi heterogenní matricí. Podle zákona č.185/2001 Sb., o odpadech se kalem rozumí kal z čistíren odpadních vod zpracovávajících městské odpadní vody nebo odpadní vody z domácností a z jiných čistíren odpadních vod, které zpracovávají odpadní vody stejného složení jako městské odpadní vody a odpadní vody z domácností, dále kal ze septiků a jiných podobných zařízení a kal z čistíren odpadních vod výše neuvedených [1].

2.1.1 Vznik a zpracování kalů

Kaly vznikají jako zbytek po čištění, popř. úpravě vody (čištění odpadní vody, proces úpravy pitné vody, čištění průmyslových odpadních vod) a představují přibližně 1 – 2 % z objemu znečištěných vod. Je v nich však zkoncentrováno 50 – 80 % původního znečištění. Kaly musí být po své produkci řádně upraveny, aby se zamezilo jejich negativnímu působení na životní prostředí a lidské zdraví [2].

Kaly se v čistírně odpadních vod (ČOV) usazují nejprve ve formě primárního kalu, který se odděluje ze surové vody v usazovacích nádržích. Má zpravidla zrnitou strukturu a je tvořen nerozpuštěnými látkami. Sekundární kal vzniká v biologickém stupni čištění odpadních vod a odděluje se od vyčištěné vody v dosazovacích nádržích. Má vločkovitou strukturu a je ovlivněn technologií čistícího zařízení, ve kterém vznikl. Oba druhy kalů se spojují a společně nebo odděleně se zahušťují. Spojením primárního a sekundárního kalu vzniká surový kal. Surový kal musí být před jeho dalším použitím řádně upraven na tzv. stabilizovaný kal [2]. Stupeň stabilizace kalu odpovídá zamýšlenému použití. Obecně se za stabilizovaný kal

pokládá takový, který nezpůsobuje žádné škody na životním prostředí a nevyvolává obtíže při zacházení s ním. Z hlediska technologického se za stabilizovaný kal pokládá kal upravený tak, aby nedocházelo k jeho dalšímu biologickému rozkladu. Kal musí být před svým použitím v životním prostředí také hygienizován (odstranění patogenních mikroorganismů) [3]. Dále je nezbytné snížit množství vody v kalu. K tomu dochází například v odkalištích, kalových lagunách nebo za použití rostlin. Modelové zpracování kalů na ČOV je uvedeno na **Obrázku 1**.



Obr. 1.: Základní schéma čistírny odpadních vod s kalovým hospodářstvím. Procesy: A - sedimentace, B - stabilizace, C - kondicionace, zahušťování a odvodňování, D - čerpání, E - vracení kalové vody, F, G, H - využití [2].

Následující **Tabulka 1** podává stručný přehled o krocích, které vedou k požadované kvalitě kalu, aby mohl být použit k finálním metodám úpravy. Finální úpravy kalu zahrnují například kompostování, aplikaci na zemědělskou půdu, chemickou stabilizaci vápněním a spalování [4].

Tab. 1.: Primární metody používané při úpravě kalů [4].

Název metody	Popis metody
Kondicionace	chemická, termická nebo fyzikálně-chemická předúprava, např. přídavek flokulantů ke zlepšení odvodnitelnosti kalů, termická předúprava aktivovaného kalu a pod
Zahušťování a odvodňování	metody pro zvýšení koncentrace sušiny kalu před jeho dalším zpracováním (na koncentraci sušiny do cca 40 %)
Desintegrace	mechanická (mlýny, vysokotlaké homogenizátory, lyzátovací zahušťovací centrifugy), fyzikální (ultrazvuk), fyzikálně-chemická (termická hydrolýza, alkalická nebo kyselá hydrolýza)
Hygienizace a inaktivace patogenů	hygienizace může být zařazena jako samostatná metoda, a to před nebo po stupni stabilizace kalu anebo hygienizačně působí již zvolená technologie zpracování kalu (např. termofilní aerobní nebo anaerobní stabilizace, všechny termické metody)
Anaerobní biologická stabilizace	methanizace - metoda zušlechtnění odpadu přeměnou převážné části jeho organické sušiny na bioplyn, současně dochází k minimalizaci množství zpracovávaného materiálu a k jeho hygienizaci;
Aerobní biologická stabilizace	mezofilní, probíhá obvykle v otevřených nádržích, termofilní (autotermní), vyžaduje uzavřené reaktory často jako předstupeň anaerobní stabilizaci (Duální systém)
Sušení	zvýšení obsahu sušiny na 60-95 %;

2.1.2 Složení kalů

Kal je definován jako suspenze pevných látek ve vodě. Základní komponenty kalů jsou následující:

- netoxické organické látky (až 60 % v sušině), sloučeniny dusíku a fosforu
- toxické látky:
 - těžké kovy
 - organické polutanty
- mikroorganismy z čistírenského procesu a jiné včetně patogenních
- anorganické sloučeniny křemíku, hliníku, železa, vápníku, hořčíku, aj.
- voda [3].

Organická hmota

Základním stavebním kamenem organické hmoty (organic matter, OM) je uhlík, který tvoří složité aromatické i alifatické struktury. Uhlík vytváří kostru chemických struktur v OM a je také částí funkčních skupin. Z ostatních prvků obsahují funkční skupiny nejčastěji kyslík, dusík, síru či fosfor.

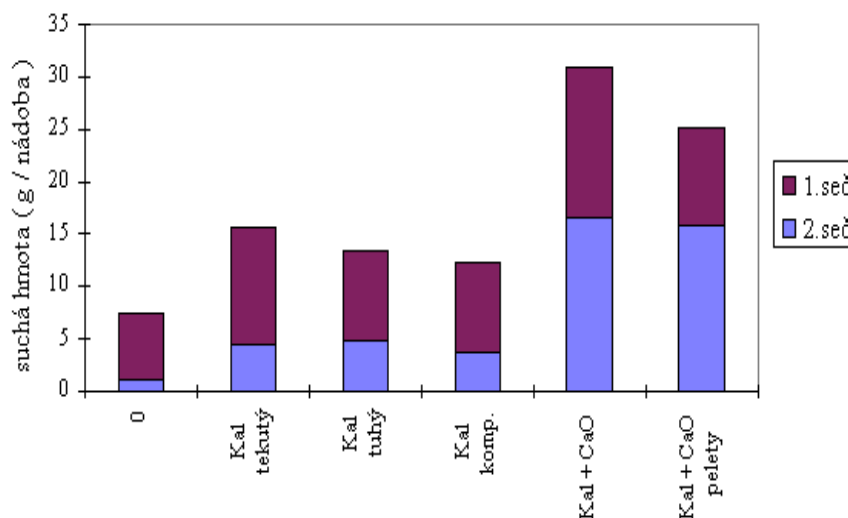
Organická hmota může být rozdělena na pevnou a rozpuštěnou (dissolved organic matter, DOM) frakci a tvoří v kalech 40-80 % celkové hmoty [5]. V kalech je přítomná tzv. primární organická hmota, která ještě není humifikována či mineralizována a slouží k výživě půdní bioty. Působením chemických, biochemických i fyzikálních transformací je primární organická hmota jednak mineralizována, jednak přeměněna na humus. Humus se skládá z látek huminových, které jsou dále děleny na humin, huminové kyseliny a fulvokyseliny a z látek nehuminových.

Působení OM v půdě lze charakterizovat takto [6]:

- zaručuje rozvoj mikroorganismů a makroedafonu (zdrojem energie pro mikroorganismy)
- mineralizací organické hmoty je produkován CO_2 a ostatní minerální látky, které jsou zdrojem živin pro mikroorganismy i rostliny
- je primárním zdrojem pro tvorbu huminových látek
- zlepšuje fyzikální vlastnosti půd

Jakost organické hmoty pro využití na zemědělské půdě nezáleží pouze na množství uhlíku, ale také na jeho "kvalitě", která je dána typem chemických struktur, ve kterých je uhlík přítomen [7].

Díky obsahu organické hmoty mohou být kaly využity k hnojení zemědělské půdy nebo například k rekultivacím. Pozitivní vliv obsahu živin v kalech dokumentuje **Obrázek 1**, kde je zaznamenána výnosnost jílku vytrvalého po aplikaci různě upravených kalů [8]. Vzhledem k tomu, že kaly obsahují také velmi škodlivé složky, je nutné je nejprve řádně stabilizovat a zvážit výhody i nevýhody jejich konkrétního užití [3].



Obr. 2.: Výnos jílků vytrvalého v nádobovém pokusu po aplikaci různě upravených kalů [8].

Organická hmota v kalech může být důležitou součástí moderního zemědělství. Na druhou stranu obsahuje obecně vysoká množství polutantů.

Anorganické látky

Zdroje vstupů anorganických komponent do odpadních vod je nutné hledat v průmyslových a občanských činnostech v okolí ČOV, v korozi kovových potrubí a erozi půdy [9]. Hlavní podíl anorganických částic v kalech tvoří jílové částice.

Mezi anorganické látky, které jsou přítomné v kalech, jsou řazeny také nutrienty. Nejvíce diskutovanými nutrienty jsou dusík a fosfor. Oba prvky se v kalech vyskytují ve srovnání s půdou ve zvýšeném množství.

Dusík je obsažen v čistírenských kalech v organické formě (většinou aminokyseliny) a ve formě minerální jako amonný nebo nitratový dusík. Forma dusíku je důležitá pro stanovení přístupnosti dusíku pro rostliny. Koncentrace organického a anorganického dusíku v čistírenských kalech je ovlivněna způsobem ošetření kalů. Dusík je na ČOV odstraňován především biologicky, dále membránovými procesy, iontovou výměnou, aerací či oxidací chlorem [3].

V upraveném kalu je cca 50 % fosforu v biodostupném stavu [10]. Pokud je pro úpravu kalu využito anaerobní digesce, fosfor je přítomen především v anorganické formě. Pokud je kal ošetřen aerobně, je v kalu vyšší koncentrace fosforu v organické formě. Fosfor je z odpadní vody odstraňován srážením, adsorbicí, iontovou výměnou, biologicky za použití rostlin a jinými metodami [3].

Kal, který vzniká z odstraňovaných přebytků živin, může být lisován do granulí a sloužit tak jako hnojivo. Chemické metody vedoucí k odstranění nutrientů jsou finančně náročnější než metody biologické [3]. Pokud má být kal použit na zemědělské půdě, je třeba aplikovat taková množství nutrientů, aby nedošlo k přehnojení půdy a jejich následnému vyplavení. Kaly obsahují také zvýšené množství mikronutrientů (např. Fe, Cu, Mn, Zn) [11].

2.1.3 Polutanty v kalech

Velkou nevýhodou čistírenských kalů je přítomnost organických polutantů a rizikových prvků ve zvýšeném množství. Kvalita a kvantita polutantů, které se vyskytují v odpadních vodách, ze kterých se v procesu čištění separuje kal, závisí na:

- Velikosti a typu aglomerace
- Vodovodní síti a topení
- Složení exkrementů
- Atmosféře, depozici a smyvech
- Průmyslu v lokalitě
- Používání kovů a kovových předmětů
- Typu a intenzitě dopravy
- Čištění ulic
- Systému údržby, sběru odpadků a kontrole dešťové vody
- Havarijních únicích

Koncentrace polutantů není dána pouze počáteční koncentrací v odpadní vodě, ale mimo jiné také typem úpravy kalů. Množství polutantů se mění v jednotlivých krocích úpravy kalů. Proto je nezbytná jejich řádná úprava a stabilizace před použitím na zemědělské půdě. Polská studie ukázala, že obsah PAHs je v různých stupních stabilizace výrazně vyšší než na konci těchto procesů, což je zřejmě dáno mineralizací. U kovů je tomu právě naopak, neboť se koncentrují ve velmi těžce rozložitelných částech kalů [12].

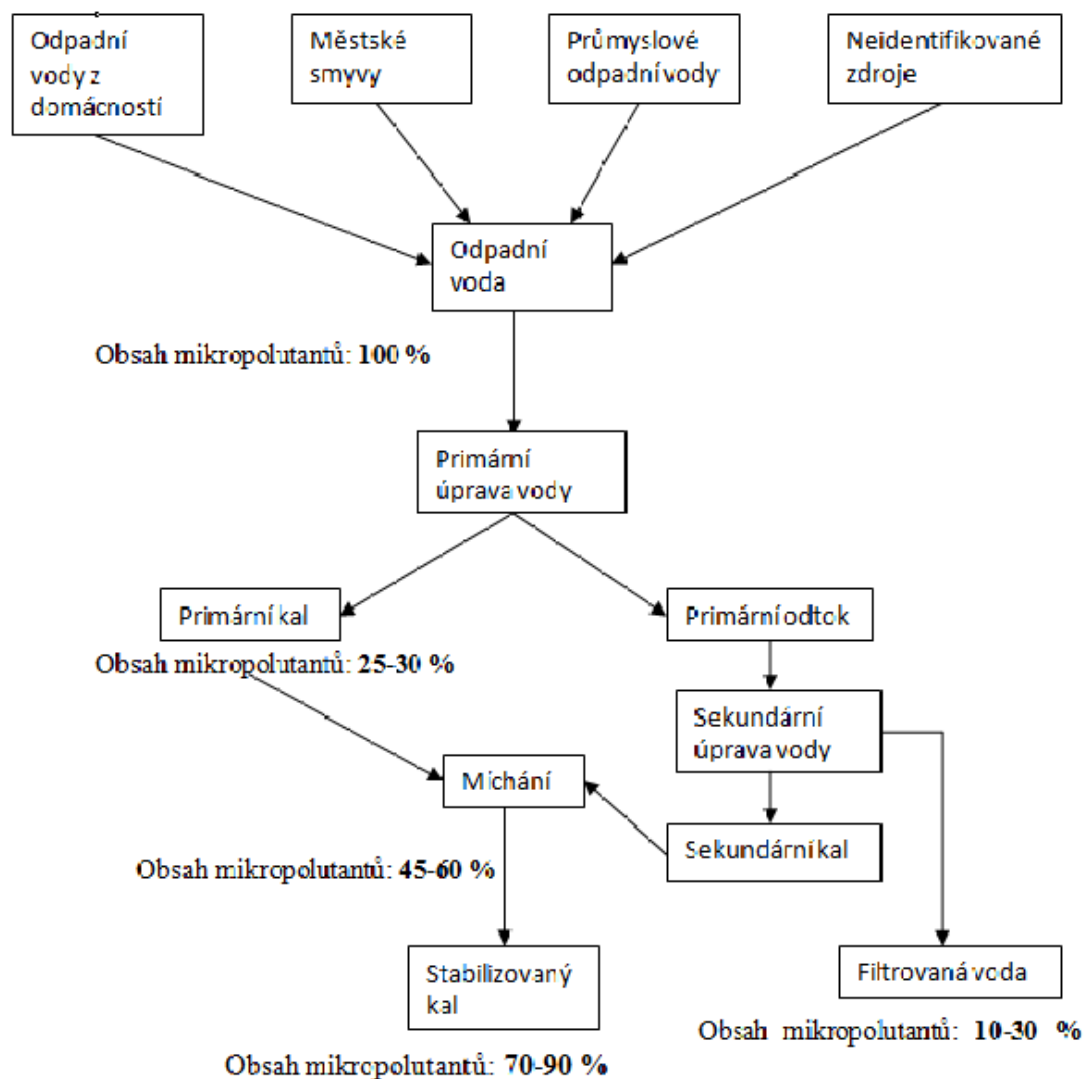
Po aplikaci kalů na půdu dochází k přestupu polutantů do půdní matrice, může docházet k vyluhování do podzemní vody a ke zvýšené mobilitě kovů v prostředí. Neméně nebezpečná je bioakumulace polutantů v biotě a bioobohacování v potravním řetězci.

Následujících kapitoly se budou stručně zabývat rizikovými prvky, organickými polutanty a patogeny, které se vyskytují v kalech, ve vztahu k jejich ekotoxicitě v půdním prostředí.

Anorganické polutanty

V kalech se vyskytují ve vysokých koncentracích jednak anorganické nutrienty, jednak rizikové prvky. Rizikové prvky jsou i ve velmi nízkých koncentracích pro životní prostředí nebezpečné. Jsou toxické, bioakumulativní a persistentní.

V procesu úpravy odpadních vod dochází k zakoncentrování mikropolutantů v kalech. Tento proces a koncentrace v různých krocích úpravy je schematicky uveden na **Obrázku 3**.



Obr. 3.: *Původ a osud mikropolutantů během úpravy odpadních vod [13].*

Koncentrace a spektrum rizikových prvků v odpadní vodě z domácností a výroby se liší. U průmyslové odpadní vody záleží především na surovinách a postupech výroby. Proto je rozsah koncentrací vysoký. Průměrné koncentrace odpadní vody z domácností jsou uvedeny v **Tabulce 2**.

Tab. 2: Koncentrace rizikových prvků v odpadní vodě z domácností [14].

Kov	Koncentrace v odpadní vodě (mg.l⁻¹)
Pb	0,1
Cu	0,2
Zn	0,1-1,0
Cd	<0,03
Cr	0,03
Ni	0,04

Koncentrace rizikových prvků v čistírenských kalech v České Republice, Německu a Spojených státech amerických ukazuje **Tabulka 3**.

Tab. 3.: Koncentrace rizikových prvků v anaerobně upravených kalech [9].

Kov	ČR (mg.l⁻¹)	NDR (mg.l⁻¹)	USA (mg.l⁻¹)
As	6	-	9
Cr	136	91	1800
Ca	2,6	3,8	87
Co	8,3	-	350
Cu	235	330	1250
Mo	3,9	-	-
Ni	55	39	410
Pb	68	159	1940
Hg	4,2	2,7	7
Zn	1170	1318	3483

Pokud je posuzováno nebezpečí kontaminace půdy rizikovými prvky, je nutno zvážit i jiné parametry, než jen samotnou koncentraci kovů v kalu. Mobilita a biodostupnost kovů je dána jejich formou a schopností vazby na komponenty půdy či kalu a také vlastnostmi prostředí. Toxicita rizikových prvků v půdním prostředí je ovlivněna kombinací více faktorů, které zahrnují množství jílu, organické hmoty, amoniaku, solí, nízkomolekulárních organických kyselin atd [15].

Rizikové prvky se v čistírenském kalu vyskytují ve formě organických komplexů, hydroxidů, karbonátů, fosfátů, silikátů, sulfidů nebo sulfátů. Jsou zabudovány v pevném podílu kalu a zůstávají v něm v celém procesu mechanicko-biologického čištění [9]. Například měď, chrom a nikl se v kalech vyskytují převážně vázané na organické a reziduální části kalu, zinek se vyskytuje v různých chemických formách (uhličitany, mangan-oxidy, organické sulfidy, oxidovaný zinek), ale také v reziduální části kalu [16].

Organické polutanty

Během úpravy kalů dochází k sorpci organických látek (především hydrofobních a lipofilních) na částice kalů, kde se poté vyskytují ve zvýšených koncentracích. Některé látky ale mohou zůstat ve vodném prostředí a být kompletně degradovány nebo mineralizovány.

Osud organických polutantů v průběhu úpravy kalů je následující [8]:

- Sorpce
- Chemická degradace
- Biodegradace
- Vypařování

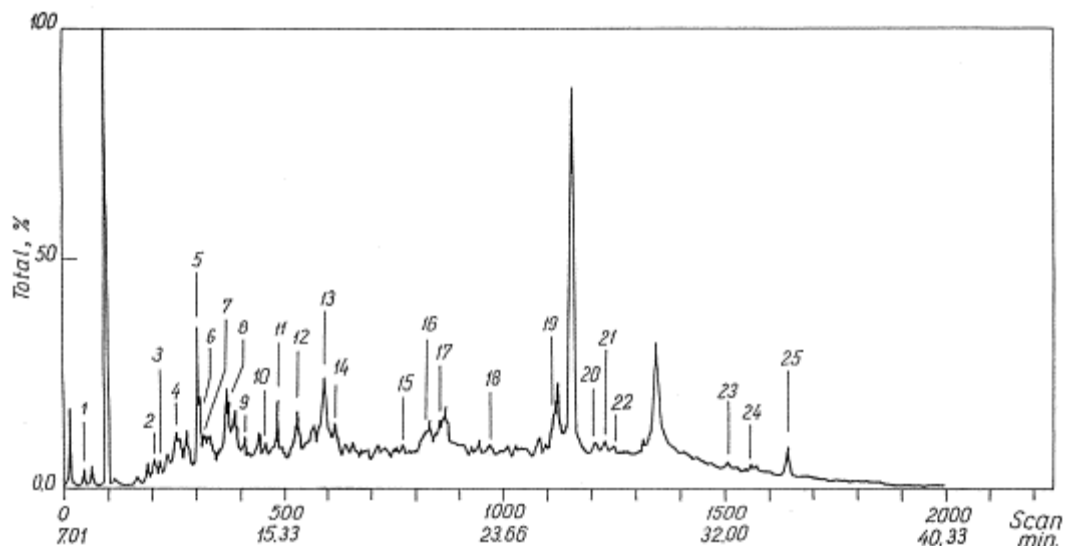
Procesy kumulace v lipidních strukturách jsou u každé látky dány rozdělovacím koeficientem n-oktanol/voda (K_{ow}). Pokud mají látky vysoký K_{ow} dochází k jejich sorpci na lipidní materiály. Intenzita volatilizace je dána Henryho konstantou (H_c). V případě vysoké H_c se látky snadno vypařují.

Wang et al. ve své práci uvádí, že organické polutanty jsou v kalech sorbovány na organickou hmotu a kumulovány do nitra biomasy (mikroorganismy) [17]. Organické polutanty jsou také kumulovány do nitra nano pórů, které se nachází ve struktuře organické hmoty [18].

Mezi organické polutanty, které jsou v kalech často přítomné, patří estery ftalátů, monocyklické aromáty (chlorbenzen), PAHs, polychlorované bifenyly (PCBs), polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDDs), polychlorované dibenzofurany (PCDFs), chlorované alifatické uhlovodíky (s krátkým řetězcem), triaryl-fosfátové estery, aromatické a alkyl aminy, fenoly a chlorované pesticidy [19].

Na přítomnost organických polutantů v kalech má velký vliv způsob úpravy kalů. Například PCBs a volatilní organohalogeny jsou resistantní k oxidativní degradaci a jsou degradovatelné pouze za anaerobních podmínek. Podle Zitomera a Speece je pro odstranění polutantů, které odolávají degradaci, nejlepším řešením použití sekvenčního režimu s oxidačními a redukčními kroky [20].

Koncentrace polutantů v kalech jsou velmi často měřeny, **Obrázek 4** ukazuje například koncentrace PAHs naměřené v kalech z horního Slezska.



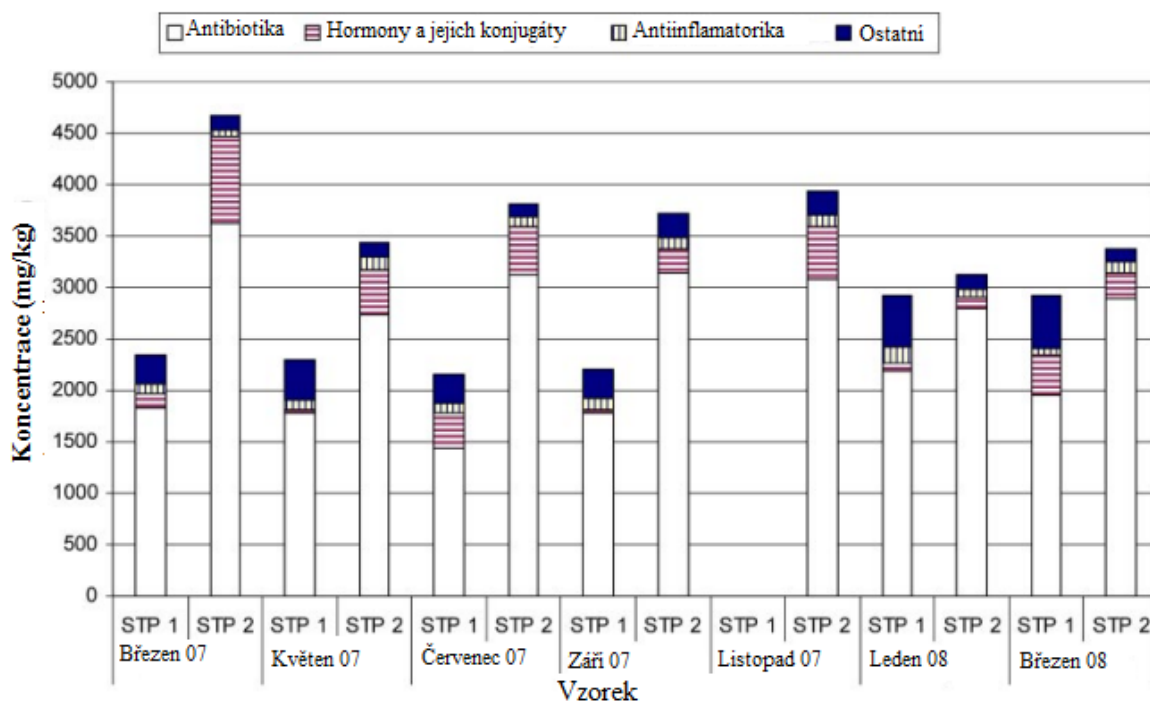
Obr. 4.: GC-MS iontová chromatografie - frakce PAHs separované pomocí SPE ze vzorků kalů.: (1) naftalen, (2) fluoren, (3) dimetylbifenyl, (4) metylfluoren, (5) fenantren, (6) antracen, (7) dimetylfuoren, (8) metylantracen/fenantren, (9) dihydrofluorantren, (10) dimetylfenantren, (11) flarantren, (12) pyren, (13) benzo[a]fluoren, (14) benzo[b]fluoren, (15) benzo[ghi]fluorantren, (16) benz[a]antracen, 17 (chrysene), (18) dihydrobenzo[a]pyren, (19) benzo[k]fluoranten, (20) benzo[a]pyren, (22) perylen, (23) indeno[1,2,3-cd]pyren, (24) dibenz[a,h]antracen, (25) benzo[ghi]perylen [12].

Z výsledků nádobového a mikroparcelkového pokusu Výzkumného ústavu meliorací a ochrany půdy vyplynulo, že aplikace kalů v dávce 5 t sušiny/ha během 3 let významně neovlivňuje koncentrace sledovaných persistentních organických polutantů (POPs) v půdách a plodinách. U rostlin byl srovnáním nadzemní a kořenové části zjištěn značný rozdíl v obsahu sledovaných POPs, především PAHs a PCB6 dosahovaly vyšších hodnot koncentrace v nadzemní části rostlin. Srovnáním obsahů uvedených sloučenin v omytých a neomytých rostlinách byla potvrzena povrchová kontaminace rostlin, která významně převyšuje vstup těchto látek do rostlin transferovou cestou půda - rostlina. V druhém roce byl nárůst koncentrací již málo patrný. Nebyly konstatovány významnější rozdíly v obsahu POPs v půdě a rostlinách na oraných a neoraných variantách mikroparcelkového pokusu [21].

Léčiva

Do životního prostředí se dostávají jak veterinární, tak humánní léčiva. Tyto látky jsou detekovány v odpadní vodě z domácností, medicínských zařízení, zemědělských a chovatelských středisek. Při úpravě odpadní vody je část těchto látek z vodné fáze odstraněna. Například ibuprofen je odstraněn s více než 99% účinností, erytromycin je odstaněn až s 43% účinností (účinnost odstranění závisí na použitém typu biologického čištění). Léčiva jsou však velmi často sorbována na kal. Léčiva jsou z kalů odstraněna efektivněji, pokud je použit membránový bioreaktor (modifikované systémy s aktivovaným kalem, kde jsou sekundární čířící nádrže nahrazeny membránovým filtrem – firma Huber) než při použití standardního

bioreaktoru s aktivovaným kalem [22]. Koncentrace různých typů farmak v upravených kalech se liší, což je patrné z **Obrázku 5**.



Obrázek 5.: Koncentrace farmak stanovené ve vzorcích kalu z čistíren odpadních vod v Tarragoně (STP 1) a Reus (STP 2), Španělsko. Do skupiny s názvem Ostatní jsou zahrnuta antiulcerotika, antiepileptika, analgetika, stimulanty, betablokátory a lipidemika [23].

Po aplikaci kalů, které obsahují rezidua léčiv dochází k sorpci léčiv na částice půdy, degradaci a průsaku do podzemní vody. Vliv dlouhodobé aplikace kalů obsahujících léčiva na jejich koncentraci v půdě byl pozorován v obci Braunchsweig (Dolní Sasko). Po dobu 45 let zde byla půda zavlažována znečištěnou vodou (koncentrace léčiv $1\mu\text{g.l}^{-1}$) a hnojena čistírenským kalem. Z 52 sledovaných látek byly nalezeny 4 (karbamazepin, sulfametoxazol a dvě kontrastní látky pro rentgenové vyšetření). U těchto látek byla zjištěna více než 80% degradace. Sorpce na částicích půdy nebyla pravděpodobně příliš velká, jelikož se jednalo o prostředí s malým množstvím organické hmoty a jílu [24]. Ačkoliv jsou farmaka relativně dobře degradovatelná, jsou v půdním prostředí přítomna jejich rezidua a také jejich metabolity, které mohou být toxické a bioakumulativní.

Patogeny

Do ČOV se dostává také odpadní voda z domácností, proto se velká část organické hmoty, která je přítomna v kalech, skládá z lidských a zvířecích exkrementů. Exkrementy obsahují mnoho různých mikroorganismů, které jsou po procesu čištění odpadní vody detekovány v kalech. Živé či mrtvé mikroorganismy poskytují velký povrch ($0,8-1,2 \text{ m}_2 \cdot \text{g}^{-1}$) pro sorpci hydrofobních organických polutantů [17].

Z mikrobiologického hlediska jsou v surovém, smíšeném a částečně i ve stabilizovaném kalu přítomny mj. následující skupiny organismů:

- bakterie (psychrofilní, mezofilní i termofilní)
- viry (enteroviry)
- nižší houby (plísňe, kvasinky) a jejich spory a toxiny
- nižší živočichové (roztoči, červi) a jejich vajíčka

Jako potenciální patogeny se sledují především termotolerantní koliformní bakterie, enterokoky a bakterie rodu *Salmonella* sp., vajíčka helmintů a enteroviry.

Z těchto důvodů musí být kaly podrobeny sanitaci. Sanitační postupy závisí na kompozici patogenů, chemických a fyzikálních změnách, které by mělo výsledné složení mikroorganismů na kal. Sanitace kalů lze dosáhnout několika cestami, z nichž některé jsou uvedeny v **Tabulkách 4. a 5** [25].

Tab. 4.: Fyzikální sanitace kalů [25].

Typ úpravy	Způsob sanitace	Sanitační efekt na:			
		Viry	Bakter	Spor	Vajíčka
Pasterizace	30 min. 70°C	Střední	Vysok	Slabý	Vysoký
Ozáření	Ionizující záření	Slabý	Vysok	Slabý	Střední/vyso
CaO	Vysoké pH	Střední/vy	Vysok		Střední
Ca(OH)₂	Vysoké pH, 80 °C	Vysoký	Vysok		Vysoký

Tab. 5.: Biologická sanitace kalů [25].

Typ úpravy	Sanitační efekt na:		
	Viry	Bakterie	Vajíčka
Anaerobní digesce – Mezofilní (30-	Slabý	Slabý	Slabý
Anaerobní digesce – Termofilní (50-55	Střední/Si	Střední/Si	Střední
Aerobní digesce – Mesofilní (do 20 °C)	Slabý	Slabý	Slabý
Aerobní digesce – Termofilní (50-55	Dobrý	Silný	Silný
Kompostování (50-60 °C)		Silný	Silný

Stabilizace kalů uvedenými metodami výrazně sníží riziko kontaminace půdy a pěstovaných rostlin. Pokud je však kal po stabilizaci skladován, může se stát potenciálně patogenním.

2.2 Sedimenty

Sediment je definován, jako produkt akumulace materiálu pocházejícího ze zvětralých a erodovaných hornin a donesený na místo uložení buď ve stavu pevných částic nebo v roztoku. Sediment je uložen převážně ve vrstvách, které vznikají působením fyzikálních, chemických nebo biologických pochodů [26]. V sedimentech probíhají nejen aerobní, ale také anaerobní pochody, které mohou velmi významně ovlivnit jejich vlastnosti. Z hlediska hodnocení kontaminace sedimentů je třeba rozlišovat sedimenty říční (z proudících vod) a sedimenty z vod stojatých (rybníků, nádrží). Kromě rozdílné zrnitosti jsou velmi rozdílné i chemické vlastnosti obou typů sedimentů. Je známo, že obsah cizorodé látky v sedimentu je přímo úměrný podílu organické složky v sedimentu, délce expozice a koncentraci ve vodě [27].

Sedimenty hrají významnou roli v osudu kontaminantů ve vodním prostředí. Reflektují stav vody a její znečištění. Pokud jsou sedimenty uloženy například na zemědělskou půdu, ovlivňují také mobilitu a biodostupnost nutrientů a polutantů v půdním prostředí.

2.2.1 Úprava sedimentů

V České republice se vyskytuje 97 milionů m³ jezerních a 5 milionů m³ říčních vytěžených sedimentů. Těžba je pro zamezení nadbytečnému ukládání sedimentů ve vodních tělesech nezbytná [28].

V sedimentech jsou akumulovány nutrienty a organická hmota (především v rybnících). Proto jsou sedimenty potenciálním hnojivem, stejně jako kaly. Musí však být nejdříve vhodně upraveny. Podle European Sediment Network (SedNet) je v EU ročně vytěženo 100-200 milionů m³ kontaminovaných sedimentů. Vzhledem k velkým množstvím vytěženého materiálu a finanční náročnosti jeho stabilizace, je lepší využít preventivní přístup - to znamená kontrolu zdrojů sedimentů. Preventivní kontrola zdrojů sedimentů ale není 100% řešením, proto je důležitá také jejich úprava [29]. Základní metody úpravy sedimentů jsou uvedeny v **Tabulce 6**.

Tabulka 6.: Metody úpravy sedimentů (29).

Přemístění	1. Otevřené vodní nádrže
	2. Vytěžení
Mechanická separace	1. Klasifikace
	2. Rozdělení
Odvodnění	1. Odpaření
	2. Mechanické odvodnění
Separace kontaminantů	1. Biologická redukce
	2. Chemická oxidace
	3. Termální desorpce
Imobilizace kontaminantů	1. Chemická imobilizace
	2. Termální imobilizace
Využití	Rozmístění na povrchu terénu

2.2.2 Složení sedimentů

Sedimenty jsou tvořeny částicemi písku, jílu, šterku, kalu, rozloženými těly organismů a mnoha dalšími materiály. Tyto částice jsou v přírodě transportovány větrem, vodou, erozí či sněhem a ledem a usazují se na dně vodních těles, kde podléhají dalším změnám. Sedimenty mohou být přírodního nebo antropogenního původu. Dále je můžeme dělit na mořské, říční, jezerní sedimenty atd. Původ sedimentu ovlivňuje jeho vlastnosti a obsah polutantů.

Složky sedimentu jsou podle původu děleny do následujících skupin:

- Allogenní složky - vznikly mimo říční sediment a byly transportovány do vody. Jsou to hlavně jílové minerály a ostatní silikáty, oxyhydroxidy a oxidy železa a manganu. V přírodní organické hmotě jsou průměrně z 20 % zastoupeny polysacharidy, proteiny a lipidy. Podle stupně kontaminace je též zastoupena organická hmota antropogenního původu [30].
- Endogenní složky (akvagenní) - vznikly přímo v říční vodě. Jedná se o anorganické složky, které vznikly chemickým srážením (oxyhydroxidy železa a manganu, karbonáty vápníku a hořčíku, v anoxidické části profilu sedimentu i sulfidy;), anorganické složky, které byly součástí některých organismů a po jejich odumření se uvolnily do sedimentu (SiO_2 , CaCO_3); biogenní úlomky a látky vzniklé degradací mikroorganismů (akvagenní fulvokyseliny a huminové kyseliny, polysacharidy, úlomky buněčných stěn) [30].
- Autigenní složky (diagenetické) jsou sekundárního původu. Vznikly přímo v sedimentu po uložení, ale ještě před jeho ustálením. V sedimentu dochází k přeměně již existujících komponent, k vylučování koloidů a mísení pevné minerální fáze s roztoky [30].

Složení organické hmoty sedimentů je částečně jiné než složení organické hmoty kalu. Organickou hmotu sedimentů tvoří především zbytky rostlin a živočichů, které byly sedimentovány. Organická hmota sedimentu je mineralizována bakteriemi ještě před vytěžením. Ve svrchní vrstvě dochází k aerobní dekompozici, uvnitř sedimentu dochází k anaerobní dekompozici organické hmoty. Nedílnou součástí sedimentů je pórová voda, která umožňuje mobilitu polutantů.

2.2.3 Polutanty v sedimentech

Jako fyzikální polutant ovlivňují sedimenty vodní tělesa zvýšením turbidity a také zvýšenou sedimentací. Vysoká turbidita zabraňuje průniku světla skrz vodní sloupec a limituje tak vodní biotu. Zvýšená sedimentace vede ke změnám hydraulických charakteristik vodních útvarů a ke snižování vodní hladiny [31].

Sedimenty působí také jako reservoár chemických polutantů. Vzhledem k vysokému podílu organické hmoty a jílových minerálů dochází v sedimentech k zakoncentrování polutantů, stejně jako v kalech.

Dnové sedimenty nejsou úplně stabilní. Především malé částice, které jsou nositeli znečištění se pohybují také ve vodním sloupci, kde dochází k uvolňování např. i hydrofobních látek, které se pak nachází volně ve vodě [31].

Biodostupnost polutantů závisí na vlastnostech sedimentu jako je: podíl organické hmoty, velikost částic, mikrobiální aktivita, pH, redoxní potenciál atd. Velmi také záleží na tom, z jakého vodního tělesa sediment pochází. Pokud je sediment odebrán z vodního toku nebo rybníku v urbanizované zóně, koncentrace polutantů jsou vyšší, než pokud je odebrán například z lesního rybníku (ačkoliv pH v lesních rybnících bývá nižší a dochází tak k většímu uvolnění kovů ze sediment do prostředí). Pokud je sediment aplikován na půdu, je toxicita polutantů ovlivněna také půdním prostředím.

Pro co nejobjektivnější vyhodnocení toxicity sedimentů je důležité znát fyzikálně-chemické charakteristiky testovaného vzorku, biologické charakteristiky a toxické působení na organismy (biotesty). Spojení těchto tří stanovení tvoří tzv. Koncept Triády [32].

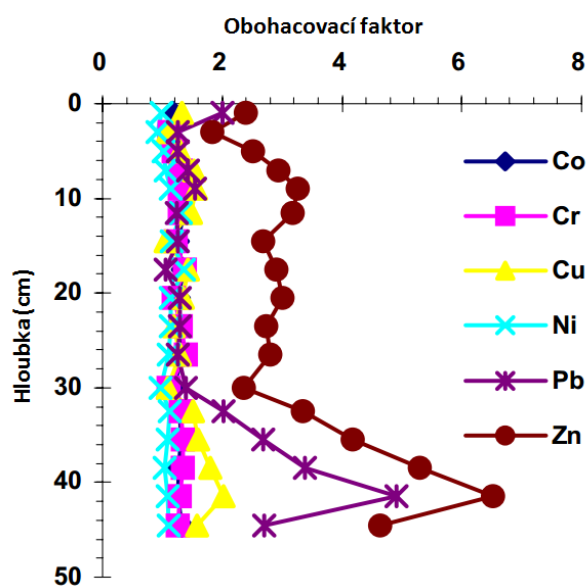
Anorganické polutanty

Mezi anorganické polutanty v sedimentech patří především fosfor, amoniak a rizikové prvky. Zatímco u kalů je možné amoniak a fosfor odstranit v procesu stabilizace kalu, sediment musí být podroben samostatné úpravě. Při kontaktu sedimentu s vodou dochází k přechodu fosforu mezi oběma matricemi až do rovnovážné koncentrace. Fosfor se váže na sediment především ligand-výměnnými procesy na vazebná místa Me-OH^{2+} a Me-OH , dále také elektrostatickými interakcemi. Redoxní potenciál má tudíž na vazbu fosforu v sedimentech velký vliv. Sorpce fosforu je také ovlivněna přítomností železa a hliníku [33].

Fosfor může být ze sedimentů odstraněn fosfor-rozpouštějícími mikroorganismy [34]. Dalším způsobem může být odstranění za pomoci rostlin.

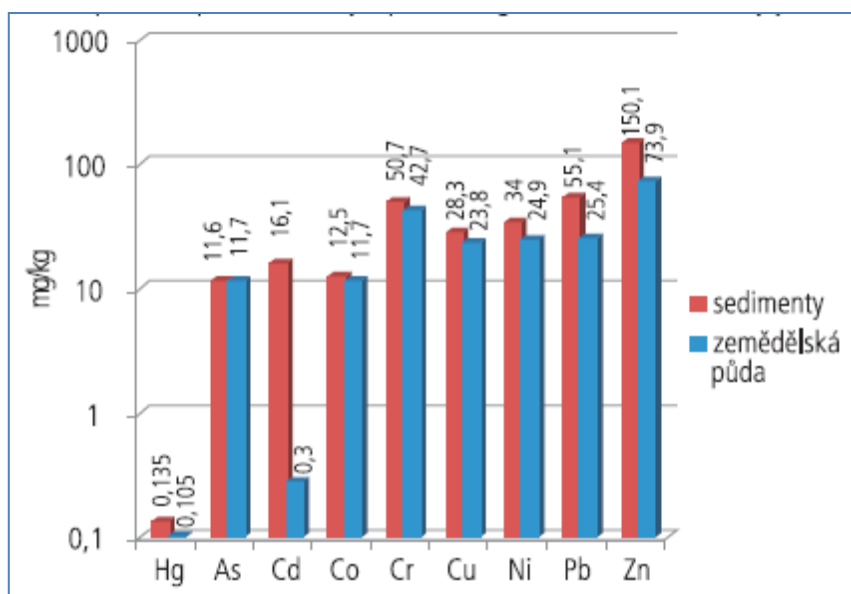
Rizikové prvky mohou být ze sedimentu do vody uvolněny iontovou výměnou, desorpcí z organické hmoty nebo rozkladem karbonátů, destrukcí redukovatelných složek, jako jsou oxidy železa a manganu, oxidací organické hmoty a sulfidů a destrukcí struktury minerálů [30].

Ve studii zabývající se sedimenty z několika čínských řek byl zkoumán vliv hloubky ze které byl sediment odebrán na kumulaci rizikových prvků vyjádřenou obohacovacím faktorem. Obohacovací faktor porovnává relativní koncentraci polutantů v biotě s koncentrací v prostředí. Výsledky jsou prezentovány na **Obrázku 6**.



Obrázek 6.: Závislost obohacovacího faktoru několika rizikových prvků na hloubce sedimentu, řeka Songhua, Čína [35].

Ze studií zabývajících se porovnáním obsahu rizikových prvků v sedimentech a v zemědělské půdě je patrný vyšší obsah v sedimentech. Největší, až dvojnásobné rozdíly v obsahu rizikových prvků je pozorován u Zn a Cd. Koncentrace rizikových prvků v půdě a sedimentu jsou uvedeny na **Obrázku 7**.



Obr. 7.: Porovnání obsahu rizikových prvků u sedimentů a u zemědělských půd (pro větší přehlednost bylo použito logaritmické měřítko u osy y) [36].

Organické polutanty

Organické polutanty vázané na sediment jsou, narozdíl od kovů, biodegradovány a biotransformovány biomasou v sedimentech. Průměrné koncentrace hlavních skupin POPs v sedimentech z agrární, vesnické a lesní oblasti jsou uvedeny v **Tabulce 7**.

Tabulka 7.: Koncentrace organických polutantů ve vybraných vzorcích sedimentů z polní, vesnické a lesní oblasti [37].

Oblast odběru sedimentu	PAHs ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	PCB ₇ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	DDT ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	BTEX ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	C ₁₀ -C ₄₀ (mg.kg^{-1})
Pole	694	15,1	9,19	31,2	100
Vesnice	3386	14,2	15	130,35	105
Les	517	15,4	8,83	66,3	100

Následující **Tabulka 8** ukazuje koncentrace některých polutantů v sedimentu, pórové vodě a ve výluhu získaném vymýváním. V tabulce je vidět, že polutanty jsou kumulovány v pevné části sedimentu.

Tabulka 8.: Koncentrace dusičnanu kademného a organických polutantů v sedimentu, pórové vodě a ve výluhu získaném vymýváním [38].

Látka	Koncentrace v sedimentu (mg.kg ⁻¹ sušiny)	Koncentrace v pórové vodě (mg.kg ⁻¹ sušiny)	Koncentrace ve vodném výluhu (mg.kg ⁻¹ sušiny)
Dusičnan kademnatý	1000	0,04	0,14
4-Nitrofenol	800	196	38,4
1-Metylnafthalen	1271	4,4	3,1
Dibutylftalát	1638	3	4,6
Pyren	176	0,03	0,03

Koncentrace polutantů v průběhu časového období vzrůstá. V roce 2003 byly v jednom z čínských jezer naměřeny 2x vyšší koncentrace POPs než v roce 1985 [39].

2.3 Biodostupnost polutantů po aplikaci kalů a sedimentů na půdu

Termín biodostupnost byl nejprve užíván ve farmakologii, kde vyjadřoval dostupnost léků po intravenózním nebo orálním podání, později termín začali používat vědci, zabývající se životním prostředím při hodnocení expozice organismů půdním kontaminantům [40].

Vzhledem k tomu, že biodostupnost je pojem používaný v mnoha vědních odvětvích a mnoha různými autory, má tento termín také řadu mírně se lišících definic. Poměrně široce může být biodostupnost definována, jako schopnost chemické látky být přijímána organismem z okolního prostředí. Je dána vlastnostmi dané chemické látky, vlastnostmi organismu a fyzikálními a chemickými vlastnostmi prostředí, ve kterém se daná látka nachází.

Biodostupnost polutantů, které jsou do půdy aplikovány spolu s kaly a sedimenty, závisí na vlastnostech kalu, půdního prostředí a na vlastnostech látek samotných.

Biodostupnost organických polutantů i kovů je ovlivněna především chemickou speciací polutantů, jejich lipofilitou, podílem organické hmoty a jílových minerálů, strukturou půdy a množstvím pórů, redoxním potenciálem, pH, kationovou výměnnou kapacitou, teplotou, složením mikroflóry, množstvím vody v půdě a jejím pohybem či tzv. ageingem (vliv času, po který je polutant ve styku s půdou).

Následuje přehled některých vlastností, které ovlivňují biodostupnost polutantů v kalech po aplikaci na půdu.

Stav polutantů

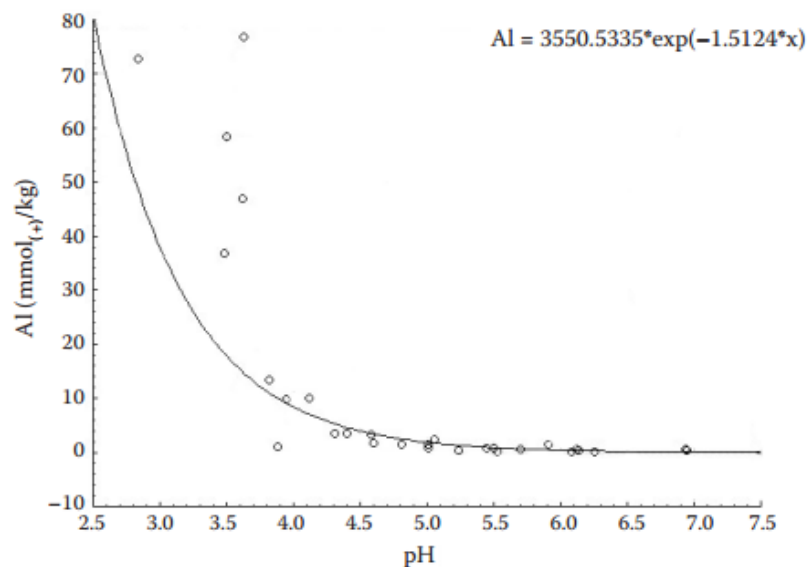
Kovy jsou v kalech a sedimentech většinou ve formě komplexů nebo vázané do chemických struktur, ale při aplikaci na půdu může dojít ke změně fyzikálně-chemických podmínek a k uvolnění kovů do prostředí. Organická hmota a jílové minerály poskytují sorpční prostředí pro vazbu jak kovů, tak organických polutantů. Organické polutanty jsou biodostupné, pokud nejsou vázány na částice. Důležitá je rovněž jejich lipofilita.

Biodostupnou frakci rizikových prvků je možno stanovit např. extrakcí vodou, neutrálním roztokem solí, EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová) [41]. Ke stanovení biodostupnosti polutantů je možno využít kombinaci biotestů s chemickou analýzou (např. bioakumulační test s *E. fetida*, *E. albidus*).

pH

pH ovlivňuje především biodostupnost rizikových prvků, na organické pulutanty nemá tak výrazný vliv. Z organických polutantů ovlivňuje pH hlavně molekuly, které jsou ionizované [41].

Při vyšším pH jsou kovy spíše vázány v hydroxidech a jiných sloučeninách, při nižším pH je zvýšena jejich přítomnost ve formě iontů. U kovů obecně platí, že nižší pH podporuje jejich přítomnost ve vodném roztoku a zvyšuje tak jejich biodostupnost. Pokud je na půdu aplikován kal ošetřený vápněním, může být právě díky zvýšené alkalitě kalu snížena biodostupnost kovů. **Obrázek 8** ukazuje závislost koncentrace vyměnitelného Al na pH ve vzorku sedimentu.



Obr.8.: Závislost koncentrace vyměnitelného Al na pH v sedimentech (37).

Textura půdy a půdní typ

Textura půdy je dána především velikostí částic. Velikost částic je nepřímo úměrná relativnímu povrchu, takže menší částice mají větší relativní povrch přístupný reakcím s prostředím (především adsorpci). Menší částice také vytváří více nano pórů, do kterých mohou být polutanty zachyceny. Jedny z nejmenších částic v půdě jsou jílové minerály, které také poskytují výměnná místa pro vazbu prvků. Ve studii University Navarra byl mimo jiné zkoumán vliv půdního typu na biodostupnost rizikových prvků. Efekt půdního typu na koncentraci kovů v rostlinách byl větší než efekt dávky kalu aplikovaného na půdu [15].

Z experimentu, který byl provedený na říčních sedimentech v Německu je patrné, že velikost částic má výrazný vliv především na sorpci rizikových prvků. Obsah organické hmoty měl na sorpci kovů minoritní vliv. Naopak pro sorpci hydrofobních organických polutantů byl rozhodující právě obsah organické hmoty a vliv velikosti částic byl výrazně menší [42]. Na drobné jílové částice se váže také fosfor.

Teplota

Teplota ovlivňuje rozdělování organických polutantů mezi fáze, při vyšší teplotě dochází k odparu a naopak při nižší teplotě dochází k depozici. Při vyšší teplotě se zvyšuje aktivita půdních mikroorganismů, tudíž dochází k transformaci polutantů (příkladem vlivu teploty může být depozice polutantů v arktických oblastech).

Teplota má velký vliv na speciaci kovů, jelikož chemické reakce jsou obecně závislé na teplotě. Zvýšení teploty o 10 °C může v půdním prostředí zdvojnásobit rychlost chemické reakce [43].

Kationtová výměnná kapacita

Kationtová výměnná kapacita (Cation Exchange Capacity, CEC) je definována jako množství vyměnitelných kationtů na půdních částicích (jíl a organická hmota). Kationty přítomné v půdě nebo půdním roztoku se mohou vázat na tato záporně nabitá místa. Například bylo zjištěno, že fytoxicita manganu může v některých případech plynout z aplikace kalu, který mangan obsahuje, na půdu s malým množstvím vazebných míst právě pro mangan [44]. Kationtová výměnná kapacita je důležitá pro záchyt nutrietů, ale dochází zde také k záchytu rizikových prvků nebo organických látek s kladně nabitými funkčními skupinami (např. NH_4^+) nebo s parciálně kladně nabitými místy (NO_2). K vazbě organických molekul na záporně nabitá místa ale příliš nedochází. Hodnoty CEC v humusu jsou výrazně vyšší než v jílových minerálech.

Redoxní potenciál

Redoxní potenciál má vliv na rozpustnost sloučenin kovů, dále na to, v jakém oxidačním čísle se kovy vyskytují a jaký je jejich osud v prostředí. Například arseničné ionty se váží na minerální částice lépe než arsenité ionty [45]. V práci Keldermana a Osmana vedl vzrůst redoxního potenciálu anaerobních sedimentů ke 7-37% zvýšení volných forem kovů. To je zřejmě způsobeno oxidací kovů vázaných v methyl-sulfidových vazbách. Část z těchto uvolněných kovů byla readsorbována z organické hmoty [46].

Oxidačně redukční reakce jsou v půdě většinou pomalé a ovlivněné mikroorganismy. Na organické polutanty nemá redoxní potenciál výrazný vliv.

Redoxní potenciál v sedimentech je ovlivněn také mikrobiální aktivitou. Bakterie v sedimentech vytváří "niky" se specifickým redoxním potenciálem, který je vytěžením sedimentu změněn a může tak dojít k uvolnění rizikových prvků [47].

Organická hmota

Jak již bylo zmíněno, organická hmota má na biodostupnost a mobilitu polutantů velký vliv. Dochází na ní k adsorpci na vazebná místa i absorpci lipofilních molekul do nanopórů. Může ale docházet i k jejich desorpci. Důležitý je také vliv agingu OM, čím je organická hmota starší, tím vyššího stupně humifikace dosáhla a polutanty jsou více vázány. Aplikace kalů a sedimentů zvyšuje množství organické hmoty a tím také míru sorpce lipofilních polutantů.

Organická hmota má schopnost vázat částečně i anorganické polutanty. Například huminové látky, které ve své funkční skupině obsahují kyslík jsou schopny vázat kovy. Vázáním polutantů na funkční skupiny nebo do struktur huminových látek dochází ke snížení jejich biodostupnosti pro půdní biotu. Kovy tvoří v půdním prostředí také chelátové komplexy s huminovými a fulvo kyselinami. Stabilita kovů v těchto chelátech klesá v tomto pořadí: $Cu > Fe = Al > Mn = Co > Zn$. Také nízkomolekulární organické ligandy mohou tvořit s kovy rozpustné komplexy. Komplexy se složkami organické hmoty jsou ale rozpustné, zvyšují mobilitu kovů, která vede ke zvýšení koncentrace kovů v půdní vodě a tím ke zvýšení jejich biodostupnosti [48].

Organická hmota má v půdním prostředí velký význam, ať už jako zdroj živin, nebo díky jejím sorpčním schopnostem. Na druhou stranu může OM, která je přítomná v kalech aplikovaných na zemědělskou půdu, obsahovat velká množství sorbovaných polutantů, které se mohou do půdního prostředí uvolnit. Pokud jsou polutanty sorbovány, nejsou dostupné pro mikroorganismy a nedochází tak k jejich degradaci.

Lokalita

Složení, a tím pádem i ekotoxicita kalů, je podmíněno typem průmyslu v dané lokalitě. Studie provedená v méně industriální oblasti Španělska, která je charakterizována spíše

potravinářským průmyslem, uvádí, že koncentrace rizikových prvků v kalu byly v souladu se španělskou legislativou. Kaly zde byly naopak velmi bohaté na nutriety (N, P, K) [46].

Lokalita je také úzce spjata s klimatickými podmínkami. V oblastech, které se vyskytují v teplých klimatických podmínkách, dochází k přestupu volatilních polutantů do atmosféry a jejich transportu. Naopak v lokalitách se studeným klimatem dochází k depozici polutantů do půdy, vody nebo bioty. Tímto principem se dá částečně vysvětlit vysoký obsah polutantů deponovaných v arktických oblastech.

Pokud se polutant nachází v aridní oblasti, kde se vyskytují převážně písčité půdy, je zde biodostupnost polutantů v půdě výrazně vyšší než v oblasti mírného pásu, kde se nachází půdy s vyšším obsahem jílu a organické hmoty, které jsou často zavlažovány [49].

Mikroorganismy

Mikroorganismy degradují organickou hmotu, což může vést k uvolnění sorbovaných polutantů. K uvolnění a mobilizaci sorbovaných polutantů může dojít například působením enzymu celulóza, který některé mikroorganismy produkují [47].

Mikroorganismy přítomné v půdě a sedimentech transformují, degradují a mineralizují také samotné organické polutanty. V procesu transformace může rovněž dojít k bioaktivaci a vzniknout tak molekula, která je více toxická než mateřská látka.

Mikroorganismy přítomné v mořském sedimentu katalyzovaly 20-28% mobilizaci arsenu, který byl přidán ve formě *arseničnanu železnatého* [50].

2.4 Ekotoxikologické biotesty využívané k posouzení kalů a sedimentů

Ekotoxikologie je poměrně mladý vědní obor. Termín ekotoxikologie poprvé použil doktor René Truhaut v roce 1969. Truhaut definoval ekotoxikologii jako vědu, která zkoumá účinky jedu na jednotlivý organismus a která sleduje ekologické dopady polutantů.

Dnes je ekotoxikologie definována jako interdisciplinární vědní obor, kombinující poznatky věd studujících ekosystémy (ekologie) a vědy studující interakce chemických látek s organismy (toxikologie). Hlavním požadavkem ekotoxikologické studie je průkaz kauzality mezi expozicí organismu testované látky či matrici a efektem expozice na organismus.

K posouzení ekotoxicity slouží ekotoxikologické biotesty. Tyto testy využívají organismy, které jsou po určitou dobu exponovány testované matricí. Po proběhnutí testu je vyhodnocena závislost poškození organismu na dávce ekotoxikantu. K posouzení výsledku testů ekotoxicity slouží hodnoty EC, IC, LC. Nejčastěji se vyhodnocují hodnoty EC₅₀, IC₅₀, LC₅₀, LOAEL a NOAEL.

EC ₅₀	je efektivní koncentrace, která vyvolá 50% úhyn, či imobilizaci testovaného organismu
IC ₅₀	je inhibiční koncentrace, tj. koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou
LC ₅₀	je letální koncentrace pro 50% testovaných organismů
LOAEL	je nejnižší koncentrace nebo dávka, u které je pozorován škodlivý účinek na testovaném organismu
NOAEL	je nejvyšší koncentrace nebo dávka, u které není pozorován škodlivý účinek na testovaném organismu

Ekotoxikologické testy jsou podle délky děleny na akutní, subchronické a chronické. Akutní testy trvají jen krátce (několik dní) a testují dopad větších koncentrací potenciálního ekotoxikantu. Chronické testy trvají déle (týdny a více) a testované koncentrace jsou menší. Subchronické testy tvoří přechod mezi akutními a chronickými testy. Výhodou akutních testů je jejich rychlost a jednoduchá kvantifikace, ale nemusí reflektovat celé ekotoxikologické působení sledované látky. Naopak chronické testy umožňují sledovat ekototoxicitu v celé její šíři, jsou ale dražší a složitější.

Biotesty lze provádět na třech úrovních. První úroveň je testování buněk a tkání, druhou úroveň je testování organismů a třetí úroveň je testování společenstev.

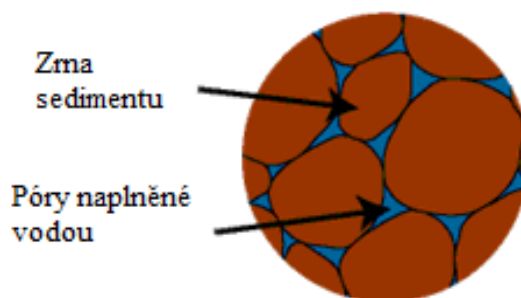
Biotesty na organismální úrovni lze dle pokročilosti rozdělit do tří generací. První generací jsou klasické (standardní) biotesty, druhou generací jsou mikrobiotesty (alternativní testy toxicity) a třetí generaci představují biosenzory (biosondy, biomarkery). Mikrobiotesty se dnes stávají vítanou alternativou standardních biotestů, zejména v oblasti akutních screeningových testů toxicity. Mezi jejich výhody patří rychlost, jednoduchost, jsou prostorově nenáročné, levné, citlivé a dostupné v bateriích testů vhodných k selektivnímu testování. Firma Ultimate Solutions Sdn. Bhd. nabízí baterie testů vhodné k testování například sedimentů [51]

Vhodná baterie testů ke stanovení toxicity matrice by měla obsahovat testy se zástupci producentů (řasy, rostliny), konzumentů (drobní bezobratlí) a destruentů (bakterie a houby). Konkrétní výběr testu by měl zohlednit také například turbiditu a barevnost vzorku (platí u výluhů a vodných vzorků). Vzhledem k různé citlivosti organismů k různým toxikantům musí být brán zřetel také na pravděpodobnost výskytu určitých polutantů v daném prostředí [52].

Ekotoxikologické testy, které se využívají k posouzení kalů a sedimentů, jsou prováděny ve vodném výluhu nebo v pevné matrici.

2.4.1 Testy s vodným výluhem

Akvatické biotesty ke zjištění ekotoxicity sedimentů jsou prováděny buď s výluhem nebo s pórovou vodou. Schéma sedimentu a jeho pórové vody je na **Obrázku 9**.



Obr. 9.: Idealizované schéma sedimentu [53].

Nevýhodou testů s vodným výluhem je to, že biodostupnost polutantů závisí na postupu vyluhování. Pokud je při luhování sedimentu nebo kalu přidána kyselina, dojde k většímu vyluhování kovů, které neodpovídá skutečným podmínkám v přírodě, pokud je přidáno organické rozpouštědlo, dojde k většímu vyluhování organických polutantů [30]. Pokud je pevný podíl pouze luhován ve vodě, kovy a organické polutanty zůstanou z větší části sorbovány na částice. Skutečností však zůstává, že jsou biotesty s vodným výluhem požadovány legislativou. Jedná se o testy tradičně užívané k posouzení ekotoxicity odpadů. Testy s výluhem jsou popsány v Metodickém pokynu MŽP ke stanovení ekotoxicity odpadů. [54]. V následující kapitole budou stručně charakterizovány metodiky akvatických testů použitých v DP.

Metodiky testů s vodným výluhem

- **Test na *Daphnia magna***

Test s *D. magna* je dodáván ve formě toxkitu Daphtoxkit FTM Magna. Tento toxkit je alternativním mikrobiotestem ke standardnímu testu dle normy ČSN EN ISO 6341 Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) - Zkouška akutní toxicity. Testovacím organismem je hrotnatka velká (*Daphnia magna*). Hrotnatky patří k zástupcům konzumentů I. řádu ve vodném prostředí. Hrotnatky se velmi rychle pathenogeneticky množí, což je pro testy toxicity výhodou. Pokud ovšem dojde ke zhoršení podmínek, v populaci se vyskytují i samci a dochází k pohlavnímu množení s menší produkcí oplodněných vajíček.

Test probíhá po dobu 24 – 48 hodin při teplotě 20 – 22 °C. Do každé jamky odpovídající testované koncentraci v testovací mikrodestičce je umístěno 5 jedinců. Po expozici testovanému materiálu je vyhodnocena mortalita a mobilita *D. magna* a stanovena LC₅₀ a IC₅₀.

- **Test s *Thamnocephalus platyurus***

Test s *T. platyurus* je dodáván ve formě toxkitu Thamnotoxkit FTM. Tento toxkit je alternativním mikrobiotestem ke standardnímu testu podle normy ČSN ISO 14380 Kvalita vod – Stanovení akutní toxicity pro *Thamnocephalus platyurus* (*Crustacea, Anostraca*).

Testovacím organismem v tomto alternativním mikrobiotestu je drobný vodní korýš *Thamnocephalus platyurus*. Test probíhá po dobu 24 hodin při teplotě 25 °C. Do každé jamky mikrodestičky je umístěno 10 jedinců *T. platyurus*. Na konci testu je stanovena mortalita a LC₅₀.

- **Test na *Sinapis alba***

Prvním testem byl test s terestrickou rostlinou *Sinapis alba*, provedený podle metodického pokynu Ministerstva životního prostředí 11/2007 ke stanovení ekotoxicity odpadů - Zkouška inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba*).

Semena *S. alba* jsou po dobu 72 hodin při teplotě 20 ± 2 °C vystavena vodnému výluhu testované matrice. V případě testování reálného vzorku není známa ani přibližná IC₅₀, proto je nejprve nutné provést úvodní a předběžný test. Úvodní test se provádí s neředěným vodným výluhem vzorku. Poté je proveden předběžný test, ve kterém je testováno široké rozmezí koncentrací vodného výluhu. Následuje základní test, ve kterém je testována ředící řada vodného výluhu o pěti a více koncentracích. Ověřovací test je prováděn s neředěným vodným výluhem. Na konci celého testu je sledována elongace kořene, která je porovnána s kontrolou. Výstupem testu je stanovení hodnoty IC₅₀.

- **Test na *Lemna minor***

Test na *Lemna Minor* byl proveden podle normy ČSN EN ISO 20079 - Jakost vod - Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) - Zkouška inhibice růstu okřehek

Testovací organismus je rostlina z čeledi áronovitých okřehek menší (*Lemna minor*). Rostlina je v přirozeném prostředí mírného pásu jednoletá. *L. minor* je drobná, značně redukovaná vodní rostlina, volně plovoucí na hladině. Rostliny *L. minor* jsou exponovány vodnému výluhu vzorku po dobu 7 dní při teplotě 24 ± 2 °C. Po skončení expozice je stanoven toxický účinek látek ve vodném výluhu na vegetativní růst *L. minor* a je stanovena EC₅₀, NOEC, LOEC.

2.4.2 Kontaktní testy

Kontaktní testy toxicity používají jako testovanou matici kompaktní materiál, kterým je v našem případě sediment a kal. Materiál není luhován a je po své homogenizaci přímo použit k ekotoxikologickému testování.

Kontaktní biotesty jsou vhodné k posouzení toxicity pevných materiálů, protože organismy nejsou v kontaktu pouze s látkami, které přecházejí do půdní vody, ale také s těmi, které jsou sorbovány na pevné částice. Mezi výhody kontaktních testů patří kratší doba potřebná k předúpravě vzorku, menší spotřeba materiálu, sediment není podroben destruktivní úpravě a změně fyzikálně chemických vlastností, výsledky nejsou ovlivněny použitým rozpouštědlem, biodostupnost polutantů se více blíží reálným podmínkám. Nevýhodou kontaktních testů kalů a sedimentů je heterogenita testovaného materiálu a přítomnost živin (C, N, P), které mohou stimulovat vývoj testovaných organismů a ovlivnit tak výsledky testů. V následující kapitole budou stručně charakterizovány metodiky akvatických testů použitých v DP.

Metodiky kontaktních testů

- **Test na *Heterocypris incongruens***

-

Pro test s *H. incongruens* je možno využít toxkitu Ostracodtoxkit F. Tento alternativní test využívá latentní stadia *H. incongruens* a je alternativou ke standardnímu testu na tomto organismu podle normy ISO 14371:2012 Jakost vod – Stanovení subchronické toxicity sladkovodních sedimentů pro *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda).

Test trvá 6 dní při teplotě 25 °C. Do každé jamky v mikrodestičce se umístí 10 jedinců. Je sledována mortalita a inhibice růstu a stanovena LC₅₀ a IC₅₀.

- **Test na *Lactuca sativa***

Test na terestrické rostlině salátu setém byl proveden podle normy ISO 17126:2005 Kvalita půdy – Stanovení účinků polutantů na půdní floru - Screeningový test na klíčivost semen salátu setého (*Lactuca sativa* L.)

Patnáct semen se umístí na dobu 5 dní do nádoby, během testu je udržována teplota 24 ± 2 °C. Na konci testu je vyhodnocena klíčivost semen a elongace kořene a stanovena EC₅₀.

- **Test na *Eisenia Fetida***

Tento test sleduje únikové chování žížaly *E. fetida*. Únikový test s *E. fetida* popisuje norma ISO 17512:2006 Kvalita půdy, Testy únikového chování pro hodnocení kvality půd atoxicity chemických látek, Test se žížalami (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*).

Test trvá 48 hodin za kontinuálního osvětlení při laboratorní teplotě a na jeho konci je spočteno množství žížal v kontrolní umělé půdě a v testované půdě.

2.5 Studie zaměřené na ekotoxikologické posouzení kalů a sedimentů

Stanovení ekotoxicity pomocí biotestů je vhodným doplňkem chemické analýzy. Ekotoxikologické studie reflektují skutečnou toxicitu testované matrice. Vzhledem k tomu, že proces toxického účinku je velmi složitý, musí být ale zváženy a zhodnoceny všechny faktory, které mohou testů ovlivnit výsledky. Jsou to především vlastnosti testovaného materiálu. Pokud vzorky obsahují vysoká množství OM nebo jílových minerálů, jsou tím výsledky ovlivněny. Výsledky testů jsou také výrazně ovlivněny výběrem testovaných organismů. Různé rostlinné, živočišné a mikrobiální druhy vykazují různou míru citlivosti k různým polutantům. Tyto rozdíly jsou patrné i v rámci jedné skupiny organismů. Při testování účinku As, Cr, Cd a Cu na klíčivost semen rodů *Lactuca*, *Cardamine*, *Raphanus* a *Cucumis* vykazovaly rostliny různou míru citlivosti. Míra toxicity je dána například schopností toxikantů dosáhnout embryonálních tkání přes bariéru osemení, které má u různých druhů různou schopnost ochrany. Různé hodnoty EC₅₀ pro jmenované rostlinné druhy ukazuje **Tabulka 9**.

Tab. 9.: Průměrné hodnoty EC₅₀ pro As, Cr, Cd a Cu pro čtyři testované rostlinné druhy po expozici rizikovým prvkům v roztoku na filtračním papíře [55].

Rostliny	As (III) (mg.l ⁻¹)	Cr (VI) (mg.l ⁻¹)	Cd (II) (mg.l ⁻¹)	Cu (II) (mg.l ⁻¹)
<i>Lactuca</i>	0,63	1,33	2,61	2,26
<i>Raphanus</i>	1,73	29,25	12,29	7,94
<i>Cucumis</i>	3,95	22,47	70,14	8,84
<i>Cardamine</i>	3,74	14,14	9,48	40,86

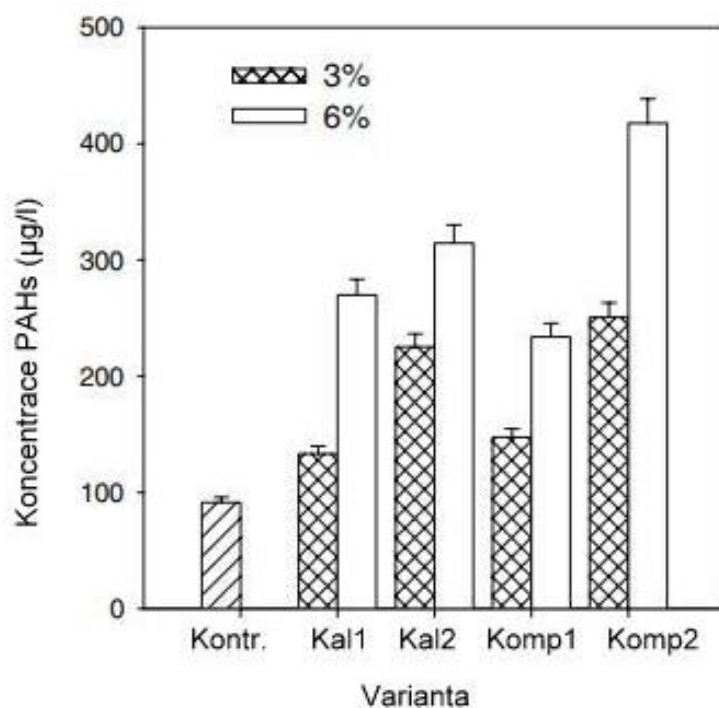
Testy se *Sinapis alba* ukazují, že při biotestech je nutno posoudit všechny faktory, které mohou ovlivnit výsledky testů. Například Cu a Pb působí na rostliny jako antagonisté zatímco Cd a As působí synergicky [56].

Pro hodnocení možného vlivu PAHs obsažených v sedimentech delty řeky Niger byl použit kontaktní test s *Lemna minor*. Testy nevykázaly korelaci mezi celkovým obsahem

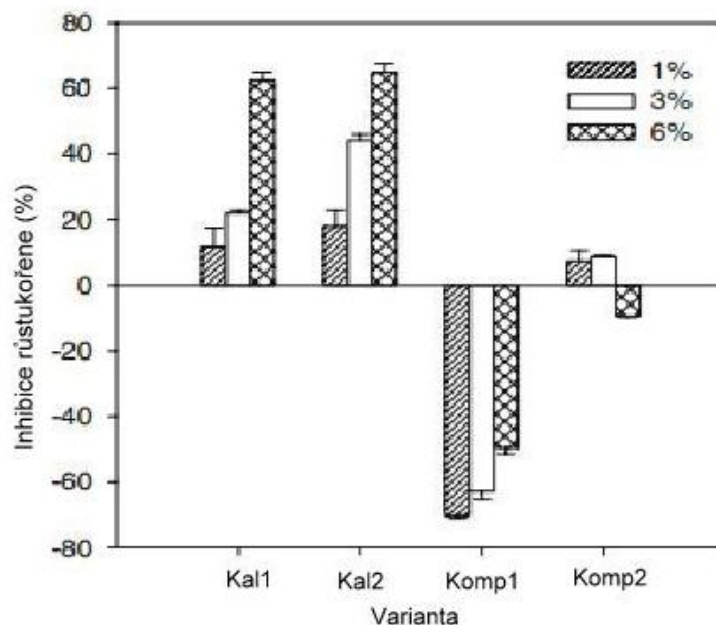
PAHs a toxicitou sedimentu na *L. minor*. Sediment s nejvyšší koncentrací PAHs vykazoval nejnižší ekotoxicitu, zatímco sediment s nízkou koncentrací vykazoval toxicitu nejvyšší. Tyto výsledky mohly být podle autorů studie ovlivněny například přítomností rizikových prvků, jejichž koncentrace nebyla v experimentu měřena [57].

Sedimenty a kaly mohou být kontaminovány velkým množstvím různých polutantů, jejichž koncentrace je pod limitem detekce chemické analýzy. Některé kontaminanty jsou toxické i ve velmi nízkých (nedetekovatelných) koncentracích a mohou působit aditivně, synergicky popř. antagonisticky

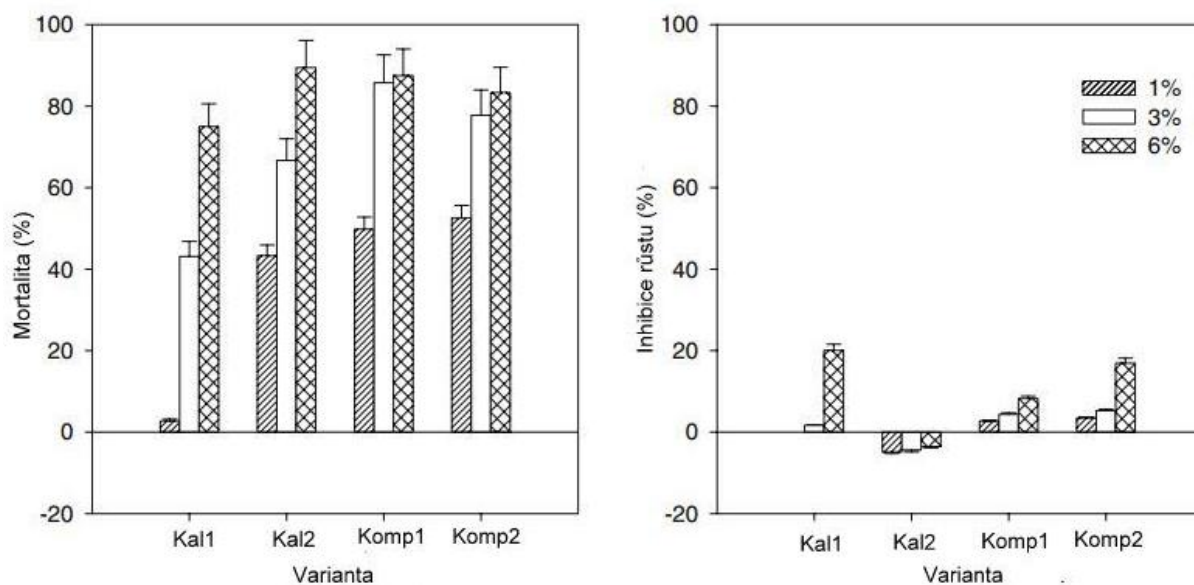
Korelace mezi ekotoxicitou kalů a obsahem polutantů v nich (konkrétně PAHs) byla testována pomocí dvou mikrobiotestů – Ostracodtoxkit F a Phytotoxkit. **Obrázky 10-12** ukazují koncentrace PAHs v kalech a výsledky testů ekotoxicity. Studie vykazuje ambivalentní výsledky. Malý vliv sledovaných polutantů na testované organismy je pravděpodobně dán vysokým množstvím OM v kalu a kompostu, čímž je snížena biodostupnost polutantů [58].



Obr. 10.: Koncentrace PAHs v kontrolní půdě a v půdě po hnojení čistírenským kalem nebo kompostem. Varianty kalu i kompostu se liší ve svých vlastnostech a v lokalitě odběru. Koncentrace kalu a kompostu v půdě je 3 a 6 % [58].



Obr. 11.: Inhibice růstu kořene *Sinapis alba* v půdách hnojených kalem a kompostem. Koncentrace kalu a kompostu v půdě je 1, 3 a 6 %. Varianty kalu i kompostu se liší ve svých vlastnostech a v lokalitě odběru [58].

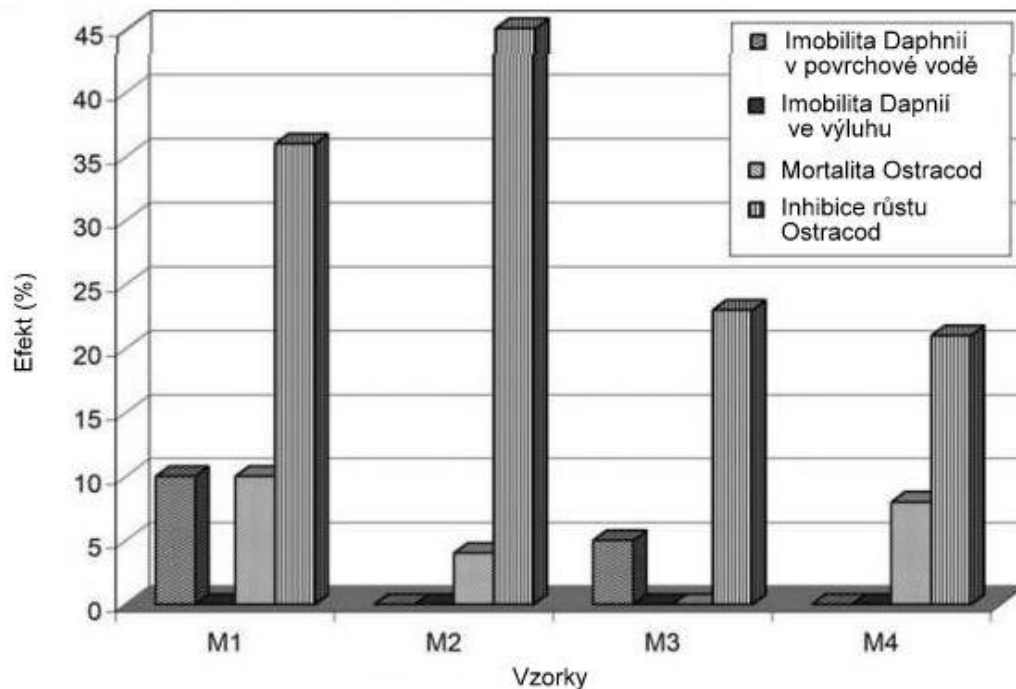


Obr. 12: Mortalita a inhibice růstu *H. incongruens* v půdách hnojených kalem a kompostem. Koncentrace kalu a kompostu v půdě je 1, 3 a 6 %. Varianty kalu i kompostu se liší ve svých vlastnostech a v lokalitě odběru [58].

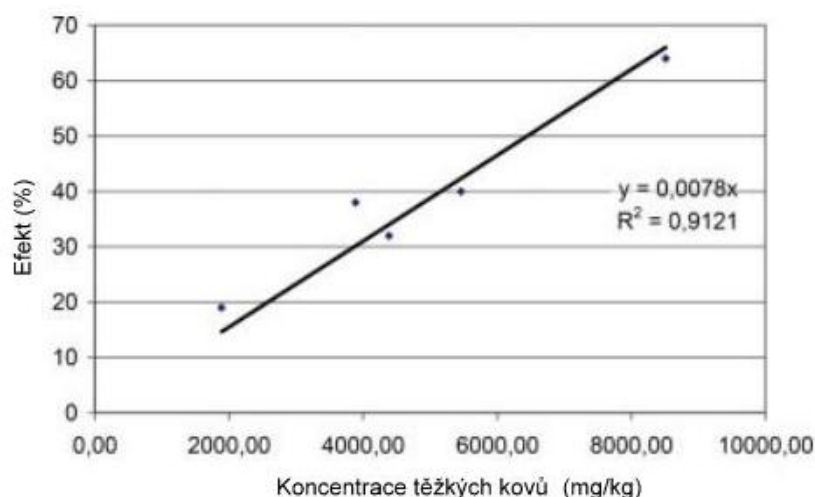
Tato závislost byla sledována i u kompostovaných kalů, které byly testovány pomocí mikrobiotestu Ostracodtoxkit F. Toxicita vyjádřená buď mortalitou jedinců nebo inhibicí jejich růstu byla porovnána s koncentrací PAHs. Lineární závislost vykazovalo pouze 24 % vzorků [59].

Ostracodtoxkit byl využit také k testování toxicity rizikových prvků. Organismus *H. incongruens* se ukázal jako velmi citlivý na ionty Cd a Hg (60). Korelace mezi koncentrací rizikových prvků a toxicitou matrice v této studii opět nebyla patrná, stejně jako u výše zmíněných organických polutantů. V testu toxicity kontaminované půdy za použití testu Ostracodtoxkit souvisela toxicita s CEC. Vysoké hodnoty CEC byly ve studii spojeny s vysokým procentem mortality a naopak nízké hodnoty CEC souvisely s nízkou mortalitou *H. incongruens* [61].

Test s vodním výluhem a kontaktní test byl porovnán za použití říčních a jezerních sedimentů, které byly kontaminovány průmyslovým kalem. Výsledky získané prostřednictvím uvedených mikrobiotestů ukazuje **Obrázek 13**. Kontaktní testy, se ve shodě s literaturou, ukázaly jako více citlivé. Ve studii je také patrná korelace mezi koncentrací rizikových prvků a inhibicí mobility *H. incongruens*, což mimo jiné ukazuje **Obrázek 14**.

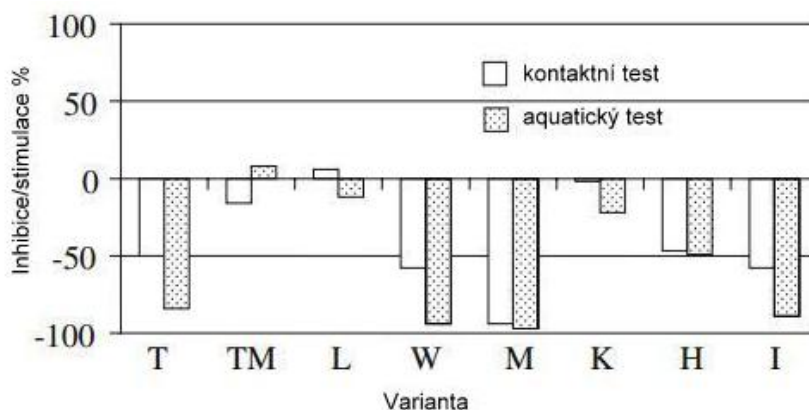


Obr. 13: Toxicita sedimentů kontaminovaných průmyslovým kalem z řeky Tisza [62].



Obr. 14.: Lineární regrese závislosti inhibice růstu *H. incongruens* na koncentraci rizikových prvků v sedimentu [62].

Ve studii sedimentu z německých řek byly porovnány výsledky akvatický a kontaktní testu s organismem *L. minor*. Ve většině testovaných variantách došlo ke stimulaci růstu. Kontaktní testy vykazovaly převážně nižší míru stimulace než testy akvatické [63]. Výsledky jsou patrné z **Obrázku 15**.



Obr. 15: Porovnání kontaktního testu sedimentu s akvatickým testem pórové vody. Testovací organismus *L. minor* [63].

Kal z brazilské čistírny odpadních vod byl podroben akutnímu a chronickému testu s *D. similis*. Tento rod je k ekotoxikologickému hodnocení vhodný stejně jako *D. magna*. Testy toxicity rizikových prvků, které byly s *D. similis* provedeny to potvrzují (64). Kal obsahoval jednak velké množství hliníku, jednak chloridu železitého. Akutní test prokázal pouze velmi malý nebo žádný toxický efekt. Chronické testy naopak ukázaly toxický efekt téměř u všech koncentrací obou typů kalů. Toxicita byla vyšší u vzorků ovlhčených vodou [65]. Tato studie názorně ukazuje, že ačkoliv akutní testy toxicity mohou být velmi užitečné, je zde riziko podcenění toxicity. Toto riziko lze omezit využitím baterie více testů.

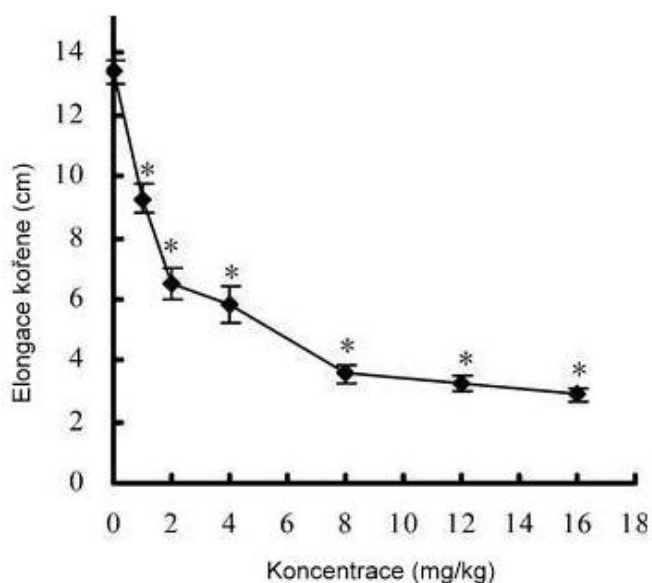
Ve studii provedené ve Španělsku byly testovány kaly, které prošly rozdílnými procesy stabilizace. Jedním ze závěrů studie je to, že čím více je kal v procesu stabilizace mineralizován, tím menší je jeho ekotoxicita [66]. Výsledky bioluminiscenčního testu jsou uvedeny v **Tabulce 11**.

Tab. 11.: Hodnoty EC₅₀ vyjádřené jako % a koncentrace (μg.l⁻¹) [66].

Stabilizace kalu	EC ₅₀ (%)	EC ₅₀ (μg.l ⁻¹)
Aerobní	1.34	13,4
Anaerobní	11.24	112,4
Nestabilizovaný kal	1.18	11,8
Kal z nádrží na stabilizaci	17.19	171,9

Biotesty jsou důležitým ukazatelem toxicity také pokud je zvažováno použití sedimentů a kalů na zemědělskou půdu či k remediaci. Byly testovány dekontaminované sedimenty z přístavu v Benátkách. Výsledky ekotoxikologických testů ukazují, že i ošetřené sedimenty mohou mít na organismy toxický efekt. Akutní testy vykazovaly mírnou až střední toxicitu, kdežto subchronické testy vykazovaly mírnou až vysokou toxicitu. Toxicita mohla být způsobena rezidui PAHs a zbytky rizikových prvků, které nebyly odstraněny [67].

Toxicita polutantů úzce souvisí s jejich bioakumulací. Proto je vhodné bioakumulaci sledovat i v testech toxicity. Velkou schopnost bioakumulovat Cr, Cu, Pb a Zn má např. *Brassica napus* [68]. *B. napus* byla také využita ve studii, která sledovala vliv DOM z kalu na toxicitu herbicidu napropamidu. DOM má schopnost toxický účinek napropamidu mírnit [69]. Na **Obrázku 16** je patrný vliv napropamidu na elongaci kořene *B. napus*.



Obr.16.: Vliv napropamidu na elongaci kořene *B. napus* po desetidenní kultivaci v kontaminované půdě [69].

Mezi poměrně nové testy ekotoxicity patří testy únikového chování s půdními bezobratlými. Mezi jejich výhody patří robustnost, nízké náklady a ekologická relevance. Nevýhodou únikových testů je to, že chování bezobratlých je výrazně ovlivněno strukturou testovaného materiálu a množstvím organické hmoty v něm [70]. Mezi organismy, které jsou při únikových testech používány patří např. žížala *Eisenia fetida* a roupice *Enchytraeus albidus* nebo chvostoskok *Folsomia candida*. Ze studie, která zkoumala závislost únikového chování *E. fetida* a *E. albidus* na koncentracích různých rizikových prvků i organických polutantů, vyplývá, že únikové chování organismů ve většině případů koreluje s dávkou kontaminantu [71].

2.6 Sedimenty a kaly v legislativě České republiky

Sedimenty a kaly jsou legislativou ČR řazeny mezi odpady. Problematika odpadů je zpracována v zákoně 185/2001 Sb., O odpadech a o změně některých dalších zákonů. Použití sedimentů na zemědělskou půdu je také upraveno v Zákoně České národní rady č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu, ve znění pozdějších předpisů

Dále je české legislativě uvedeno mnoho vyhlášek a nařízení, které se zabývají odpady a sedimenty, jejich toxicitou, testováním, včetně testů ekotoxicky či jejich využitím na zemědělské půdě. Níže jsou uvedeny vyhlášky a nařízení, které se věnují problematice kalů a sedimentů.

- Vyhláška 376/2001 Sb., o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů

Vyhláška definuje ekotoxicitu jako nebezpečnou vlastnost H14. Tuto nebezpečnou vlastnost mají odpady, které představují nebo mohou představovat akutní nebo pozdní nebezpečí pro jednu nebo více složek životního prostředí. Nebezpečnou vlastnost odpadů H14 a její ekotoxikologické posouzení dále upravuje Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. Pokud kaly a sediment vykazují v ekotoxikologickém stanovení nebezpečnou vlastnost H14, jsou dle katalogu odpadů řazeny do nebezpečných odpadů. Pro potvrzení nebo vyloučení nebezpečné vlastnosti H14 Ekotoxicita ve smyslu vyhlášky č. 376/2001 Sb. se vychází z definice této vlastnosti uvedené v příloze č. 1 k citované vyhlášce. Nebezpečnou vlastnost H14 mají odpady, jejichž vodný výluh vykazuje při zkouškách akutní toxicitu alespoň na jeden z testovacích organismů při určené době působení na testovací organismus:

- *Poecilia reticulata* nebo *Brachydanio rerio*
- *Daphnia magna*
- *Desmodesmus subspicatus*, *Pseudokirchneriella subkapitata*, *Sinapis alba*

hodnoty LC(EC,IC)50 $\leq 10 \text{ ml.l}^{-1}$ [72]

- Vyhláška č. 351/2008 Sb., kterou se mění vyhláška č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, ve znění pozdějších předpisů.
- Vyhláška 294/2005 Sb. o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady
- Vyhláška č.381/2001 Sb, kterou se stanoví Katalog odpadů, Seznam nebezpečných odpadů a seznamy odpadů a států pro účely vývozu, dovozu a tranzitu odpadů a postup při udělování souhlasu k vývozu, dovozu a tranzitu odpadů (Katalog odpadů)
- Nařízení vlády 197/2003 Sb., o Plánu odpadového hospodářství České republiky
- Vyhláška č.382/2001 Sb. Vyhláška o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě
- Vyhláška č. 257/2009 Sb. o používání sedimentů na zemědělské půdě stanovuje v příloze 4 tyto ekotoxikologické testy [73]:
 - Test toxicity půd půdních materiálů na roupici *Enchytraeus Crypticus*
 - Test toxicity půd půdních materiálů na *chvostoskoka Folsomia Candida*
 - Stanovení inhibice nitrifikace v půdách a půdních materiálech
 - Test inhibice růstu vyšších rostlin

Vyhláška také upravuje podmínky, které musí sediment, aplikovatelný na zemědělskou půdu splňovat. Jedná se o limitní hodnoty koncentrací rizikových prvků (tyto koncentrace jsou uvedeny v příloze vyhlášky), pokud je ze Zákona č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu, ve znění pozdějších předpisů nařízeno ekotoxikologické testování sedimentu, nesmí být prokázána jeho kontaminace, dále nesmí po aplikaci sedimentu na půdu dojít ke zhoršení její kvality a také musí být dodrženo dané množství aplikovaného sedimentu, sediment musí být odvodněný a jeho aplikaci nesmí dojít ke zhoršení vodního režimu půdy [73].

- Vyhláška č.13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu
- Výběr ekotoxikologického testu, který je vhodný pro testování kalů a sedimentů stanovuje legislativa, ale také ISO normy:
 - ISO 15799 (2003): Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials
 - ISO 17616 (2008): Guidance on the choice and evaluation of bioassays for ecotoxicological characterization of soils and soil materials

Detaily vyhlášky pro kaly a sedimenty

V roce 2014 má vstoupit v platnost tzv. Věcný záměr zákona o odpadech. Tento soubor nařízení vyzdvihuje důležitost materiálového a energetického využití odpadů a tedy i kalů a sediment [74]. Používat je možno pouze upravené kaly, a to s ohledem na nutriční potřeby rostlin, za podmínek stanovených vyhláškou a v souladu s programem použití kalů tak, aby použitím kalů nebyla zhoršena kvalita půdy a kvalita povrchových a podzemních vod. Původce kalů nebo oprávněná osoba, která převezme kaly určené pro zapracování do půdy, jsou povinni zpracovat v rozsahu stanoveném vyhláškou program použití kalů a v tomto programu doložit splnění podmínek použití kalů stanovených tímto zákonem a vyhláškou. Program použití kalů je povinen předat osobě, která bude kaly používat [75]. Aktuálně platný zákon o odpadech bude ale ještě alespoň jednou novelizován. Návrh novely vychází ze závěrů tzv. ekoauditů. Při něm pracovní skupina složená ze zástupců ministerstev, samospráv, podnikatelských svazů apod. hodnotila konkrétní podněty na úpravy právních předpisů v oblasti ochrany životního prostředí [76]. Zajímavou změnou v rámci novelizace je zavedení online informačního systému hodnocení nebezpečných odpadů či změna zařazování odpadů do kategorií (bude zrušen Seznam složek, které činí odpad nebezpečným) [74].

2.7 Sedimenty a kaly v evropské legislativě

Hodnocení ekotoxicky odpadů a tedy i kalů a sedimentů není v rámci Evropské Unie (EU) jednotné. Každý stát vychází při hodnocení z vlastní legislativy. Současná legislativa EU například neurčuje, jak stanovit a posuzovat nebezpečnou vlastnost H14, kritéria tohoto hodnocení jsou stanovena v jednotlivých státech EU samostatně [78].

V rámci sjednocování hodnocení ekotoxicity odpadů v EU byla v roce 2005 vydána norma EN 14735:2005 Charakterizace odpadů (zavedena v ČSN EN 14735:2007), která v příloze B obsahuje seznam použitelných zkoušek ekotoxicity [78]. V roce 2006 proběhl mezinárodní okružní test, kterého se zúčastnilo 64 laboratoří z patnácti evropských zemí. Díky okružnímu testu se podařilo stanovit ekotoxikologické testy s vodním výluhem i kontaktní ekotoxikologické testy pro posouzení nebezpečné vlastnosti odpadů H14. Tyto testy jsou uvedeny ve Finálním návrhu Technické zprávy FprCEN/TR 16110:2010. V rámci okružního testu byly testovány tyto materiály: popílek ze spalovny, půda kontaminovaná polyaromatickými uhlovodíky a kontaminovaná dřevní štěpka [79].

Směrnice EU z roku 1986 86/278/EHS stanovuje nutnost chemické analýzy polutantů, které jsou přítomny v kalesích z čistíren odpadních vod v zemědělství [80]. Problematikou sedimentů se zabývá také evropský projekt European Sediment Research Network (SEDNet). Cílem SEDNet je vytvoření vhodné legislativy EU, která by zajistila jednotné nakládání se sedimenty ve všech členských zemích a podpořila tak dobrý stav životního prostředí [82].

Produkce kalů v evropských zemích se velmi výrazně liší. Jako příklad může být uvedena produkce 0,1 kg na obyvatele na Maltě až k 38 kg na obyvatele v Rakousku [82].

Následuje stručná problematika kalů a sedimentů v několika evropských zemích:

V Německu je pro posouzení ekotoxického potenciálu kalů a sedimentů zavedena řada pokynů. Nakládání se sedimenty a kaly spravuje Ministerstvo dopravy, stavebnictví a Ministerstvo životního prostředí (například nařízení pro management vytěžených sedimentů Directive for the Management of Dredged Material in Inland Waters). Tyto pokyny zahrnují například testy s řasami, s bakterií *V. fisheri*, *D. magna*, test s rybou *Danio rerio*, různonožcem *Corophium volatuar* a s mikroorganismem *Sallmonella typhimirium*. Legislativa zahrnuje nejen tyto testy s vodným výluhem, ale i kontaktní testy.

V nizozemském právu je zakotven Soil Protection Act [83]. Nejběžnějšími biotesty, které jsou ve spojitosti s kaly a sedimenty prováděny jsou testy s dafniemi, test s pakomárem *Chironomus riparius* a Microtox s *V. fisheri*.

Mezi Německem a Holandskem vznikla iniciativa zavést ekotoxikologické testy do běžné praxe testování sedimentů pod názvem Dutch-German Exchange (DGE) on Dredged Material [84].

Ve Francii není jasně stanovena legislativa nebo alespoň pokyny, které by určovaly ekotoxikologické posouzení vytěžených půdních materiálů. Specifické pokyny, které by se věnovaly ekotoxikologickému posouzení sedimentů jsou v současnosti vypracovávány Ministerstvem dopravy [86].

V Belgii je znečištění sedimentů oficiálně sledováno od roku 2000 a to prostřednictvím agentury na ochranu přírody Flemish Environmental Agency. K posouzení ekotoxikologického rizika je použita baterie 3 testů: test pórové vody s řasou *Raphidocelis subcapitata*, test s korýšem *Thamnocephalus platyurus* a kontaktní test s různonožcem *Hyalella azteca* [86].

Legislativa evropských zemí vztahující se k ekotoxikologickému posouzení kalů a sedimentů je podobně jako v České republice poměrně složitá, nepřehledná a není stanoven jasný postup pro stanovení ekotoxicity a její hodnocení. Přesto je patrná snaha o zakomponování ekotoxikologických stanovení do běžné praxe, především ve formě různých ISO a EN norem.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V rámci experimentální části diplomové práce byly posouzeny vzorky sedimentů z pěti odběrových míst a jeden vzorek kalu. Pro hodnocení ekotoxicity byly použity biotesty s vodným výluhem a dále testy v kontaktním uspořádání. Výluh byl testován prostřednictvím terestrické rostliny *Sinapis alba*, akvatické rostliny *Lemna minor* a korýšů *Daphnia magna* a *Thamnocephalus petyurus*. V kontaktních testech byl využit rostlinný organismus *Lactuca sativa* a živočišné organismy korýš *Heterocypris incongruens* a kroužkovec *Eisenia fetida*.

3.1 Odběr vzorků

Odběrová místa sedimentů byla zvolena s ohledem na aktuální seznam kontaminovaných míst společnosti Cenia pod záštitou Ministerstva životního prostředí ČR [87]. Vzorky z řeky Moravy byly odebrány ze slepého ramene Moravy poblíž provozovny Colorlak (**Obr. 17**) a z blízkosti výpusti ČOV do Moravy v Uherském Hradišti (**Obr. 18**). Dále byly odebrány sedimenty z řeky Svratky v oblasti Brno-Komín u tramvajové zastávky Svratecká (**Obr. 19**) a z Brněnské přehrady z lokality Rakovec (**Obr. 20**). Posledním odběrovým místem byl Boršický potok, který se nachází v těsné blízkosti CHKO Bílé Karpaty. Vzorek čistírenského kalu byl odebrán na ČOV Brno Modřice.



Obr. 17.: Lokalita odběru Staré Město – slepé rameno řeky Moravy.



Obr. 18.: Lokalita odběru Uherské Hradiště – výpusť ČOV.



Obr. 19.: Lokalita odběru Brno – Komárov – řeka Svatka.



Obr. 20.: Lokalita odběru Brno — Rakovec - Brněnská přehrada [88].

Odběr vzorků byl proveden co nejrychleji, aby bylo zabráněno přístupu vzduchu k odebraným sedimentům. Sedimenty byly uloženy do plastových vzorkovnic, které byly z důvodu udržení anaerobních podmínek naplněny až po okraj. Poté byly sedimenty skladovány v lednici do teploty 4 °C po dobu jednoho týdne. Na některých vzorkovnicích byly patrné oranžové až hnědé skvrny, které byly pravděpodobně způsobeny oxidy železa v sedimentu [87,88].

3.2 Pomůcky a zařízení

Pro přípravu výluhů a pro provedení biotestů bylo použito laboratorní sklo, plastové uzavíratelné láhve, kovové špachtle a lžičky, plastové misky. Dále byla používána tato zařízení:

- váhy SCALTEC SPB 31
- překlopná třepačka Heidolph REAX 20
- pH metr typu Stirrer type OP – 951
- teploměr

- sušárna Binder
- optický mikroskop
- inkubátor Nüve Cooled Incubator ES 110 – inkubace bez osvětlení
- inkubátor typu Novital CO Vatutto 20 – inkubace s osvětlením

3.3 Příprava vodného výluhu

Vodný výluh byl připraven dle metodiky ČSN EN 12457-4 (2003): Charakterizace odpadů - Vyluhování - Ověřovací zkouška vyluhovatelnosti zrnitých odpadů a kalů – Část 4: Jednostupňová vsádková zkouška při poměru kapalné a pevné fáze 10 l/kg pro materiály se zrnitostí menší než 10 mm.

Nejprve byla stanovena sušina vzorků jejíž hodnoty byly použity pro výpočet navážky potřebného množství vzorků a vody pro přípravu výluhů. Malé množství vzorku bylo sušeno v sušárně při 105 °C po dobu 24 hodin. Z hmotnosti před a po vysušení byla vypočtena sušina. Vzorky byly před přípravou výluhu vysušeny a homogenizovány. Dále bylo do plastových lahví odměřeno příslušné množství vzorku a destilované vody. Plastové láhve byly umístěny do překlopné třepačky na dobu 24 hodin. Po uplynutí této doby byly plastové láhve ponechány cca 1 hodinu v klidu a výluh byl zfiltrován [91].



Obr. 21.: Překlopná třepačka Heidolph REAX 20 pro přípravu výluhů.

Spolu s vodným výluhem všech vzorků byl připraven upravený výluh pro simulaci přírodních podmínek v průmyslových oblastech (dále jen upravený výluh). Cílem bylo ověřit, zda změna pH vody, která byla použita k přípravě vodného výluhu, ovlivní přechod některých složek do vodného výluhu a tím jeho ekotoxicitu. Destilovaná voda, která byla použita na přípravu vodného výluhu byla kyselinou sírovou okyselena na hodnotu pH 4 - 4,5. Postup přípravy takto upraveného výluhu byl stejný jako postup přípravy vodného výluhu.

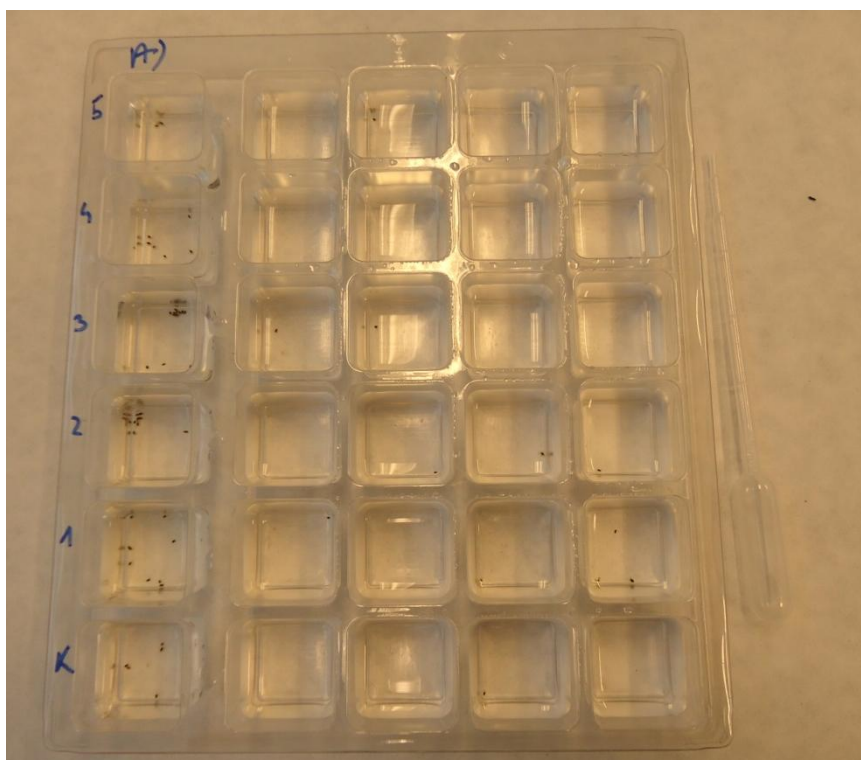
3.4 Biotesty s vodným výluhem zvolené pro posouzení ekotoxicity vzorků sedimentů a kalu

3.4.1 Daphtoxkit FTM

Daphtoxkit FTM je alternativní mikrobiotest s *D. magna*. Test byl proveden podle SOP (standardní operační postup) přiloženého v toxkitu. Nejprve byla připravena standardní ředící voda. Do odměrné baňky o objemu 2 l bylo vlito cca 1,5 l destilované vody a kvantitativně převedeny roztoky solí obsažené v toxkitu (NaHCO₃, CaCl₂.2H₂O, MgSO₄.7 2H₂O, KCl). Odměrná baňka byla poté doplněna destilovanou vodou po rysku. Ředící voda byla provzdušňována po dobu 15 minut a poté bylo napipetováno 15 ml do malých Petriho misek určených pro líhnutí jedinců *D. magna* ze stadia cyst, ve kterém byli uchováváni. Cysty byly z uchovávacích ampulí vysypány do mikrosíta a promyty vodovodní vodou, aby bylo odstraněno uchovávací medium. Poté byly cysty převedeny do Petriho misek s ředící vodou a inkubovány po dobu 72 hodin při 20-22 °C a osvětlení 3000-4000 lux [92].

Po 72 hodinách od začátku inkubace byla připravena koncentrační řada výluhů sedimentů a kalu. Byl proveden předběžný test s koncentracemi 1000, 500, 250, 125, 65 a 0 ml.l⁻¹ výluhu v provzdušněné standardní ředící vodě. Do každé jamky v testovací desce bylo napipetováno 10 ml různých koncentrací roztoků tak, aby pro každou koncentraci byla provedena čtyři opakování. Následně bylo do tzv. rozplavovacích jamek pro každou koncentraci v testovací desce umístěno asi 20 jedinců. Z rozplavovacích jamek bylo vybráno vždy 5 organismů, které byly umístěny do testovacích jamek o různých koncentracích. Poté byly testovací desky přikryty parafilmem a inkubovány v temnu při 25 °C po dobu 24 a 48 hodin [92].

Stejným způsobem byl proveden i základní test s koncentracemi zvolenými podle výsledků předběžného testu.



Obr. 22.: Testovací deska s *D. magna*

Vyhodnocení výsledků

Po 24 hodinách proběhlo první posouzení immobility a mortality organismů a destička byla opět na 24 hodin vložena do inkubátoru. Po 48 hodinách od začátku inkubace byla stanovena imobilita a mortalita *D. magna*. na základě které byly vypočteny hodnoty 24 a 48 hod EC_{50} , případně LC_{50} [92].

3.4.2 Thamnotoxkit FTM

Thamnotoxkit FTM je alternativní mikrobiotest s testovacím organismem *Thamnocephalus platyurus*. Test byl proveden podle SOP přiloženého v toxkitu.

Nejdříve byla připravena standardní ředící voda. Do odměrné baňky o objemu 1 l bylo vliato cca 0,8 l destilované vody a kvantitativně převedeny roztoky solí obsažené v toxkitu ($NaHCO_3$, $CaSO_4$, $Mg SO_4$ a KCl). Odměrná baňka byla poté doplněna destilovanou vodou po rysku. Ředící voda byla provzdušňována po dobu 15 minut. Po provzdušnění bylo napipetováno 2,5 ml do odměrného válce a objem byl doplněn na 20 ml. 10 ml takto připraveného média bylo napipetováno do malé Petriho misky. Ampule, ve kterých byly uchovávány cysty testovacích organismů, byly naplněny 1 ml media určeného k líhnutí a po dobu 30 minut v pravidelných intervalech protřepávány. Poté byl jejich obsah kvantitativně převeden do Petriho misek. Petriho misky byly inkubovány při 25 °C po dobu 20-22 hodin a osvětlení 3000-400 lux [93].

Po 24 hodinách od začátku inkubace byla připravena koncentrační řada výluhů sedimentů a kalu. Byl proveden předběžný test s koncentracemi 1000, 500, 250, 125, 6,5 a 0 ml.l⁻¹ výluhu v provzdušněné standardní ředící vodě. Do každé jamky v testovací desce bylo napipetováno po 1 ml z každé testované koncentrace roztoků tak, aby pro každou koncentraci byla provedena tři opakování. Následně bylo do tzv. rozplavovacích jamek pro každou koncentraci v testovací desce umístěno asi 30 jedinců. Z rozplavovacích jamek bylo vybráno vždy 10 organismů, které byly umístěny do testovacích jamek o různých koncentracích. Poté byly testovací desky přikryty parafilmem a inkubovány v temnu při 25 °C po dobu 24 hodin [93].

Stejným způsobem byl proveden i základní test s koncentracemi zvolenými podle výsledků předběžného testu.



Obr. 23.: Testovací deska s T. platyurus.

Vyhodnocení výsledků

Po skončení doby inkubace byl zaznamenán počet mrtvých organismů v každé testovací jamce a v kontrole. Na základě mortality byla vypočtena LC₅₀ [93].

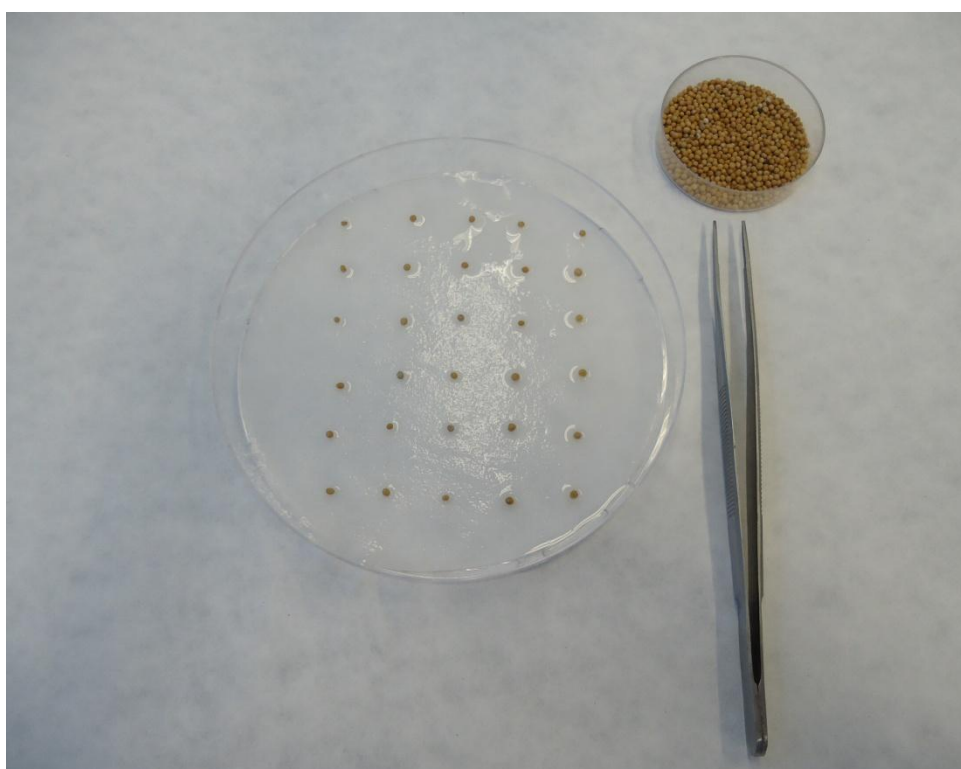
3.4.3 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba*)

Test byl proveden v souladu s Metodickým pokynem odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. Nejprve byla připravena ředící voda. Byly připraveny zásobní roztoky z CaCl₂ (p.a.), MgSO₄.7H₂O (p.a.), NaHCO₃ (p.a.), KCl (p.a.). Koncentrace zásobních roztoků uvádí **Tabulka 12** [94].

Tab 12.: Složení zásobních roztoků pro kultivaci *S. alba*.

	Chemikálie	Koncentrace (g.l⁻¹)
Zásobní roztok 1	CaCl ₂ .2H ₂ O	11,76
Zásobní roztok 2	MgSO ₄ .7H ₂ O	4,93
Zásobní roztok 3	NaHCO ₃	2,59
Zásobní roztok 4	KCl	0,23

Z každého zásobního roztoku bylo dávkováno 2,5 ml do 1 l odměrné baňky, která byla poté doplněna po rysku a protřepána. Vodný výluh sedimentů i kalu byl taktéž upraven zásobními roztoky solí, bylo dávkováno 0,25 ml zásobních roztoků do 100 ml odměrné baňky, která byla poté doplněna testovaným výluhem po rysku a protřepána. Byly připraveny roztoky výluhů a ředící vody o koncentraci 1000, 700, 500, 300 a 200 ml.l⁻¹. Do Petriho misek o průměru 140 mm bylo nepipetováno 6 ml z roztoků o uvedených koncentracích (vždy 2 opakování na každou koncentraci) Do dvou misek byla nepipetována jen standardní ředící voda, tyto misky plnily funkci kontroly. Poté byl do Petriho misek vložen filtrační papír. Do každé misky bylo pomocí pinzety vloženo 30 semen *S. alba* o střední velikosti 1,5-2 mm s klíčivostí minimálně 90 % a misky byly uzavřeny. Petriho misky byly poté vloženy do termostatu a bez osvětlení inkubovány 72 hodin při 20°C [95].



Obr. 24.: Semena *S. alba* připravená k inkubaci.

Pro kontrolu výsledků byl proveden také ověřovací test. Tento test byl proveden s neředěným vodným výluhem za stejných podmínek jako předchozí test.

Vyhodnocení výsledků

Po uplynutí doby inkubace byly s přesností na 0,1 mm změřeny kořínky *S. alba*. a stanoven počet nevyklíčených semen. Na základě inhibice klíčivosti a růstu kořene byla vypočtena IC_{50} [95].

3.4.4 Test inhibice růstu okřehku menšího (*Lemna minor*)

Test byl proveden v souladu s platnou českou normou pro testování na okřehku menším ČSN EN ISO 20079 Jakost vod - stanovení toxických účinku složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) - Zkouška inhibice růstu okřehku.

Nejprve byly připraveny zásobní roztoky pro přípravu standardní ředící vody. Složení zásobních roztoků je uvedeno v **Tabulce 13** [94].

Tab. 13: Složení zásobních roztoků pro kultivaci okřehku

	Chemikálie	Koncentrace (g.l⁻¹)
Zásobní roztok 1	KNO ₃	17,5
	K ₂ HPO ₄	4,5
	KNO ₃	0,63
Zásobní roztok 2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	5
Zásobní roztok 3	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	14,75
Zásobní roztok 4	H ₃ BO ₃	0,12
Zásobní roztok 5	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,18
Zásobní roztok 6	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,044
Zásobní roztok 7	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,18
Zásobní roztok 8	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,76
	EDTA	1,5

Ze zásobních roztoků 1, 2 a 3 bylo do odměrné baňky 1 l pipetováno 20 ml a ze zásobních roztoků 4, 5, 6, 7 byl pipetován 1 ml. Baňka byla poté doplněna po rysku a protřepána. Následně byly připraveny roztoky o koncentraci výluhů 1000, 700, 500, 300 a 200 ml.l⁻¹. Ředící voda i výluhy byly před začátkem testu provzdušňovány po dobu 15 minut. Do plastových kelímků bylo odměřeno vždy 100 ml jednotlivých koncentrací výluhů a standardní ředící vody včetně kontrolní variant po dvou opakování. Do každého kelímku bylo vloženo 9 lístků okřehku, kelímky byly přikryty fólií a inkubovány při laboratorní teplotě a osvětlení 6000 – 13000 lux 7 dní [96].



Obr. 25.: *L. minor* po inkubaci v neředěném výluhu kalu v porovnání se zdravou kolonií.

Vyhodnocení výsledků

Po 7 dnech byl spočítán počet listů okřehku a stanovena sušina biomasy. Na základě inhibice růstové rychlosti a nárůstu biomasy byla vypočtena hodnota IC_{50} [96].

3.5 Kontaktní biotesty zvolené pro posouzení ekotoxicity vzorků sedimentů a kalu

3.5.1 Ostracodtoxit F

Test byl proveden podle SOP přiloženého v toxkitu. Pro test s *H. incongruens* je potřeba nejdříve připravit standardní ředící vodu. Do 1 l odměrné baňky bylo vliato cca 0,8 l destilované vody a kvantitativně převedeny roztoky ($NaHCO_3$, $CaSO_4$, $Mg SO_4$ a KCl) obsažené v toxkitu. Odměrná baňka byla poté doplněna destilovanou vodou po rysku. Ředící voda byla provzdušňována po dobu 15 minut a následně bylo odpipetováno 8 ml do každé Petriho misky určené pro líhnutí *H. incongruens*. Cysty byly převedeny z uchovávacích ampulek do Petriho misek, každá ampulka byla 2x vypláchnuta 1 ml ředící vody, aby byl zajištěn kompletní přenos cyst do média. Cysty byly inkubovány po dobu 52 hodin při 25 °C a osvětlení 3000-4000 lux [97].

Po 48 hodinách od začátku inkubace byli vylíhnutí jedinci předkrmeni řasou Spirulina, 1 ml ampulka byla naplněna ředící vodou a třepána po dobu 10 minut. Poté byl obsah kvantitativně převeden do Petriho misek.

Vzhledem k tomu, že se jedná o šestidenní test, bylo nutné testovací organismy přikrmit řasou Spirulina. Z tuby s řasovými korálky bylo vylito konzervační médium a tuba byla naplněna 7 ml rozpouštěcího media. Tato směs byla 10 minut třepána až do rozpuštění řasových korálků. Poté byla suspenze centrifugována při 3000 otáčkách po dobu 10 minut. Po centrifugaci bylo rozpouštěcí médium vylito a ampulka byla naplněna 10 ml destilované vody a opět třepána a centrifugována. Nakonec byla z ampulky destilovaná voda vylita, ampulka byla doplněna ředící vodou a míchána 10 minut, aby došlo k úplnému promísení řasy s ředící vodou. Takto připravená suspenze byla převedena do 25 ml odměrné baňky a doplněna ředící vodou po značku [97].

Před zahájením samotného testu bylo nutné jedince *H. inconguens* změřit. Pomocí mikropipety bylo z každé Petriho misky převedeno 10 organismů do jamky destičky určené pro měření délky a bylo přidáno několik kapek Lugolova fixačního roztoku. Poté byly jednotlivé organismy změřeny na mikroměřítku, které bylo připevněno k podložnímu sklíčku. Čerstvě vylíhlí jedinci by měli měřit asi 200 μm [97].



Obr. 26.: Dospělý organismus *H. inconguens* [98].

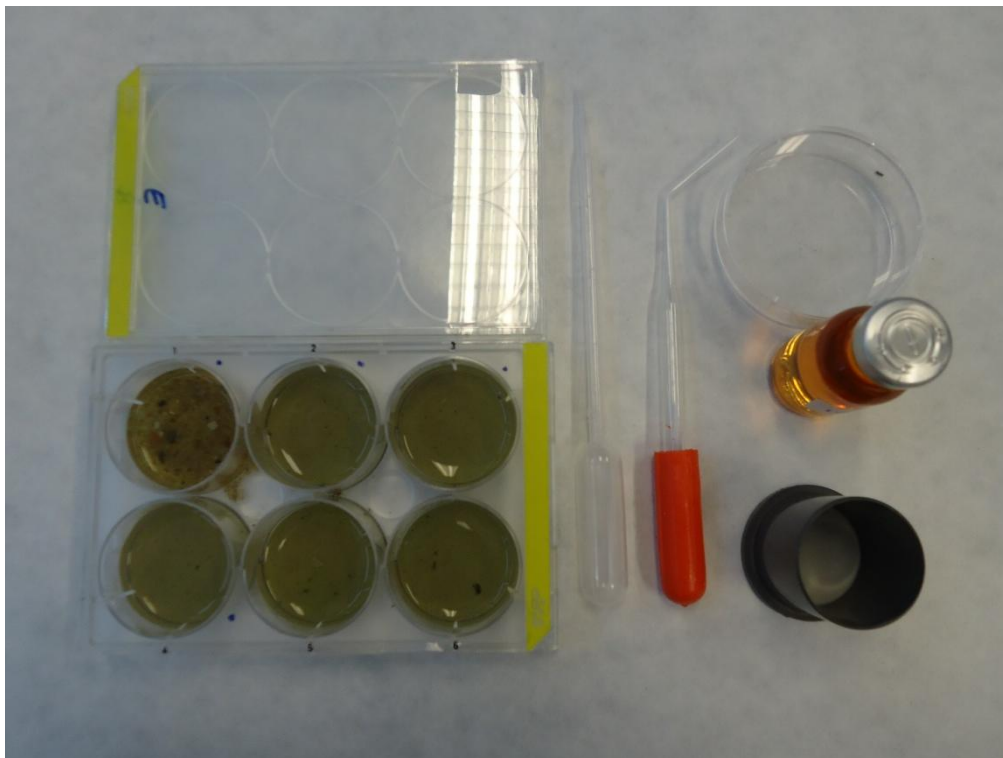
Test probíhal v testovacích destičkách o šesti jamkách z nichž jedna byla vyhrazena pro kontrolní sediment. Jamky v testovacích destičkách byly nejdříve naplněny 2 ml ředící vody, poté byly přidány 2 lžičky (každá o objemu 500 μl) sedimentu či kalu, suspenze byla

promíchána a po 5 minutách byly opatrně přidány 2 ml řasové suspence jako krmivo k zajištění optimální kondice testovacích organismů po celou dobu testu. Část testovacích organismů byla pomocí mikropipety převedena z Petriho misek, kde probíhalo jejich líhnutí, do víček Petriho misky s předem napipetovanými 10 ml ředící vody a odtud bylo pod mikroskopem vybráno vždy 10 jedinců do každé jamky testovacích destiček. Destičky byly inkubovány v temnu po dobu 6 dní při 25 °C [97].

Vyhodnocení výsledků

Po 6 dnech byly testovací destičky vyjmuty z inkubátoru a bylo provedeno vyhodnocení mortality a měření velikosti testovacích jedinců.

Pomocí velkoobjemové plastové pipety byl veškerý testovaný sediment a kal spolu s ředící vodou a organismy opatrně převeden do mikrosíta. Mikrosíta bylo velmi opatrně promyto vodou, aby se odplavily drobné části sedimentu. Poté byl sediment s ostracody převeden z mikrosíta na Petriho misku a pod mikroskopem byly spočteny živé organismy a převedeny do destičky pro měření délky, kam bylo přidáno několik kapek Lugolova fixačního roztoku. Délka byla měřena stejným způsobem jako před začátkem testu. Na základě velikosti ostracod byla vypočtena inhibice růstu vůči kontrole [97].



Obr. 27.: Destičky před hodnocením testu s *H. incongruens*.

3.5.2 Screeningový test na klíčivost semen salátu setého (*Lactuca sativa* L.)

Test byl proveden v souladu s normou ISO 17126:2005 Kvalita půdy – Stanovení účinků polutantů na půdní floru - Screeningový test na klíčivost semen salátu setého (*Lactuca sativa* L.).

Semena salátu byla před samotným testem předklíčena v Petriho miskách na filtračním papíře ovlhčeném destilovanou vodou. Předklíčení probíhalo při laboratorní teplotě a v temnu po dobu 24 hodin. Do testu byla nasazena semena s kořínkem kratším než 2 mm [99].

Testované sedimenty byly smíchány s referenční půdou LUFA v poměru 1:3. Kal byl smíchán s referenční půdou LUFA v poměru 1:1. Celkové množství takto připravené směsi činilo v obou případech 400 g. Poté byla směs nasypána do misek s otvorem ve dnu. WHC byla stanovena podle metodiky ISO 11269-1. Nádoby s naváženou směsí byly vloženy do destilované vody tak, aby došlo k nasátí vody až do maximálního nasycení půdy. Poté byly nádoby z vody vytaženy, přikryty alobalem a přes noc ponechány na suchém místě. Během noci došlo k ustanovení rovnováhy a ráno byla vlhkost půdy považována za WHC_{100%}. Misky byly poté váženy až do hmotnosti, která představovala 30% úbytek vlhkosti, takto upravená směs byla považována za ovlhčenou na WHC_{70%}. Do přichystaného substrátu byla do hloubky 0,5 cm pinzetou vložena předklíčená semena salátu. Misky byly překryty alobalem a inkubovány v temnu při 25°C po dobu 5 dní [99].



Obr. 28.: Inkubace *L. sativa*.

Vyhodnocení výsledků

Po 5 dnech byla vyklíčená semena opatrně vyjmuta ze substrátu, byla posouzena jejich klíčivost a s přesností na 0,1 mm změřena délka kořinek. Na základě inhibice klíčivosti a růstu kořene byla stanovena inhibice růstu proti kontrole a pomocí Dunnetova testu stanovena odlišnost od kontroly na hladině významnosti 0,5 [99].

3.5.3 Test únikového chování žížal *E. fetida*

Test byl proveden dle normy ISO 17512-1. Nejprve bylo naváženo 250 g směsi sedimentů a umělé půdy v poměru 3:1 a směsi kalu a umělé půdy v poměru 1:1. WHC_{100%} byla stanovena stejným způsobem, jako u Screeningového testu na klíčivost semen salátu setého. Voda v substrátu byla odpařena na hodnotu WHC_{40%}. Směsi vzorků s umělou půdou byly vloženy do misky, která byla v půlce přehrazena přepážkou. Do jedné půlky misky byly vloženy testované směsi, do druhé kontrolní umělá půda, která byla také ovlhčena na WHC_{40%}. Do testu byly následně vybrány žížaly o váze cca 0,3 mg. Žížaly byly omyty a po deseti kusech vloženy do středu testovacích misek. Misky byly poté přikryty potravinovou fólií s drobnými otvory, aby byla po dobu testu zajištěna výměna vzduchu. Žížaly byly inkubovány při laboratorní teplotě a osvětlení 400-800 lux s fotoperiodou 16 : 8 / světlo : tma po dobu 48 hodin [100].



Obr. 29.: Nádoba s testovacími organismy *E. fetida* na začátku testu.

Vyhodnocení výsledků

Po 48 hodinách byl stanoven počet žížal, které se přesunuly do testované směsi a počet žížal, které se přemístily do artificiální půdy.

Další způsob vyhodnocení byl proveden dle metodiky ISO 17512-1. Základním předpokladem pro hodnocení testů únikového chování je to, že poměr žížal v každé polovině nádoby je 1:1, tzn. že v každé polovině se nachází 5 žížal z celkového počtu 10 vložených. Výsledky byly vyjádřeny jako tzv. čistá odpověď (NR, net response), která se počítá podle následujícího vzorce:

$$NR = ((C-T)/N)*100$$

C.....žížaly pozorované v referenční půdě

T.....žížaly pozorované v testované půdě

N.....celkový počet žížal

Pokud je výsledek v kladných hodnotách, došlo k únikové reakci. Pokud je naopak výsledek v záporných hodnotách, došlo k neúnikové reakci (testovaný vzorek je pro organismy atraktivní). Pokud je výsledkem nula, neprojevíly organismy žádnou únikovou reakci a obě půdy preferovaly stejně. V případě, že je únikovost větší než 80 %, je prostředí považováno za toxické nebo se sníženou kvalitou [100].

3.6 Výsledky

Pro přehlednou interpretaci výsledků jsou výsledné hodnoty jednotlivých biotestů zpracovány do tabulek a grafů. Příloha 2 obsahuje výsledky předběžných testů s *D. magna* a *T. platyurus*.

V **Tabulce č. 14** jsou uvedena místa odběru sedimentů a kalu a označení získaných vzorků. Kontrolní výluh a kontrolní půda jsou vždy značeny jako K. Upravené výluhy jsou označeny stejně jako výluh standardní, názvy jsou pouze doplněny o písmeno „K“.

Tab.14.: Označení testovaných variant sediment (A – E) a kalu (F).

Varianta	Lokalita odběru	Vodní objekt
A	Staré Město u UH	Slepé rameno Moravy
B	Boršice u Blatnice	Boršický potok
C	Uherské Hradiště	Výpust' ČOV do Moravy
D	Brno - Komín	Svratka
E	Brno - Bystrc	Brněnská přehrada
F	Brno - Modřice	ČOV Modřice

3.6.1 Příprava vodného výluhu

V **Tabulce 15** jsou uvedeny hodnoty potřebné pro přípravu vodných výluhů testovaných vzorků. Tabulka uvádí podíl stanovené sušiny ve vzorcích (DR), navážky pevných vzorků a objemy louhovací kapaliny. Dále jsou zde uvedeny hodnoty pH vodných výluhů a pH pevných vzorků.

Tab.15.: Veličiny potřebné k přípravě 1 l vodného výluhu a hodnoty pH výluhů a pevných vzorků.

Varianta	DR (%)	Hmotnost navážky (g)	Objem kapaliny (ml)	pH výluhu	pH pevného vzorku
A	77,5	129,1	970,9	6,810	6,738
B	79,9	125,1	974,9	7,234	6,941
C	75,3	132,9	967,1	6,461	6,509
D	63,1	158,4	941,6	7,253	7,191
E	73,9	135,4	946	6,802	6,615
F	62,6	159,8	940,2	6,885	7,088

3.6.2 Biotesty s vodným výluhem

Ověřovací testy s testovacími organismy byly v laboratoři ekotoxikologie FCH VUT provedeny čtrnáct dní před začátkem experimentální části diplomové práce. Jejich provedení v rámci diplomové práce tedy nebylo potřebné.

3.6.2.1 *Daphtoxkit FTM*

Nejprve byl proveden předběžný test jehož výsledky jsou uvedeny v **Příloze 1**. Imobilita a mortalita organismů ve výluzích sedimentů byla pozorována až po 48 hodinách. Vzorek kalu vykazoval mortalitu i po 24 hodinové inkubaci.

Na základě předběžného testu byl proveden základní test. Pro vzorek A, C a E byly zvoleny koncentrace 125; 187,5; 250; 375 a 500 ml.l⁻¹. Pro vzorek B byly zvoleny koncentrace 62,5; 93,75; 125; 187,5 a 250 ml.l⁻¹ a pro vzorek D a F 31,25; 62,5; 93,75; 125 a 187,5 ml.l⁻¹. Mortalita organismů ve výluzích sedimentů byla pozorována až po 48 hodinách. Vzorek kalu vykazoval imobilitu a mortalitu i po 24 hodinové inkubaci. Výsledky základního testu jsou uvedeny v **Tabulkách 16 a 17**.

Tab. 16.: Výsledky základního testu s *D. magna* po 48 hodinové inkubaci.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Prům. počet imobilizovaných organismů	Imobilita (%)
A	125	0	0
	187	0,50	10
	250	0,75	15
	375	1	20
	500	1,50	30
B	62	0	0
	93,75	0,25	5
	125	0,75	15
	187,50	1	20
	250	0,75	15
C	125	0	0
	187	0,25	5
	250	0,50	10
	375	0,75	15
	500	0,75	15
D	31,25	0	0
	62,50	0,50	10
	93,75	0,75	15
	125	1	20
	187,50	1	20
E	125	0	0
	187	0,25	5
	250	0,75	15
	375	1	20
	500	1	20
F	31,25	0	0
	62,50	0,50	10
	93,75	0,75	15
	125	3	60
	187,50	4	80

Tab. 17: Výsledky základního testu s *D. magna* po 24 hodinové inkubaci ve vzorku kalu

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Prům. počet imobilizovaných organismů	Imobilita (%)
F	31,25	0	0
	62,50	0	0
	93,75	0	0
	125	1,50	30
	187,50	3	60

Pro porovnání ekotoxického potenciálu testovaných sedimentů a kalu byly u všech vzorků vypočteny koncentrace, které způsobí 10% inhibici růstu kořene. Pokud to bylo možné, byly vypočteny koncentrace, které způsobí 30 a 50% inhibici. Hodnoty EC₁₀, EC₃₀ a EC₅₀ jsou uvedeny v **Tabulce 18**. Tyto hodnoty byly vypočteny na základě probitové analýzy.

Tab.18.: Hodnoty EC₁₀, EC₃₀ a EC₅₀ testu s *D. magna* v ml.l⁻¹.

Varianta	EC ₁₀	EC ₃₀	EC ₅₀
A	186,20	524,81	x
B	120,15	x	x
C	293,09	x	x
D	54,95	338,84	x
E	239,88	x	x
F	67,92	95,5	125,89

Podle vyhlášky č. 376/2001 Sb., která stanovuje limit EC₅₀ ≤ 10 ml.l⁻¹ nevykázal ani jeden vzorek nebezpečnou vlastnost H 14 Ekotoxicita. Podle vyhlášky č. 294/2005 Sb. vykázaly neředěné vodné výluhy vzorků A, D a F inhibici větší než 30 % a dle této vyhlášky nemohou být použity k rekultivacím na povrchu terénu. Výsledky pro neředěné vodné výluhy jsou shrnuty v **Příloze 1**.

3.6.2.2 *Thamnotoxkit FTM*

Nejprve byl proveden předběžný test jehož výsledky jsou uvedeny v **Příloze 1**. Předběžný test s *T. platyurus* byl proveden také v upraveném výluhu. Výsledky tohoto testu jsou uvedeny v **Tabulce 20**.

Na základě předběžného testu byl proveden základní test. Pro vzorek A byly zvoleny koncentrace 125; 187,5; 250; 375; 500 ml.l⁻¹. Pro vzorky B a C byly zvoleny koncentrace 62,5; 93,8; 125; 87,5 a 250 a pro vzorky D a E byly použity koncentrace 250; 375; 500; 750 a

1000 ml.l⁻¹. Pro vzorek F byly zvoleny koncentrace 7,81; 15,63; 31,25; 46,9 a 62,5. Výsledky základního testu jsou uvedeny v **Tabulce 19**.

V tabulkách je vynechán sloupec udávající hodnoty prům. mortality organismů, hodnoty mortalily (%) jsou jejich desetinásobkem. Prům. mortalita jedinců je tudíž lehce odvoditelná.

Tab. 19.: Výsledky základního testu s *T. platyurus*.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Mortalita (%)
A	125	3,33
	187,5	3,33
	250	13,33
	375	26,66
	500	30
B	62,5	3,3
	93,8	3,3
	125	13,33
	87,5	16,6
	250	23,3
C	250	3,3
	375	6,6
	500	10
	750	13,3
	1000	23,3
D	62,5	0
	93,8	6,66
	125	10
	187,5	13,33
	250	20,33
E	250	3,33
	375	0
	500	10
	750	16,66
	1000	16,66
F	7,81	0
	15,63	0
	31,25	20
	46,9	70
	62,5	100

Tab. 20.: Výsledky testu s *T. platyurus*. Hodnoty mortality v neředěném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Mortalita (%)
AK	62,5	13,33
	125	13,33
	250	26,33
	500	36,66
	1000	46,66
DK	62,5	6,66
	125	10
	250	16,66
	500	26,66
	1000	33,33

Pro porovnání ekotoxického potenciálu testovaných sedimentů a kalu byly u všech vzorků vypočteny koncentrace, které způsobí 10% mortalitu testovacích organismů. Pokud to bylo možné, byly vypočteny koncentrace, které způsobí 30 a 50% mortalitu. Hodnoty LC₁₀, LC₃₀ a LC₅₀ jsou uvedeny v **Tabulce 21**.

Tab. 21.: Hodnoty LC₁₀, LC₃₀ a LC₅₀ testu s *T. platyurus* v ml.l⁻¹.

Varianta	LC ₁₀	LC ₃₀	LC ₅₀
A	153,1	498,88	x
B	112,46	x	x
C	463,45	x	x
D	127,35	619,44	x
E	470,98	x	x
F	14,22	21,68	33,11
AK	66,07	309,03	x
DK	105,93	767,36	

Ačkoli *T. platyurus* není organismem uvedeným v seznamu testů pro hodnocení ekotoxicity odpadů, na základě toxicity jejich vodných výluhů je možno usoudit, že podle vyhlášky č. 376/2001 Sb., která stanovuje limit LC₅₀ ≤ 10 ml.l⁻¹ nevykázal ani jeden vzorek nebezpečnou vlastnost H 14 Ekotoxicita. Podle vyhlášky č. 294/2005 Sb. vykázaly neředěné vodné výluhy vzorků A, D a F inhibici větší než 30 % a dle této vyhlášky nemohou být použity k rekultivacím na povrchu terénu. Výsledky pro neředěné vodné výluhy jsou shrnuty v **Příloze 1**.

3.6.2.3 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba*)

Test inhibice růstu hořčice bílé byl proveden s koncentracemi výluhů 200, 300, 500, 700 a 1000 ml.l⁻¹. V **Tabulce 22** jsou uvedeny výsledky testu s *S. alba*.

Tab. 22..: Výsledky testu inhibice růstu kořene *S. alba*. Hodnoty inhibice růstu v neřaděném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Prům. délka kořene (cm)	Inhibice (%)
A	200	2,46	17,56
	300	2,10	29,64
	500	3,11	-4,47
	700	2,45	17,90
	1000	1,86	37,70
B	200	2,90	21,70
	300	2,96	2,80
	500	2,74	1,90
	700	2,38	20,02
	1000	2,70	9,28
C	200	2,31	22,60
	300	2,48	16,89
	500	2,48	20,00
	700	1,68	43,74
	1000	1,95	34,68
D	200	2,62	11,97
	300	2,21	25,84
	500	2,78	6,82
	700	2,15	27,74
	1000	2,34	21,36
E	200	2,73	8,50
	300	2,60	12,64
	500	2,82	5,26
	700	2,44	18,12
	1000	2,2	26,06
F	10	2,74	8,05
	50	2,05	31,21
	200	1,70	42,95
	300	1,49	50,00
	500	1,42	52,35
	700	0,89	70,25
	1000	0,27	91,05
K	0	2,98	0

Vzhledem k tomu, že kromě vzorku čistírenského kalu nevykazovaly vzorky inhibici nebo stimulaci větší než 50 %, byl pro ověření výsledků proveden ověřovací test s neředěným vodným výluhem. Výsledky ověřovacího testu jsou uvedeny v **Tabulce 23**.

Tab. 23.: Výsledky ověřovacího testu inhibice růstu kořene *S. alba*.

Varianta	Prům. délka kořene (cm)	Inhibice (%)
A	1,78	36,73
B	2,54	9,72
C	1,77	37,09
D	2,19	22,16
E	2,00	28,91
F	0,22	92,18
K	2,81	0

Výsledky ověřovacího testu potvrdily, že vzorky sedimentů nevykazovaly inhibici větší než 50 %.

Pro porovnání ekotoxického potenciálu testovaných sedimentů a kalu byly u všech vzorků vypočteny koncentrace, které způsobí 10% inhibici růstu kořene. Pokud to bylo možné, byly vypočteny koncentrace, které způsobí 30 a 50% inhibici. Hodnoty IC₁₀, IC₃₀ a IC₅₀ jsou uvedeny v **Tabulce 24**.

Tab. 24.: Hodnoty IC₁₀, IC₃₀ a IC₅₀ testu inhibice růstu kořene *S. alba* v ml.l⁻¹.

Varianta	IC ₁₀	IC ₃₀	IC ₅₀
A	57,54	870	x
B	524	x	x
C	110,03	562	x
D	65,1	x	x
E	297,16	x	x
F	14,72	55	299

Podle vyhlášky č. 376/2001 Sb., která stanovuje limit IC₅₀ ≤ 10 ml.l⁻¹ nevykázal ani jeden vzorek nebezpečnou vlastnost H 14 Ekotoxicita. Podle vyhlášky č. 294/2005 Sb. vykazaly inhibici větší než 30 % neředěné vodné výluhy vzorků A, C a F, které dle této vyhlášky nemohou být použity k rekultivacím na povrchu terénu.

3.6.2.4 Test inhibice růstu okřehku menšího (*Lemna minor*)

Rest sinhibice růstu okřehku menšího byl proveden ve stejných koncentracích výluhu jako test s *S. alba*. V **Tabulce 25** jsou uvedeny výsledky testu s *L. minor*. Test s *L. minor* byl proveden také v upraveném výluhu, jeho výsledky jsou uvedeny v **Tabulce 26**. Pro vzorek kalu byla z důvodu jeho vysoké toxicity, která byla prokázána v testech s jinými organismy, připravena navíc koncentrace výluhu 50 ml.l⁻¹.

Tab. 25.: Výsledky testu s *L. minor*. Hodnoty inhibice růstu v neředěném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Biomasa (g)	Redukce biomasy (%)	Růst. rychlost	Inhibice růst. rychlosti (%)
A	200	0,0088	17,30	0,0909	38,03
	300	0,0094	13,12	0,0955	33,80
	500	0,0135	1,62	0,1082	4,93
	700	0,0112	11,79	0,0970	21,13
	1000	0,0130	7,38	0,1018	8,45
B	200	0,0128	9,86	0,0985	10,50
	300	0,0101	28,87	0,0933	15,17
	500	0,0118	16,90	0,1012	7,99
	700	0,0092	35,21	0,0885	19,51
	1000	0,0087	38,73	0,0806	26,72
C	200	0,0117	17,61	0,0963	12,45
	300	0,0110	22,54	0,0902	18,03
	500	0,0106	25,35	0,0970	11,79
	700	0,0091	35,92	0,0860	21,81
	1000	0,0077	45,77	0,0715	34,99
D	200	0,0132	7,04	0,1058	3,85
	300	0,0131	7,75	0,1117	-1,57
	500	0,0138	2,82	0,1129	-2,60
	700	0,0123	13,38	0,0999	9,23
	1000	0,0102	28,17	0,0834	24,21
E	200	0,0131	7,75	0,1045	5,00
	300	0,0120	15,49	0,0955	13,12
	500	0,0119	16,20	0,0955	13,12
	700	0,0101	28,87	0,0860	21,81
	1000	0,0097	31,69	0,0842	23,40
F	50	0,0128	9,86	0,0948	13,80
	200	0,0054	61,97	0,0582	47,08
	300	0,0024	83,10	0,0178	83,77
	500	0,0006	95,77	0	100
	700	0,0011	92,25	0	100
	1000	0,0004	97,18	0	100
K		0,0142	x	0,1100	x

Tab. 26.: Výsledky předběžného testu s *L. minor* s upraveným výluhem. Hodnoty inhibice růstu v neředěném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Biomasa (g)	Redukce biomasy (%)	Růst. rychlost	Inhibice růst. rychlosti (%)
AK	200	0,0130	8,45	0,0970	11,79
	300	0,0119	16,20	0,0956	13,12
	500	0,0108	23,94	0,0925	15,87
	700	0,0113	20,42	0,0918	16,58
	1000	0,0084	40,85	0,0806	26,72
CK	200	0,0128	9,93	0,1070	2,72
	300	0,0121	14,79	0,0978	11,14
	500	0,0194	-36,62	0,1226	-11,52
	700	0,0172	-21,13	0,1172	-6,53
	1000	0,0119	16,20	0,0963	12,45

Pro porovnání ekotoxického potenciálu testovaných sedimentů a kalu byly u všech vzorků vypočteny koncentrace, které způsobí 10% inhibici růstu kořene. Pokud to bylo možné, byly vypočteny koncentrace, které způsobí 30 a 50% inhibici. Hodnoty IC₁₀, IC₃₀ a IC₅₀ vypočtené na základě redukce biomasy jsou uvedeny v **Tabulce 27** a hodnoty IC₁₀, IC₃₀ a IC₅₀ vypočtené na základě inhibice růstové rychlosti v **Tabulce 28**.

Tab. 27: Hodnoty IC₁₀, IC₃₀ a IC₅₀ redukce biomasy v ml.l⁻¹.

Varianta	IC ₁₀	IC ₃₀	IC ₅₀
A	227	776	x
B	158,5	602,6	x
C	144,5	478,6	x
D	440,6	x	x
E	234,4	912	x
F	18,6	43,45	100
AK	223,9	741,3	x
DK	734,51	x	x

Tab. 28.: Hodnoty IC₁₀, IC₃₀ a IC₅₀ inhibice růstové rychlosti v ml.l⁻¹.

Varianta	IC ₁₀	IC ₃₀	IC ₅₀
A	436,5	x	x
B	223,9	x	x
C	165,58	901,5	x
D	316,2	x	x
E	281,8	x	x
F	46,8	85,9	100
AK	195	x	x
DK	995,4	x	x

Pokud by byl tento testovací organismus stanoven pro hodnocení ekotoxicity odpadů tak by podle vyhlášky č. 376/2001 Sb., která stanovuje limit IC₅₀ ≤ 10 ml.l⁻¹ nevykázal ani jeden vzorek nebezpečnou vlastnost H 14 Ekotoxicita. Podle vyhlášky č. 294/2005 Sb. by vykázaly inhibici větší než 30 % neředěné vodné výluhy vzorků B, C, E a F, které dle této vyhlášky nemohou být použity k rekultivacím na povrchu terénu.

3.6.3 Kontaktní biotesty

3.6.3.1 *Ostracodtoxkit F*

V **Tabulce 29** jsou uvedeny průměrné délky těl ostracodů na začátku testu a na konci testu. Z těchto hodnot byl vypočten růst ostracodů od začátku do konce testu a jeho inhibice v testovaných vzorcích. Tyto výsledky jsou uvedeny v **Tabulce 30**. Testovací organismy nevykázaly v testovaných sedimentech mortalitu, ale ve vzorku kalu F byla mortalita 100%.

Tab. 29: Prům. délka *H. incongruens* na začátku a na konci testu.

Varianta	Prům. délka na začátku testu (μm)	Prům. délka na konci testu (μm)	
		Kontrola	Vzorek
A	215	446	343
B	215	438	290
C	230	461	347
D	230	464	320
E	210	432	330
F	210	430	x

Tab. 30.: Přírůstek velikosti měřený jako délka těl *H. incongruens* a inhibice jejich růstu oproti kontrole.

Varianta	Růst kontrola (μm)	Růst vzorek (μm)	Inhibice růstu (%)
A	231	128	45
B	223	75	66
C	231	117	49
D	234	90	62
E	222	120	46
F	220	x	x

3.6.3.2 Screeningový test klíčivosti salátu setého (*Lactuca sativa*)

V testu klíčivosti salátu setého byly výsledky vyhodnoceny pomocí Dunnetova testu. Byla také vypočtena klíčivost a inhibice růstu oproti kontrole. Délka kořene salátu setého v kontrolní půdě byla 2,06 cm. V **Tabulce 31** jsou uvedeny výsledky testu. Ve vzorku F nebylo vzhledem k nulové klíčivosti možno vypočítat SD ani SE a tyto hodnoty v tabulce vynechány. Přesto lze říci, že zde byla patrná významná odlošnost od kontroly.

Tab. 31.: Výsledky testu inhibice růstu kořene salátu setého (*Lactuca sativa*). Statistické údaje byly vypočítány podle Dunnetova t-testu, SE je směrodatná chyba (Standard Error) a SD je významný rozdíl (Significant difference). Hladina významnosti je 0,05.

Vzorek	Prům. délka kořene (cm)	SE	SD (mm)	Inhibice (%)	Klíčivost (%)	Významná odlišnost ($\gamma = 0,05$)
A	0,4233	0,5	1,10	79,45	20	ANO
B	0,5650	0,6	1,22	72,57	26,6	ANO
C	0,410	0,5	0,99	80,10	26,6	ANO
D	0,6867	0,6	1,19	66,67	53,3	ANO
E	0,4533	0,5	1,1	77,99	30	ANO
F	0			100	0	ANO

3.6.3.3 Test únikového chování s žížalou *E. fetida*

V testu únikového chování žížal byly výsledky vyhodnoceny jednak spočítáním žížal v každé polovině testovacích misek, jednak pomocí vzorce pro výpočet tzv. čisté odpovědi (NT). Výsledky testu jsou uvedeny v **Tabulce 32**.

Tab. 32.: Výsledky testu únikového chování žížal. NR (%) vyjadřuje míru únikovosti.

Varianta	Prům. počet žížal ve vzorku	Prům. počet žížal v umělé půdě	NR (%)
A	4	6	20
B	3,5	6,4	29
C	5,5	4,5	-10
D	7	3	-40
E	2,5	7,5	50
F	0	10	100

4 DISKUZE VÝSLEDKŮ

Testy ekotoxicity vzorků sedimentů a kalu byly provedeny ve vodném výluhu těchto vzorků, tj. v testech v akvatickém uspořádání. Dále byly provedeny testy v kontaktním uspořádání. V testech s vodným výluhem i v kontaktních testech byly využity vyšší rostliny a živočišné organismy. Naměřené hodnoty a vypočtená data byla zpracována do tabulek, které jsou prezentovány v kapitolách **Výsledky** a **Přílohy**. Pro lepší porovnání a zhodnocení výsledků byly naměřené hodnoty a vypočtená data zpracovány do grafů. Pro lepší přehlednost grafů byly výsledky zaokrouhleny na celá čísla.

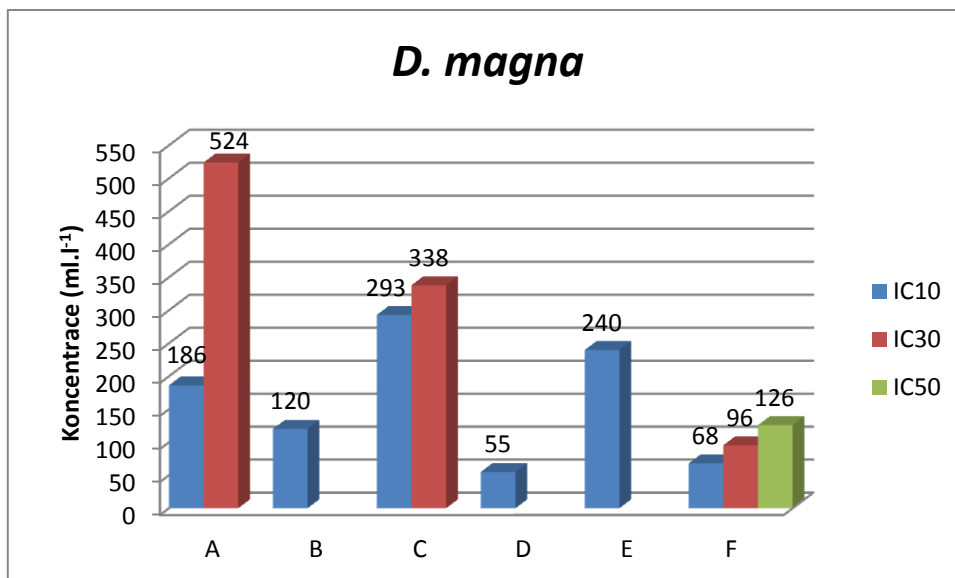
4.1 Biotesty s vodným výluhem

Pro porovnání ekotoxicity vodných výluhů vzorků byly vypočteny hodnoty IC_{10} , IC_{30} , IC_{50} , dále hodnoty LC_{10} , LC_{30} , LC_{50} a EC_{10} , EC_{30} , EC_{50} . Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} byly vypočteny proto, že některé vzorky nevykázaly míru inhibice nutnou pro určení hodnot IC_{50} a LC_{30} , EC_{50} .

4.1.1 Srovnání výsledků jednotlivých biotestů

- **Daphtoxkit FTM**

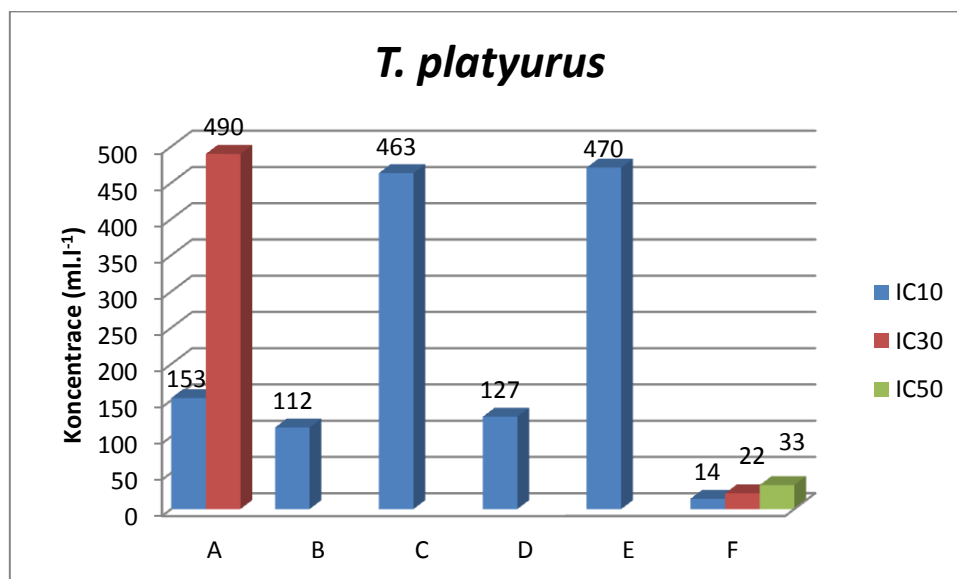
Z porovnání ekotoxického působení výluhů vzorků na *D. magna* je patrné, že nejvyšší míru ekotoxicity vykázal vzorek F. Všechny výluhy působily na tento organismus negativně. Nejvyšší hodnoty EC_{10} byly vypočteny pro vzorky B, D a F. Imobilita jedinců *D. magna* v neředěném výluhu dosahovala pro vzorek F 100 %, u ostatních výluhů byla imobilita podstatně menší. Hodnoty EC_{10} , EC_{30} a EC_{50} pro test s *D. magna* jsou uvedeny v **Grafu 1**.



Graf 1.: Hodnoty EC₁₀, EC₃₀ a EC₅₀ pro testované vzorky v testu s *D. magna*.

- **Thamnotoxkit FTM**

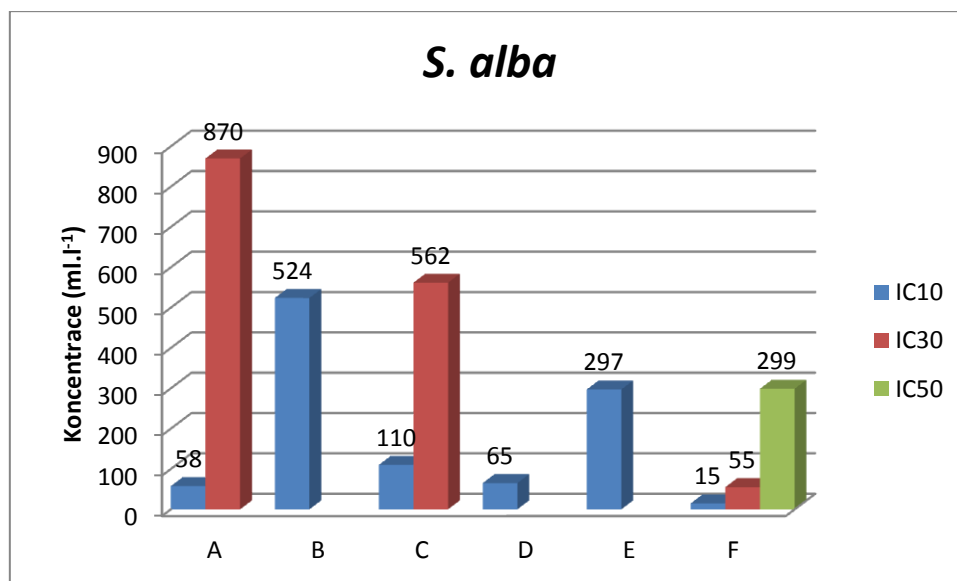
Jednotlivé vzorky vykazovaly v testech na organismu *T. platyurus* podobný trend toxicity jako na *D. magna*. Jako nejvíce toxické se projeví opět vzorky B, D a F. Hodnoty LC₁₀, LC₃₀ a LC₅₀ pro test s *T. platyurus* jsou uvedeny v **Grafu 2**.



Graf 2.: Hodnoty LC₁₀, LC₃₀ a LC₅₀ pro testované vzorky v testu s *T. platyurus*.

- **Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba*)**

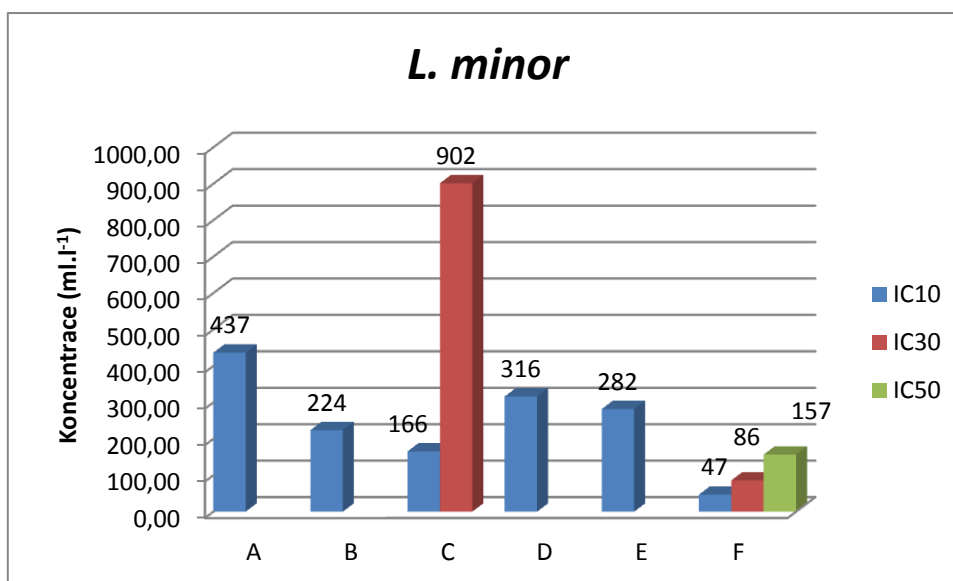
Závislost inhibice růstu kořene *S. alba* na koncentraci výluhu sedimentů vykazovala nelineární trend. Inhibice byla pro vzorky B, D a E nejmenší v koncentraci 50 % a pro vzorek C 30 %. Vzorek A vykazoval v 50% koncentraci stimulaci růstu. Tento fakt ovlivnil také vypočítané hodnoty IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} . Z důvodu malého množství materiálu nemohl být test proveden znovu a výsledky jsou proto pouze orientační. Jako nejvíce toxické se projevíly vzorky A, D a F. Hodnoty IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} pro test s *S. alba* jsou uvedeny v **Grafu 3**.



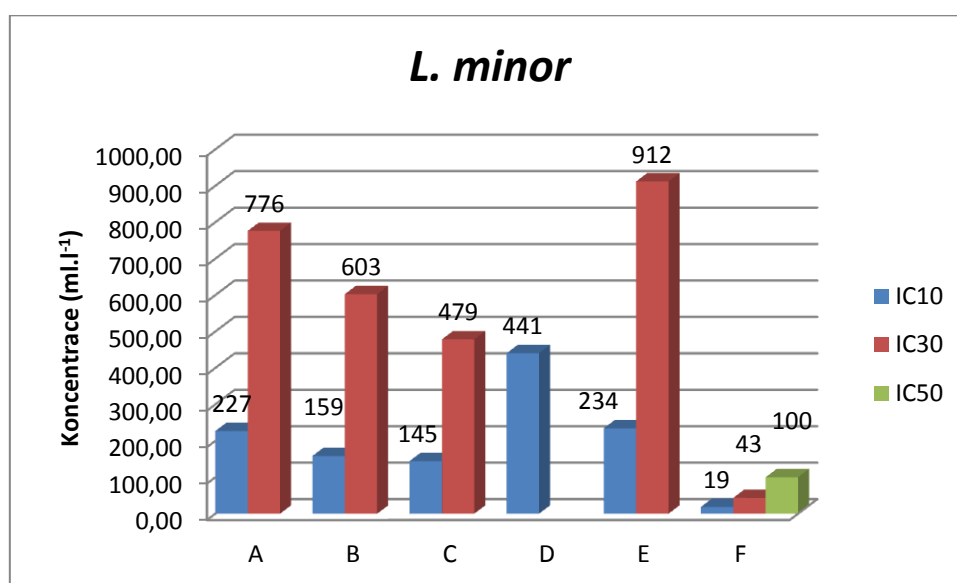
Graf 3.: Hodnoty IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} pro testované vzorky v testu s *S. alba*.

- **Test inhibice růstu okřehku menšího (*Lemna minor*)**

V testu s *L. minor* se jako nejvíce toxický projevíly vzorky B, C a F. Inhibiční účinky vzorků sedimentů se více projevíly při hodnocení testu prostřednictvím nárůstu biomasy než růstové rychlosti *L. minor*. Inhibiční účinky kalu F projevíly opačný trend. Hodnoty inhibice růstové rychlosti IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} jsou uvedeny v **Grafech 4 a 5**. Výsledky biotestů s *L. minor* vykazovaly nelineární trend, nejnižší míra inhibice byla ve většině testovaných vzorků zaznamenána v 50% koncentraci vodného výluhu. Tento fakt ovlivnil také vypočítané hodnoty IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} . Z důvodu malého množství materiálu nemohl být test proveden znovu a výsledky jsou proto pouze orientační.



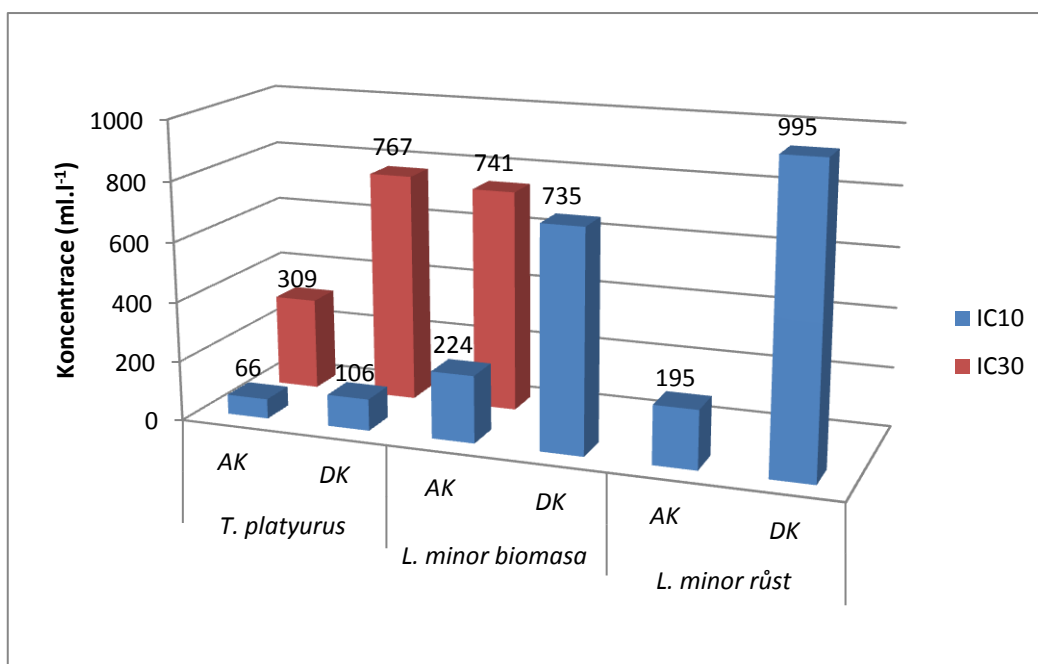
Graf 4.: Hodnoty IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} růstové rychlosti pro testované vzorky v testu s *L. minor*



Graf 5.: Hodnoty IC_{10} , IC_{30} a IC_{50} nárůstu biomasy pro testované vzorky v testu s *L. minor*

- **Biotesty provedené v upraveném výluhu**

Upravený výluh byl testován na organismech *T. platyurus* a *L. minor*. Testovány byly vzorky ze slepého ramena řeky Moravy (AK) a Svatky (DK). Výluh AK vykazoval větší ekotoxické účinky než neupravený výluh A jak na *T. Platyurus*, tak na *L. minor*. Výluh DK naopak vykazoval na *L. minor* menší ekotoxické účinky. Srovnání IC_{10} , LC_{10} , IC_{30} a LC_{30} upravených výluhů na *T. platyurus* a na *L. minor* je uvedeno v **Grafu 6**.

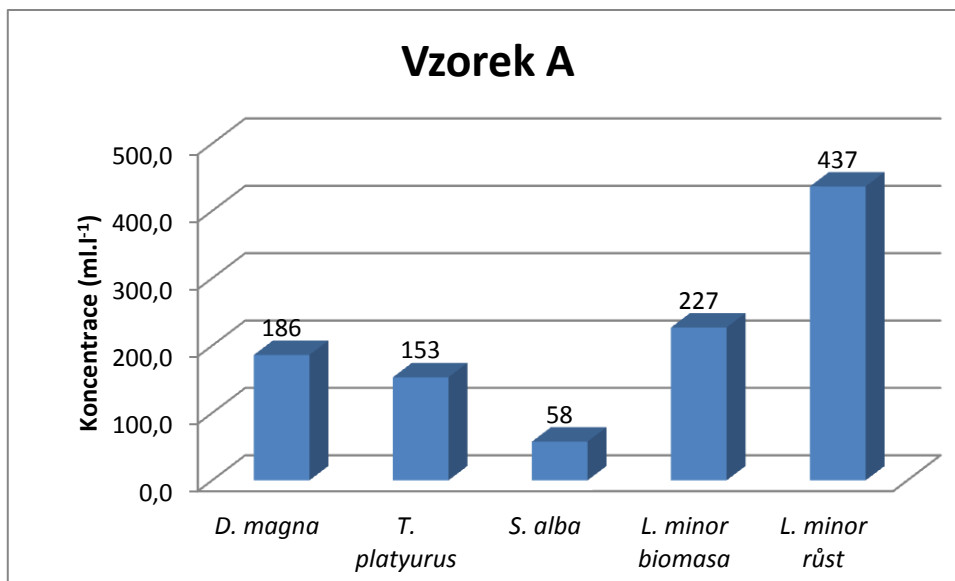


Graf 6.: Hodnoty IC₁₀, LC₁₀, IC₃₀ a LC₃₀ upravených výluhů v testech s *T. platyurus* a *L. minor*.

4.1.2 Srovnání výsledků jednotlivých vzorků

- **Sediment ze slepého ramene Moravy (A)**

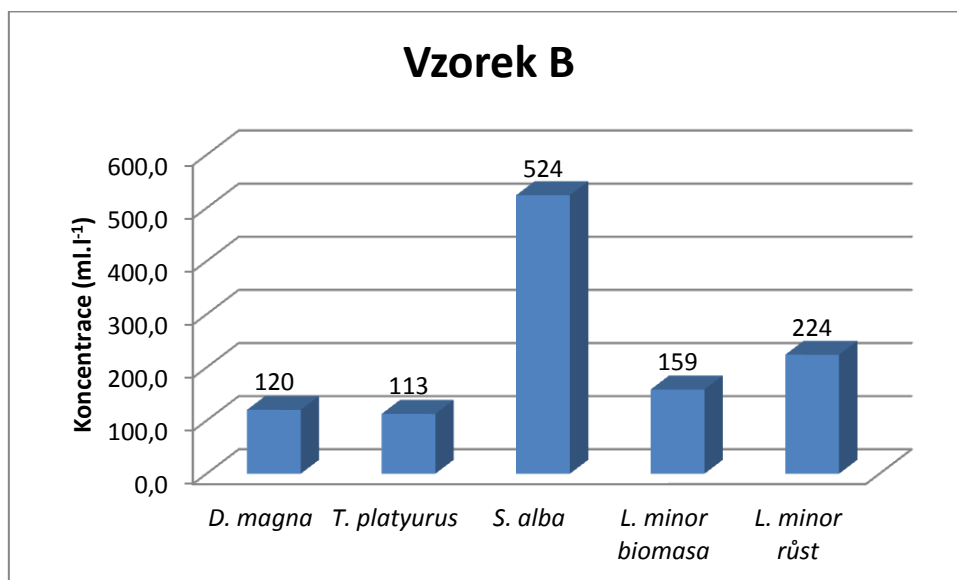
Vzorek ze slepého ramene řeky Moravy byl nejvíce toxický pro semena *S. alba*, hodnota IC₁₀ byla stanovena na 57,5 ml.l⁻¹. Nejméně toxický účinek měl sediment na růstovou rychlost *L. minor*, IC₁₀ byla stanovena na 436,5 ml.l⁻¹. Hodnoty IC₁₀, LC₁₀ a EC₁₀ pro testovací organismy jsou uvedeny v **Grafu 7**.



Graf 7.: Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} vzorku A v testech provedených ve vodném výluhu.

- **Sediment z Boršického potoka (B)**

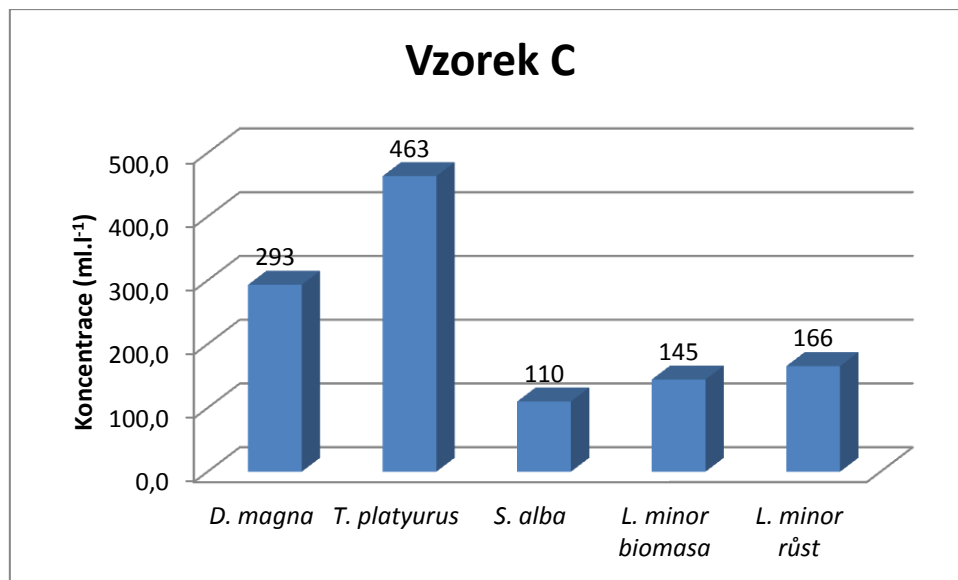
Vzorek z Boršického potoka, který se nachází v blízkosti CHKO Bílé Karpaty byl nejvíce toxický pro organismy *T. platyurus*, hodnota LC_{10} byla stanovena na 112,5 ml.l⁻¹. Nejméně toxický účinek měl sediment na semena *S. alba*, IC_{10} byla stanovena na 524 ml.l⁻¹. Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} pro testovací organismy jsou uvedeny v **Grafu 8**.



Graf 8.: Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} vzorku B v testech provedených ve vodném výluhu.

- **Sediment z blízkosti výpusti ČOV do Moravy (C)**

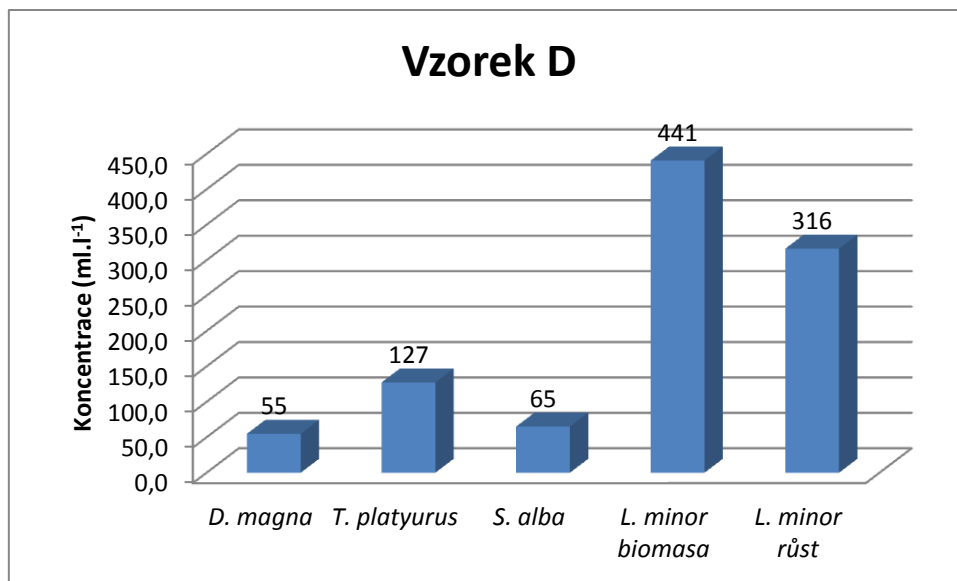
Vzorek z blízkosti výpusti ČOV do Moravy byl nejvíce toxický pro semena *S. alba*, hodnota IC_{10} byla stanovena na 110 ml.l^{-1} . Nejméně toxický účinek měl sediment na semena *T. platyurus*, LC_{10} byla stanovena na $463,5 \text{ ml.l}^{-1}$. Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} pro testovací organismy jsou uvedeny v **Grafu 9**.



Graf 9.: Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} vzorku C v testech provedených ve vodném výluhu.

- **Sediment ze Svratky (D)**

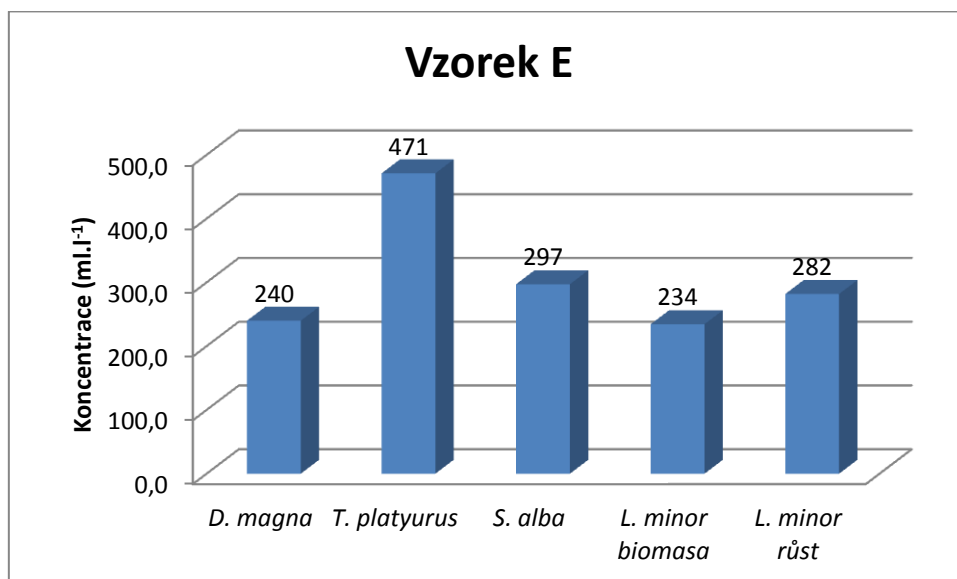
Vzorek ze Svratky v lokalitě Brno - Komín byl nejvíce toxický pro *D. magna*, hodnota EC_{10} byla stanovena na 55 ml.l^{-1} . Nejméně toxický účinek měl sediment na růstovou rychlost *L. minor*, IC_{10} byla stanovena na $463,5 \text{ ml.l}^{-1}$. Hodnoty IC_{10} pro testovací organismy jsou uvedeny v **Grafu 10**.



Graf 10.: Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} vzorku D v testech provedených ve vodném výluhu.

- **Sediment z Brněnské přehrady (E)**

Vzorek z Brněnské přehrady byl nejvíce toxický pro *D. magna*, hodnota EC_{10} byla stanovena na 239,9 ml.l⁻¹. Nejméně toxický účinek měl sediment na *T. platyurus*, LC_{10} byla stanovena na 471 ml.l⁻¹. Hodnoty IC_{10} pro testovací organismy jsou uvedeny v **Grafu 11**.

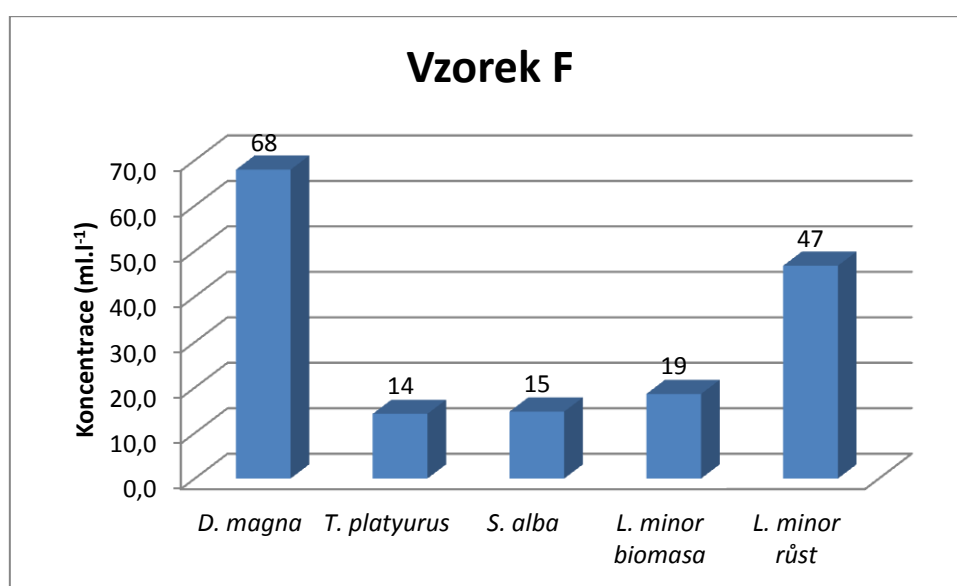


Graf 11.: Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} vzorku E v testech provedených ve vodném výluhu.

- Čistírenský kal z ČOV Modřice

Čistírenský kal vykázal v testech největší míru toxicity pro testovací organismy. Narozdíl od sedimentů bylo možno vypočítat hodnoty IC_{50} , LC_{50} a EC_{50} . Za účelem porovnání výsledků se vzorky sedimentů byly do **Grafu 12** uvedeny hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} .

Vzorek z kalu byl nejvíce toxický pro *T. platyurus*, hodnota LC_{10} byla stanovena na $14,2 \text{ ml.l}^{-1}$. Nejméně toxický účinek měl sediment na *D. magna*, EC_{10} byla stanovena na $67,9 \text{ ml.l}^{-1}$.



Graf 12.: Hodnoty IC_{10} , LC_{10} a EC_{10} vzorku F v testech provedených ve vodném výluhu.

- Souhrn výsledků pro testy s vodným výluhem

Jako nejvíce toxický vzorek se projevil čistírenský kal F, u kterého bylo možno vypočítat hodnoty IC_{50} ve všech testech. Žádný výluh nevykázal dle vyhlášky č. 376/2001 Sb. nebezpečnou vlastnost H 14 Ekotoxicita. V případě hodnocení dle vyhlášky č. 294/2005 Sb. vykázal ekotoxické působení neředěný vodný výluh čistírenského kalu F a neředěné vodné výluhy sedimentů A, C a D. Tyto výsledky jsou shrnuty v **Příloze 1**.

Upravené výluhy vzorků A a D projevily různý trend v ekotoxickém působení. Zatímco ekotoxicita vzorku AK se zvýšila jak v testu s *T. platyurus*, tak v testu s *L. minor*, vzorek DK prokázal menší ekotoxické působení na *L. minor* než v testu s vodným výluhem. To může být způsobeno vyluhováním látek, které mají pozitivní vliv na růst *L. minor*.

Zvýšená ekotoxicita upraveného výluhu A mohla být způsobena vyluhováním např. rizikových prvků. Vzorek byl odebrán v blízkosti provozovny Colorlak, tato lokalita je zahrnuta v aktuálním seznamu kontaminovaných míst společnosti Cenia.

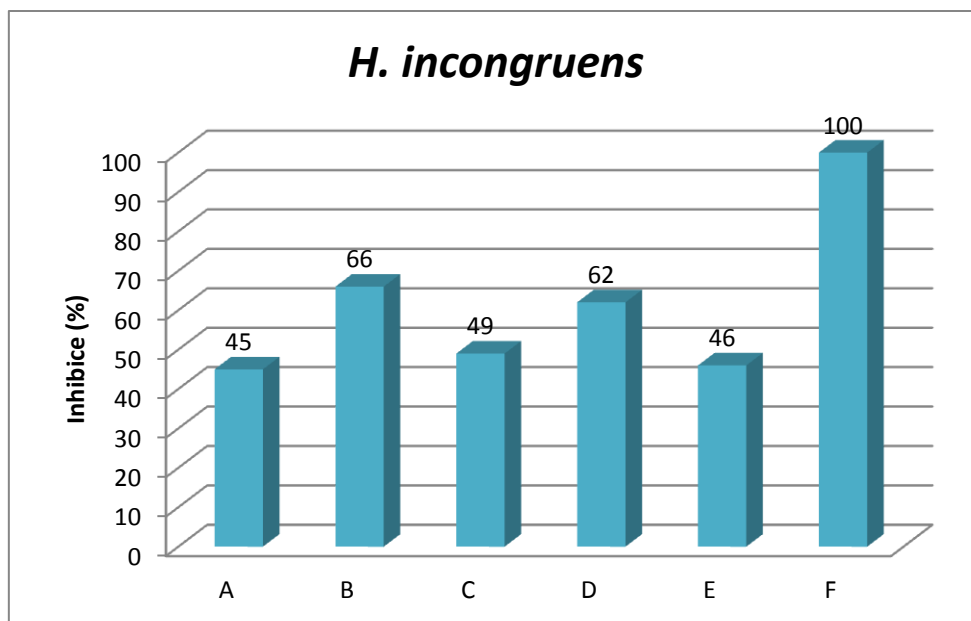
4.2 Kontaktní biotesty

Pro porovnání ekotoxicity vzorků v kontaktním uspořádání byly pro každý test vypočteny hodnoty inhibice (%). Koncentrace sedimentů v LUFA a umělé půdě byla vždy 30 % a koncentrace kalu byla vždy 50 %.

4.2.1 Srovnání výsledků jednotlivých biotestů

- **Ostracodtoxit F**

Nejvyšší ekotoxický účinek na délku těl ostracodů vykazoval vzorek kalu, který způsobil 100% mortalitu ostracodů, dále pak sediment B, u něhož inhibice byla stanovena na 66 %. Nejnižší ekotoxický účinek na délku těl ostracodů vykazoval vzorek sedimentu A, inhibice byla stanovena na 45 %. Hodnoty inhibice vzorků na *H. incongruens* jsou uvedeny v **Grafu 13**.



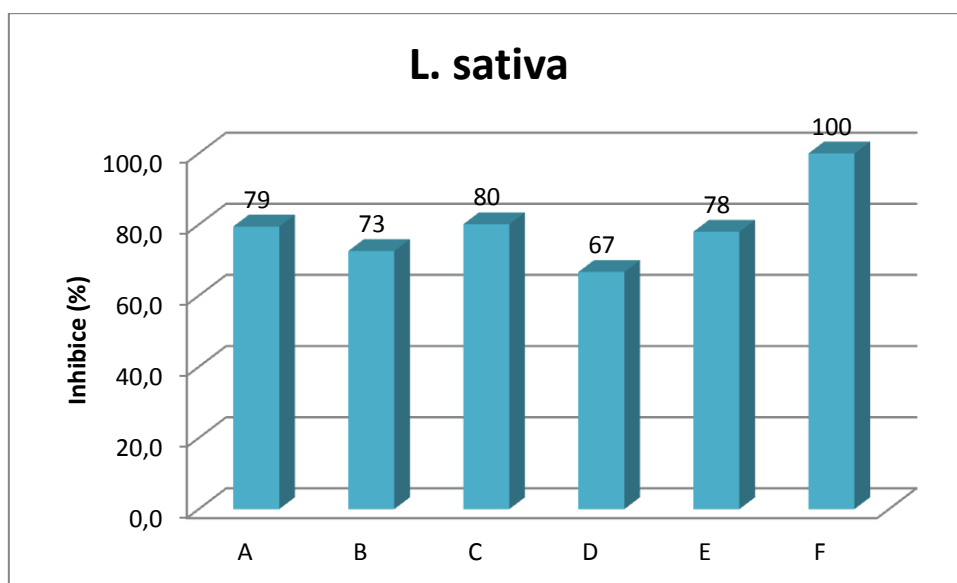
Graf 13.: Hodnoty inhibice velikosti těl *H. incongruens*.

- **Screeningový test klíčivosti salátu setého (*L. sativa*)**

Nejvyšší ekotoxický účinek na klíčivost *L. sativa* vykazoval vzorek kalu, který způsobil 100% inhibici klíčivosti. Ze vzorků sediment vykázal největší míru inhibice vzorek C, inhibice byla stanovena na 80,1 %. Nejnižší ekotoxický účinek na klíčivost *L. sativa*

vykazoval vzorek sedimentu D, inhibice byla stanovena na 66,7 %. Všechny vzorky vykázaly významnou odlišnost od kontroly na hladině významnosti 0,05. Hodnoty inhibice klíčivosti *L. sativa* jsou uvedeny v **Grafu 14**.

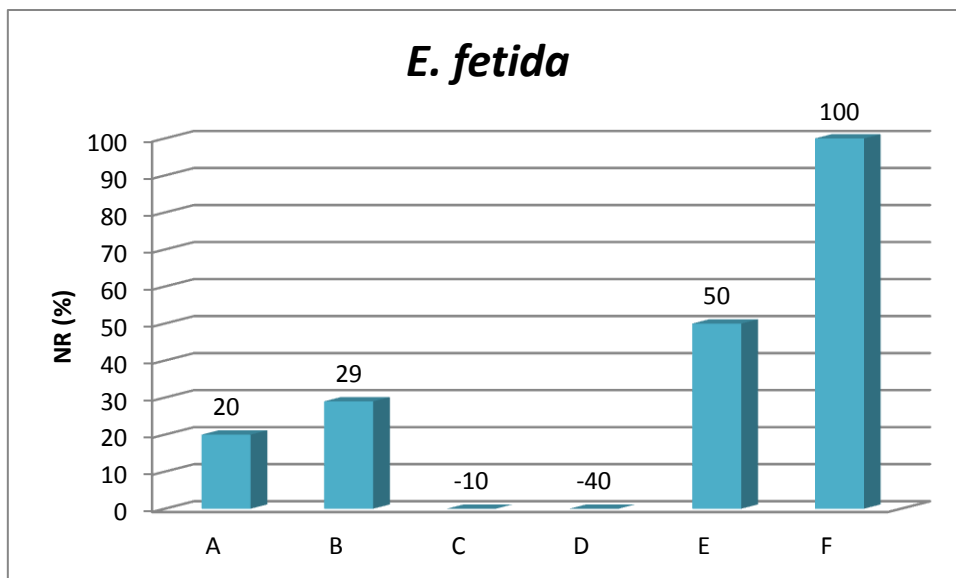
Vysoké hodnoty inhibice byly pravděpodobně způsobeny strukturou testovaných materiálů. Sedimenty byly jílovitého charakteru a velmi špatně proto docházelo k průsaku vody. Voda u většiny testovaných sedimentů zůstávala po ovlhčení na WHC₇₀ na povrchu a mohla tak negativně ovlivnit klíčivost. Vzorek kalu po ovlhčení tvořil granule a prostředí pro klíčení semen tak bylo také velmi nepříznivé.



Graf 14.: Hodnoty inhibice růstu kořínků *L. sativa*.

- **Test únikového chování *E. fetida***

Nejvyšší ekotoxický účinek na únikové chování *E. fetida* vykazoval vzorek sedimentu E, NR byla stanovena na 50 %. Nejnižší ekotoxický účinek na únikové chování *E. fetida* vykazoval vzorek sedimentu D, NR byla stanovena na -40 %, tzn, vykazoval stimulaci. Stimulační účinek vykazoval také sediment C. Ve vzorku kalu nebyly nalezeny žádné žížaly, NR proto byla stanovena na 100%. Hodnoty NR vzorků na únikové chování *E. fetida* jsou uvedeny v **Grafu 15**.



Graf 15.: Hodnoty únikovosti (NR) *E. fetida*.

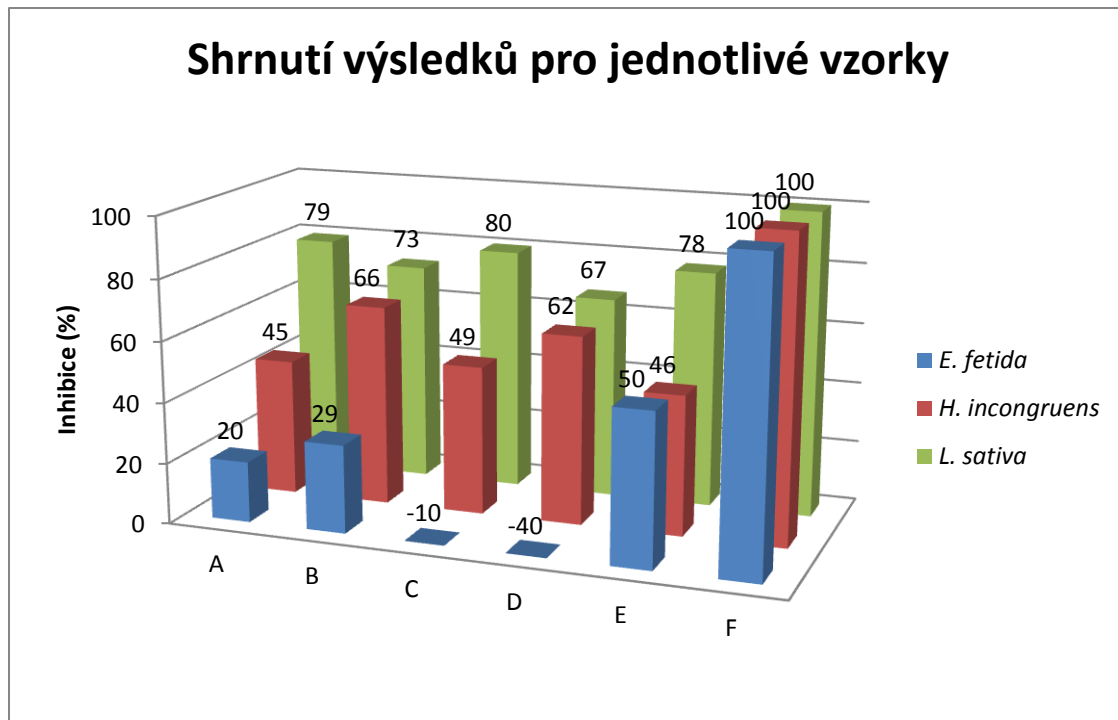
4.2.2 Souhrné srovnání výsledků jednotlivých vzorků

Vzorek kalu F se ve všech testech projevil jako nevíce toxický. Test s *E. fetida* byl k účinkům vzorků sedimentů nejméně citlivý. Ve vzorcích C a D došlo dokonce ke stimulačnímu účinku. Jako nejvíce citlivý se projevil test s *L. sativa*, který reflektoval fyzikální charakteristiky vzorků.

Vzorky F, B a D vykázaly v testu s *H. incongruens* inhibiční účinky větší než 50 % a tyto vzorky proto byly považovány za toxické. V testu s *L. sativa* vykázaly všechny vzorky významnou odlišnost od kontroly na hladině významnosti 0,5 a dle tohoto testu jsou považovány za toxické. V testu s *E. fetida* byla úniková reakce (NR) větší než 80 % pouze ve vzorku kalu F. Testované sedimenty tedy dle tohoto testu nejsou považovány za toxické.

Biotesty provedené v rámci diplomové práce nejsou zahrnuty v legislativě ČR. Vyhláška č. 57/2009 Sb. ukládá za povinnost ekotoxikologické zhodnocení sedimentů, jsou v ní ale požadovány testy na jiných organismech, než jaké byly využity v diplomové práci. I přesto se na základě výsledků kontaktních biotestů provedených v rámci DP lze domnívat, že testované sedimenty a kal mohou představovat riziko pro životní prostředí.

Shrnutí výsledků kontaktních testů pro jednotlivé vzorky je uvedeno v **Grafu 16**.



Graf 16.: Shrnutí výsledků kontaktních testů pro jednotlivé vzorky

4.3 Srovnání testů s vodným výluhem a kontaktních testů

Kontaktní testy se ukázaly jako více citlivé k ekotoxicitě testovaných vzorků. Mimo toxicitu danou chemickými charakteristikami (polutanty, pH, nutrienty atd.) reflektovaly také fyzikální vlastnosti vzorků (velikost částic, struktura materiálu, množství organické hmoty atd.) a biodostupnost toxikantů. V kontaktních testech byly méně výrazné rozdíly v toxicitě jednotlivých sedimentů, což mohlo být dáno jejich podobnou strukturou, která měla na jejich ekotoxicitu vliv.

Jako výrazně nejvíce toxický se v testech s vodným výluhem i v kontaktních testech jevil vzorek čistírenského kalu F. Jeho toxicita způsobila téměř ve všech neředěných vodných výluzích 100% negativní efekt na organismy. Inhibiční účinky kalu na organismy použité v kontaktních testech byly 100 %.

5 ZÁVĚR

V rámci teoretické části diplomové práce byla zpracována rešerše literatury zabývající se ekotoxicitou sedimentů a čistírenských kalů. Důraz byl kladen především na shrnutí výsledků studií, které se zabývaly ekotoxickým posouzením kalů a sedimentů. Poznatky z těchto studií byly následně využity k vyhodnocení výsledků biotestů, které byly součástí experimentální části diplomové práce.

V rámci diplomové práce byly z hlediska ekotoxicity zhodnoceny sedimenty, které byly odebrány z vybraných lokalit v okolí Uherského Hradiště a z Brna a také jeden vzorek čistírenského kalu, který byl odebrán v ČOV Modřice.

Výše zmíněné vzorky byly ekotoxikologicky zhodnoceny pomocí biotestů s vodným výluhem a také kontaktních biotestů. Pro biotesty s vodným výluhem byly vybrány testy s korýši *D. magna* a *T. platyurus*, které byly provedeny ve formě mikrobiotestů. Biotesty byly dále provedeny s terestrickou rostlinou *S. alba* a vodní rostlinou *L. minor*. Testy v kontaktním uspořádání byly provedeny ve formě mikrobiotestu na korýši *H. incongruens*, na rostlině *L. sativa* a kroužkovci *E. fetida*.

Sumarizací výsledků testů v kontaktním a akvatickém uspořádání na jednotlivých testovacích organismech lze za nejtoxičtější považovat vzorek čistírenského kalu F. Pokud je ale zvažováno využití materiálu na zemědělskou půdu, je ekotoxické hodnocení povinné pouze pro sedimenty a to prostřednictvím kontaktních biotestů. Ačkoliv jsou navrženy baterie biotestů také pro testování kalů, nejsou zakotveny do legislativy ČR. Toxický účinek sedimentů na různé organismy se lišil. Vzhledem k tomu, že nebyla provedena chemická analýza, není možné s určitostí říci, zda to bylo způsobeno citlivostí organismů k různým polutantům v sedimentech či spíše fyzikálními charakteristikami sedimentů, jako množství organické hmoty a velikost částic, které mohly ovlivnit biodostupnost toxikantů pro testovací organismy.

Dva vzorky byly navíc vyluhovány v destilované vodě okyselené na pH 4 – 4,5. Vzorek A vykázal po okyselení větší míru toxicity než v testech s vodným výluhem, pro jehož přípravu byla použita destilovaná voda, vzorek D způsobil větší inhibici na *T. platyurus*, zatímco účinky na *L. minor* byly dokonce stimulační.

Z výsledků biotestů je tedy patrné, že k posouzení ekotoxicity je potřebné stanovit vhodnou baterii testů, neboť jednotlivé organismy reagují na vzorky různého charakteru jinak. Dále je v hodnocení ekotoxicity nutný komplexní pohled a zhodnocení všech parametrů, které by mohly ekotoxické působení na organismy ovlivnit.

6 REFERENCE

- [1] ZÁKON č . 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů.
- [2] JENÍČEK P. a DOHÁNYOS M. Kalové hospodářství čistíren odpadních vod [online], 2012, [cit. 1. 11. 2012] Dostupné z: http://web.vscht.cz/starad/html/COV_Skripta_Kal_hosp.doc.
- [3] ČERNÝ, J. Využití odpadů z ČOV jako zdroje organických látek a živin. *Biom.cz* [online], 2010, [cit. 1. 11. 2012] roč. 12, č. 6. ISSN 1801-2655. Dostupné z: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyuziti-odpadu-z-cov-jako-zdroje-organickych-latek-a-zivin>.
- [4] DOHÁNYOS, M. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom.cz* [online], 2006, [cit. 2. 11. 2012] roč. 8, č. 5. ISSN 1801-2655. Dostupné z: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu>.
- [5] STRACHAN, S. D., D. W. NELSON and L. E. SOMMERS. Sewage Sludge Components Extractable With Nonaqueous Solvents. *Journal of Environmental Quality*, 1983, vol. 12, no. 1, pp. 69–74. ISSN 0047-2425. doi 10.2134/jeq1983.00472425001200010011x.
- [6] VANĚK, V. L. KOLÁŘ a D. PAVLÍKOVÁ. Úloha organické hmoty v půdě, 2010, [cit. 1. 11. 2012, *Biom.cz* [online], 2010, roč. 12, č. 4. ISSN 1801-2655. Dostupné z: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/uloha-organicke-hmoty-v-pude>.
- [7] ROWELL, D. M., C. E. PRESCOTT and C. M. PRESTON. Decomposition and nitrogen mineralization from biosolids and other organic materials: relationship with initial chemistry. *Journal of environmental quality*, 2001, vol. 30, no. 4, pp. 1401–1410. ISSN 0047-2425.
- [8] RŮŽEK P., H. KUSÁ a G. MÜHLBACHOVÁ. Využití různě zpracovaných kalů z ČOV v zemědělství, 1997 [online]. [cit. 17. březen 2013]. Dostupné z: http://stary.biom.cz/sborniky/sb97PrVana/sb97PrVana_ruzek.html#obr1
- [9] HARTMAN, M. a O. TRNKA. Těžké kovy v čistírenském kalu a jejich chování při spalování. *Chemické listy*, 2008, roč. 102, č. 2, s. 131–138.
- [10] SMITH, M. T. E., B. J. CADE-MENUN and M. TIBBETT. Soil phosphorus dynamics and phytoavailability from sewage sludge at different stages in a treatment stream. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, vol. 42, no. 3, pp. 186–197. ISSN 0178-2762, 1432-0789.
- [11] PEREZMURCIA, M., R. MORAL, J. MORENOCASELLES, A. PEREZESPINOSA and C. PAREDES. Use of composted sewage sludge in growth media for broccoli. *Bioresource Technology*, 2006, vol. 97, no. 1, pp. 123–130. ISSN 09608524.
- [12] BODZEK, D., B. JANOSZKA, C. DOBOSZ, L. WARZECHA and M. BODZEK. Determination of polycyclic aromatic compounds and heavy metals in sludges from biological

sewage treatment plants. *Journal of Chromatography*, 1997, vol.774, no. 1–2, pp. 177–192. ISSN 0021-9673. d

[13] Sewage Sludge - Environment - European Commission. [online]. [cit. 17. březen 2013]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/sludge_pollutants.htm

[14] KOLB, F. R. and P. A. WILDERER. Activated carbon sequencing batch biofilm reactor to treat industrial wastewater. *Water Science and Technology*, 1997, vol. 35, no. 1, pp. 169–176. ISSN 0273-1223.

[15] PARKPAIN, P., S. SREESAI and R. D. DELAUNE. Bioavailability of Heavy Metals in Sewage Sludge-Amended Thai Soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2000, vol. 122, no. 1-2, pp. 163–182. ISSN 0049-6979, 1573-2932.

[16] WONG, J. W., K. LI, M. FANG and D. C. SU. Toxicity evaluation of sewage sludges in Hong Kong. *Environment international*, 2001, vol. 27, no. 5, pp. 373–380. ISSN 0160-4120.

[17] LEPING W. and R. Govind. Sorption of toxic organic compounds on wastewater solids: mechanism and modeling. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, vol 27, no 1, pp 152-158.

[18] AOCHI, Y. O. and W. J. FARMER. Impact of soil microstructure on the molecular transport dynamics of 1,2-dichloroethane. *Geoderma*, 2005, vol. 127, no. 1–2, pp. 137–153. ISSN 0016-7061.

[19] WANG, M. and K. C. JONES. Behaviour and fate of chlorobenzenes (CBs) introduced into soil-plant systems by sewage sludge application: A review. *Chemosphere*, 1994, vol. 28, np. 7, pp. 1325–1360. ISSN 0045-6535.

[20] ZITOMER D. H. and E. SPEECE. Sequential Environments for Enhanced Biotransformation of Aqueous Contaminants. *Environmental Science and Technology*, 1993, vol. 27, no. 2, pp. 226–244.

[21] VÁCHA R., V. HORVÁTHOVÁ, M. HAVELKOVÁ a J. ČECHMÁNKOVÁ. Problém perzistentních organických polutantů v čistírenských kalech určených k přímé aplikaci na zemědělskou půdu. *Chemické listy*. 2007, roč. 101, s. 811 – 815.

[22] RADJENOVIĆ, J., M. PETROVIĆ and D. BARCELÓ. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research*, 2009, vol. 43, no. 3, pp. 831–841. ISSN 00431354.

[23] NIETO, A., F. BORRULL, E. POCURULL and R. M. MARCÉ. Occurrence of pharmaceuticals and hormones in sewage sludge. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*, 2010, vol. 29, no. 7, pp, 1484–1489. ISSN 1552-8618.

[24] TERNES, T. A., M. BONERZ, N. HERRMANN, B. TEISER and H. Rasmus ANDERSEN. Irrigation of treated wastewater in Braunschweig, Germany: An option to remove pharmaceuticals and musk fragrances. *Chemosphere*, 2007, vol. 66, no. 5, pp. 894–904. ISSN 0045-6535.

- [25] DUMONTET, S., A. SCOPA, S. KERJE and K. KROVACEK. The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge. *Journal of the Air & Waste Management Association* (1995), 2001, vol. 51, no. 6, pp. 848–860. ISSN 1096-2247.
- [26] KUKAL, Zdeněk. *Základy sedimentologie*. Praha: Academia, 1986
- [27] BENEŠOVÁ, L. a J. TONIKA. Sediment – hnojivo či odpad? *Tretiruka.cz* [online], 2010, [cit. 19. duben 2013]. Dostupné z: <http://www.tretiruka.cz/news/sediment-hnojivo-ci-odpad-/>
- [28] GERGEL J. Těžba a využití sedimentů z malých vodních nádrží. *Metodika VÚMOP*. roč. 1995, č. 18.
- [29] BORTONE G. An overview of sediment and dredged material treatment. In: *SedNet Final Conference Venice 2004* [online], 2004, [cit. 19. duben 2013]. Dostupné z: http://www.sednet.org/download/WP4_Bortone_Day1.pdf.
- [30] BOROVEC Z. Mobilita toxických prvků v říčních sedimentech. *Vesmír*. 1994, roč. 73, č. 10, s. 561–563.
- [31] ONGLEY, E. D. *Control Of Water Pollution From Agriculture*. Rome: Food & Agriculture Org., 1996, ISBN 9789251038758.
- [32] CHAPMAN, P. M. Presentation and interpretation of Sediment Quality Triad data. *Ecotoxicology*, 1996, vol. 5, no. 5, pp. 327–339. ISSN 0963-9292.
- [33] ZHOU, A., H. TANG and D. WANG. Phosphorus adsorption on natural sediments: modeling and effects of pH and sediment composition. *Water research*, 2005, vol 39, no. 7, pp. 1245–1254. ISSN 0043-1354.
- [34] KIM, Y., B. BAE and Y. CHOUNG. Optimization of biological phosphorus removal from contaminated sediments with phosphate-solubilizing microorganisms. *Journal of bioscience and bioengineering*, 2005, vol. 99, no.1, pp. 23–29. ISSN 1389-1723.
- [35] LIN, C., M. HE, Y. ZHOU, W. GUO and Z. YANG. Distribution and contamination assessment of heavy metals in sediment of the Second Songhua River, China. *Environmental monitoring and assessment*, 2008, vol. 137, no.. 1-3, pp. 329–342. ISSN 0167-6369.
- [36] KUBÍK L. Vhodnost sedimentů pro zemědělství. *Zemědělec*. 2012, č. 15, s. 18–20.
- [37] VACHA, R., J. CECHMANKOVA, J. SKALA, J. HOFMAN, P. CERMAK, M. SANKA and T. VACHOVA. Use of dredged sediments on agricultural soils from viewpoint of potentially toxic substances. *Plant, Soil and Environment - UZEI* [online], 2011, vo. 57, no. 8, pp. 388-395. [cit. 28. únor 2013]. ISSN 1214-1178. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/web/pse.htm>.
- [38] LISS, W. and W. AHLF. Evidence from whole-sediment, porewater, and elutriate testing in toxicity assessment of contaminated sediments. *Ecotoxicology and environmental safety*, 1997, vol. 36, no. 2, pp. 140–147. ISSN 0147-6513.

- [39] HAI W. and C. Wang. Persistent organic pollutants in water and surface sediments of Taihu Lake, China and risk assessment. *Chemosphere*, 2003, vol. 50, no. 4, pp. 557–62. ISSN 0045-6535.
- [40] RUBY, M. V., A. DAVIS, R. SCHOOF, S. EBERLE and C. M. SELLSTONE. Estimation of Lead and Arsenic Bioavailability Using a Physiologically Based Extraction Test. *Environmental Science & Technology*, 1996, vol. 30, no. 2, pp. 422–430. ISSN 0013-936X.
- [41] WARISARA L. and S. K. Ong. Effect of organic carbon and pH on soil sorption of sulfamethazine. *Chemosphere*, 2009, vol. 76, no. 4, pp. 558–64. ISSN 1879-1298.
- [42] SHORER M. Pollutant and organic matter content in sediment particle size fractions. *Freshwater Contamination*, 1997, vol. 243, s. 59–67.
- [43] ELDER J., J. F. CIR - 1013: Metal biogeochemistry in surface-water systems; a review of principles and concepts. *United States Geological Survey*, [online], 1988. [cit. 28. únor 2013]. Dostupné z: <http://pubs.er.usgs.gov/publication/cir1013>.
- [44] HUE, N. V. A possible mechanism for manganese phytotoxicity in Hawaii soils amended with a low-manganese sewage sludge. *Journal of environmental quality*, 1988, vol. 17, no. 3, pp 473-479.
- [45] CAUSSY, D., M. GOCHFELD, E. GURZAU, C. NEAGU and H. RUEDEL. Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability, and risk. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2003, vol. 56, no. 1, pp. 45–51. ISSN 0147-6513.
- [46] KELDERMAN, P. and A. A. OSMAN. Effect of redox potential on heavy metal binding forms in polluted canal sediments in Delft (The Netherlands). *Water research*, 2007, vol. 41, no. 18, pp. 4251–4261. ISSN 0043-1354.
- [47] HUNTING, E. R. and A. A. KAMPFRAATH. Contribution of bacteria to redox potential (E_h) measurements in sediments. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2012, vol. 10, no. 1, pp. 55–62. ISSN 1735-1472, 1735-2630.
- [48] JAKUBUS M. and J. CZEKALA. Heavy Metal Speciation in Sewage Sludge. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2001, vol. 10, no. 4, pp. 245–250.
- [49] GARCÍA-DELGADO, M., M. S. RODRÍGUEZ-CRUZ, L. F. L., M ARIENZO a M. J. SÁNCHEZ-MARTÍN. Seasonal and time variability of heavy metal content and of its chemical forms in sewage sludges from different wastewater treatment plants. *The Science of the total environment*, 2007, vol. 382, no. 1, pp. 82–92. ISSN 0048-9697.
- [50] WICKE, D. and T. REEMTSMA. Mobilization of hydrophobic contaminants from soils by enzymatic depolymerization of soil organic matter. *Chemosphere*, 2010, vol. 78, no. 8, pp. 996–1003. ISSN 1879-1298..

- [51] Ecotoxicity Testing Kits | Toxicology | Toxkit MicroBioTests | How to choose a Toxkit. *Ultimate solutions.com*, [online], [cit. 17. březen 2013]. Dostupné z: http://www.ultimatesolutions.com.my/choosing_toxkit.html
- [52.] PERSOONE, G., C. JANSSEN and W. De COEN. *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring*. Springer, 2000. ISBN 9780306464065.
- [53] Pore Water Definition Page, 2013, [online]. [cit. 17. březen 2013]. Dostupné z: http://toxics.usgs.gov/definitions/pore_water.html
- [54] Ministerstvo životního prostředí České republiky. Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. Únor 2007.
- [55] KO, K., P. K. LEE and I. C. KONG. Evaluation of the toxic effects of arsenite, chromate, cadmium, and copper using a battery of four bioassays. *Applied microbiology and biotechnology*, 2012, vol. 95, no. 5, pp 1343–1350. ISSN 1432-0614.
- [56] ASSESSMENT, US EPA National Center for Environmental. Individual and combined phytotoxic effects of cadmium, lead and arsenic on soybean in Phaeozem, 2009, [online]. [cit. 1. březen 2013]. Dostupné z: http://hero.epa.gov/index.cfm?action=reference.details&reference_id=496276
- [57] OLAJIRE, A. A, R. ALTENBURGER, E. KÜSTER and W. BRACK. Chemical and ecotoxicological assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon--contaminated sediments of the Niger Delta, Southern Nigeria. *The Science of the total environment*,, 2005, vol. 340, no. 1-3, pp. 123–136. ISSN 0048-9697
- [58] OLESZCZUK, P. Toxicity of Light Soil Fertilized by Sewage Sludge or Compost in Relation to PAHs Content. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2010, vol. 210, no. 1-4, pp. 347–356. ISSN 0049-6979, 1573-2932.
- [59] OLESZCZUK, P.. The evaluation of sewage sludge and compost toxicity to *Heterocypris incongruens* in relation to inorganic and organic contaminants content. *Environmental toxicology*, 2007, vol. 22, no. 6, pp. 587–596. ISSN 1520-4081.
- [60] KUDŁAK, B., L. WOLSKA and J. NAMIEŚNIK. Determination of EC50 toxicity data of selected heavy metals toward *Heterocypris incongruens* and their comparison to „direct-contact” and microbiotests. *Environmental monitoring and assessment*, 2011, vol. 174, no. 1-4, pp. 509–516. ISSN 1573-2959.
- [61] CHIAL, B. and G. PERSOONE. Cyst-based toxicity tests XV--application of ostracod solid-phase microbiotest for toxicity monitoring of contaminated soils. *Environmental toxicology*, 2003, vol. 18, no. 5, pp. 347–352. ISSN 1520-4081.
- [62] TOROKNE, A. and K. TORO. Evaluation of the toxicity of river and creek sediments in Hungary with two different methods. *Environmental toxicology*, 2010, vol. 25, no. 5, pp. 504–509. ISSN 1522-7278.

[63] FEILER, U., F. KREBS and P. HEININGER. Aquatic plant bioassays used in the assessment of water quality in German rivers. *Hydrobiologia*, 2006, vol. 570, no. 1, pp. 67–71. ISSN 0018-8158.

[64] RODGHER, S., E. L. G. ESPÍNDOLA and A. T. LOMBARDI. Suitability of *Daphnia similis* as an alternative organism in ecotoxicological tests: implications for metal toxicity. *Ecotoxicology*, 2010 vol. 19, no. 6, pp. 1027–1033. ISSN 1573-3017.

[65] SOTERO-SANTOS, R. B., O. ROCHA and J. POVINELLI. Evaluation of water treatment sludges toxicity using the *Daphnia* bioassay. *Water research*, 2005, vol. 39, no. 16, pp. 3909–3917. ISSN 0043-1354.

[66] FUENTES, A., M. LLORENS, J. SÁEZ, M. I. AGUILAR, A. B. PÉREZ-MARÍN, J. F. ORTUÑO and V. F. MESEGUER. Ecotoxicity, phytotoxicity and extractability of heavy metals from different stabilised sewage sludges. *Environmental Pollution*, 2006, vol. 143, no. 2, pp. 355–360. ISSN 0269-7491.

[67] LIBRALATO, G., C. LOSSO, A. ARIZZI NOVELLI, M. CITRON, S. DELLA SALA, E. ZANOTTO, F. CEPAK and A. VOLPI GHIRARDINI. Ecotoxicological evaluation of industrial port of Venice (Italy) sediment samples after a decontamination treatment. *Environmental Pollution*, 2008, vol. 156, no. 3, pp. 644–650. ISSN 0269-7491.

[68] BRUNETTI, G. Greenhouse and field studies on Cr, Cu, Pb and Zn phytoextraction by *Brassica napus* from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. *Geoderma*, 2011, roč. 160, č. 3-4, s. 517–523. ISSN 00167061.

[69] ZHANG, R., J. CUI, H. M. ZHU and H. YANG. Effect of dissolved organic matters on napropamide availability and ecotoxicity in rapeseed (*Brassica napus*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 2010, vol. 58, no. 5, pp. 3232–3240. ISSN 1520-5118.

[70] DA LUZ, T. N., R. RIBEIRO and J. P. SOUSA. Avoidance tests with *Collembola* and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*, 2004, vol. 23, no. 9, pp. 2188–2193. ISSN 0730-7268.

[71] AMORIM, M. J. B., S. NOVAIS, J. RÖMBKE and A. M. SOARES. *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae): A test organism in a standardised avoidance test? Effects of different chemical substances. *Environment International*, 2008, vol. 34, no. 3, pp. 363–371. ISSN 0160-4120.

[72] Česká republika. Ministerstvo životního prostředí. Vyhláška č. 376/2001 Sb. o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů. In *Sbírka zákonů, Česká republika*. 2001.

[73] Česká republika. Ministerstvo životního prostředí. Vyhláška č. 257/2009 Sb. o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů. In *Sbírka zákonů, Česká republika*. 2009.

- [74] Česká republika. Ministerstvo životního prostředí. Zákon č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu, ve znění pozdějších předpisů, In *Sbírka zákonů, Česká republika*. 1992.
- [75] JONÁŠOVÁ A. Aktuální legislativa v oblasti odpadového hospodářství (současná a budoucí). In: *Analytika odpadů II 2012*. Žďár nad Sázavou, 27.-28. listopadu, 2012 .
- [76] MANHART J. R. Aktuální stav a dlouhodobá koncepce MŽP – nakládání s bioodpady v ČR. In: *Biologicky rozložitelné odpady*. Náměšť nad Oslavou, 19-21. listopadu, 2012 .
- [77] ŠTASTNÁ J. V legislativě odpadového hospodářství se chystají změny. *EnviWeb.cz* [online], 2012. [cit. 15. březen 2013]. Dostupné z: <http://www.enviweb.cz/clanek/paragraf/93291/v-legislative-odpadoveho-hospodarstvi-se-chystaji-zmeny>
- [78] MATĚJŮ V. D. VOSÁHLOVÁ, R. KYCLT a G. ŠEDIVCOVÁ. Využití stanovení ekotoxicity při hodnocení kvality odpadů. In: *Analytika odpadů II*. Žďár nad Sázavou, 19-21. listopadu, 2012.
- [79] M. ZÁLESKA a D. SIROTKOVÁ. HODNOCENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ: PŘIPRAVOVANÉ ZMĚNY. In: *Odpadová fórum*. Kouty nad Desnou, 13.-15. dubna, 2011.
- [80] MOSER H. and Jörg RÖMBKE, ed. Ecotoxicological Characterization of Waste: Results and Experiences of an International Ring Test. 1st ed. *Springer*, 2009. ISBN 0387889582.
- [81] Rada evropských společenství. SMĚRNICE RADY (86/278/EHS) o ochraně životního prostředí a zejména půdy při používání kalů z čistíren odpadních vod v zemědělství. In: *Úřední věstník L 181, 1986*.
- [82] SedNet | European Sediment Network. [online]. [cit. 17. březen 2013]. Dostupné z: <http://www.sednet.org/>
- [83] KELESSIDIS, A. and A. S. STASINAKIS. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste management*, 2012, vol. 32, no. 6, pp. 1186–1195. ISSN 1879-2456
- [84] Netherlands Soil Partnership - Dutch history on soil. [online]. [cit. 25. duben 2013]. Dostupné z: <http://www.nsp-soil.com/pagina.asp?id=850>
- [85] Dutch-German Exchange (DGE) on Dredged Material - Part 1 - Dredged Material and Legislation 2003, [online]. [cit. 17. březen 2013]. Dostupné z: <http://www.eugris.info/displayresource.aspx?r=5549>
- [86] MANZ, W., M. KREBS, C. A. SCHIPPER a P. J. DEN BESTEN. Status of ecotoxicological assessment of sediment and dredged material in Germany and The Netherlands. *Sednet.org* [online], 2007 [cit. 2013-02-01]. Dostupné z: <http://www.sednet.org/download/DGE-Report-5-Ecotoxicology.pdf> .

- [87] CENIA, česká informační agentura životního prostředí. SEKM – Systém evidence kontaminovaných míst [online]. [cit. 2010-3-11]. Dostupné z [www: http://sekm.cenia.cz/portal/](http://sekm.cenia.cz/portal/).
- [88] Okolo Brněnské přehrady - CYKLO Jižní Morava. [online]. [cit. 27. duben 2013]. Dostupné z: <http://www.cyklo-jizni-morava.cz/okolo-brnenske-prehrady>
- [89] Handbook of ecotoxicology. 2nd ed. *Boca Raton: Lewis Publishers, 2003*. ISBN 1566705460.
- [90] Vzorkování v san.geol.pdf. *mzp.cz*, [online]. [cit. 3. duben 2013]. Dostupné z: [http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/metodiky_ekologicke_zateze/\\$FILE/Vzorkov%C3%A1n%C3%AD%20v%20san.geol.pdf](http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/metodiky_ekologicke_zateze/$FILE/Vzorkov%C3%A1n%C3%AD%20v%20san.geol.pdf)
- [91] Metodické pokyny: Metodický pokyn k hodnocení vyluhovatelnosti odpadů. In: Věstník ministerstva životního prostředí. Praha: ALQ Plus, s.r.o, 2002, s. 12 - 27. ISBN 0862-9013.
- [92] MICROBIOTESTS INC. DAPHTOXKIT FTM: Microbiotests. Belgium, 2 p. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/toxkits/daphtoxkitf.pdf>.
- [93] MICROBIOTESTS INC. THAMNOTOXKIT FTM: FRESHWATER TOXICITY SCREENING TEST. Bench Protocol. Belgium, 25 p.
- [94] SVOBODOVÁ, Z. a kol. Ekotoxikologie. Praktická cvičení. Část I. 1. vyd. Brno: Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, 2000. 72 s. ISBN 80-85114-95-X.
- [95] Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů. Věstník MŽP, ročník. XVII, částka 4, duben 2007.
- [96] ČSN EN ISO 20079 (757745). Jakost vod - Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) - Zkouška inhibice růstu okřehek. Český normalizační institut, 2007.
- [97] MICROBIOTESTS INC. Ostracodtoxkit F: "Direct contact" Toxicity Test for Freshwater Sediments . Bench Protocol. Belgium, 37 p.
- [98] Search NMNH Collections. [online]. [cit. 27. duben 2013]. Dostupné z: <http://collections.mnh.si.edu/search/iz/?irn=127783>
- [99] ISO 17126:2005. Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Screening test for emergence of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.).
- [100] ISO 17512-1:2008. Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour – Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*).
- [101] Obecná pravidla testů toxicity. [online]. [cit. 2. květen 2013]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/dokumenty/Obecna.htm>

[102] Dunnett Table Number of Groups Including Control Group. [online]. [cit. 2. květen 2013]. Dostupné z: http://davidmlane.com/hyperstat/table_Dunnett.html

7 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Výsledky předběžných testů s *D. magna* a *T. platyurus*

Příloha 2: Tabulka probitových hodnot

Příloha 3: Dunettova tabulka

Příloha 4 Výběr norem, které upravují způsob ekotoxikologického posouzení odpadů

PŘÍLOHA 1: VÝSLEDKY PŘEDBĚŽNÝCH TESTŮ S *D. MAGNA* A *T. PLATYURUS*

Tab. 1.: Výsledky předběžného testu s *D. magna* po 48 hodinové inkubaci. Hodnoty imobility v neředěném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Prům. mortalita	Imobilita (%)
A	65	0	0
	125	0	0
	250	0,75	15,00
	500	1,50	30
	1000	1,50	30
B	65	0	0
	125	0,50	10
	250	0,75	15
	500	1,25	25
	1000	1,25	25
C	65	0	0
	125	0	0
	250	4,33	13,32
	500	4,67	6,60
	1000	4,33	13,32
D	65	0,67	13,32
	125	1	20
	250	1	20
	500	1,33	26,60
	1000	1,67	33,40
E	65	0	0
	125	0	0
	250	0,67	13,32
	500	0,67	13,32
	1000	1	20
F	65	0,50	10
	125	3	60
	250	5	100
	500	5	100
	1000	5	100

Tab. 2.: Výsledky předběžného testu s *D. magna* po 24 hodinové inkubaci ve vzorku kalu. Hodnoty inhibice v neředěném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l-1)	Prům. mortalita	Inhibice (%)
F	65	0	0
	125	1	20
	250	5	100
	500	5	100
	1000	5	100

Tab.3: Výsledky předběžného testu s *T. platyurus*. Hodnoty mortality v neředěném vodném výluhu větší než 30 % jsou zvýrazněny.

Varianta	Koncentrace (ml.l ⁻¹)	Mortalita (%)
A	62,5	3,33
	125	6,66
	250	10
	500	30
	1000	30
B	62,5	3,33
	125	13,33
	250	16,66
	500	23,33
	1000	23,33
C	62,5	0
	125	3,33
	250	6,66
	500	10
	1000	23,33
D	62,5	0
	125	10
	250	20
	500	30
	1000	33,33
E	62,5	0
	125	3,33
	250	3,33
	500	10
	1000	13,33
F	62,5	100
	125	100
	250	100
	500	100
	1000	100

Tab. 4.: Výsledky testů v neředěném vodném výluhu vzorků.

	<i>D. magna</i>	<i>T. platyurus</i>	<i>S. alba</i>	<i>L. minor</i>	
Varianta	Imobilita (%)	Mortalita (%)	Inhibice růstu kořene (%)	Redukce biomasy (%)	Inhibice růstové rychlosti (%)
A	30	30	37,7	7,38	8,45
B	25	23,33	9,28	38,73	26,72
C	13,32	23,33	34,68	45,77	34,99
D	33,4	33,33	21,36	28,17	24,21
E	20	13,33	26,06	31,69	23,4
F	100	100	91,05	97,18	100

PŘÍLOHA 2: TABULKA PROBITOVÝCH HODNOT

Tab. 5: Převedení úmrtnostních dat v procentech na probity [101].

%	probit	%	probit	%	probit	%	probit	%	probit	%	probit
0,2	2,122	10,0	3,718	30,0	4,476	50,0	5,000	70,0	5,524	90,0	6,282
0,4	2,348	11,0	3,773	31,0	4,504	51,0	5,025	71,0	5,553	91,0	6,341
0,6	2,488	12,0	3,825	32,0	4,532	52,0	5,050	72,0	5,583	92,0	6,405
0,8	2,591	13,0	3,874	33,0	4,560	53,0	5,075	73,0	5,613	93,0	6,476
1,0	2,574	14,0	3,920	34,0	4,588	54,0	5,100	74,0	5,643	94,0	6,555
1,2	2,743	15,0	3,964	35,0	4,615	55,0	5,126	75,0	5,674	95,0	6,645
1,4	2,803	16,0	4,006	36,0	4,642	56,0	5,151	76,0	5,706	95,5	6,695
1,6	2,856	17,0	4,046	37,0	4,668	57,0	5,176	77,0	5,739	96,0	6,751
1,8	2,903	18,0	4,085	38,0	4,695	58,0	5,202	78,0	5,772	96,5	6,812
2,0	2,946	19,0	4,122	39,0	4,722	59,0	5,228	79,0	5,806	97,0	6,881
2,5	3,040	20,0	4,158	40,0	4,747	60,0	5,253	80,0	5,842	97,5	6,966
3,0	3,123	21,0	4,194	41,0	4,772	61,0	5,278	81,0	5,878	98,0	7,054
3,5	3,188	22,0	4,228	42,0	4,798	62,0	5,305	82,0	5,915	98,2	7,096
4,0	3,249	23,0	4,261	43,0	4,824	63,0	5,332	83,0	5,954	98,4	7,144
4,5	3,305	24,0	4,294	44,0	4,849	64,0	5,358	84,0	5,994	98,6	7,197
5,0	3,355	25,0	4,326	45,0	4,874	65,0	5,385	85,0	6,036	98,8	7,257
6,0	3,445	26,0	4,357	46,0	4,900	66,0	5,412	86,0	6,080	99,0	7,326
7,0	3,524	27,0	4,387	47,0	4,925	67,0	5,440	87,0	6,126	99,2	7,409
8,0	3,595	28,0	4,417	48,0	4,950	68,0	5,468	88,0	6,175	99,4	7,512
9,0	3,659	29,0	4,447	49,0	4,975	69,0	5,496	89,0	6,227	99,6	7,652
										99,8	7,878

PŘÍLOHA 3: DUNNETOVA TABULKA

Tab. 5: Dunnetova tabulka. Vysvětlivky: dfe- počet stupňů volnosti, α - počet stanovení, 0,05; 0,01 hladina významnosti [102].

dfe	α	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	0.05	2.57	3.03	3.29	3.48	3.62	3.73	3.82	3.9	3.97
	0.01	4.03	4.63	4.98	5.22	5.41	5.56	5.69	5.8	5.89
6	0.05	2.45	2.86	3.1	3.26	3.39	3.49	3.57	3.64	3.71
	0.01	3.71	4.21	4.51	4.71	4.87	5	5.1	5.2	5.28
7	0.05	2.36	2.75	2.97	3.12	3.24	3.33	3.41	3.47	3.53
	0.01	3.5	3.95	4.21	4.39	4.53	4.64	4.74	4.82	4.89
8	0.05	2.31	2.67	2.88	3.02	3.13	3.22	3.29	3.35	3.41
	0.01	3.36	3.77	4	4.17	4.29	4.4	4.48	4.56	4.62
9	0.05	2.26	2.61	2.81	2.95	3.05	3.14	3.2	3.26	3.32
	0.01	3.25	3.63	3.85	4.01	4.12	4.22	4.3	4.37	4.43
10	0.05	2.23	2.57	2.76	2.89	2.99	3.07	3.14	3.19	3.24
	0.01	3.17	3.53	3.74	3.88	3.99	4.08	4.16	4.22	4.28
11	0.05	2.2	2.53	2.72	2.84	2.94	3.02	3.08	3.14	3.19
	0.01	3.11	3.45	3.65	3.79	3.89	3.98	4.05	4.11	4.16
12	0.05	2.18	2.5	2.68	2.81	2.9	2.98	3.04	3.09	3.14
	0.01	3.05	3.39	3.58	3.71	3.81	3.89	3.96	4.02	4.07
13	0.05	2.16	2.48	2.65	2.78	2.87	2.94	3	3.06	3.1
	0.01	3.01	3.33	3.52	3.65	3.74	3.82	3.89	3.94	3.99
14	0.05	2.14	2.46	2.63	2.75	2.84	2.91	2.97	3.02	3.07
	0.01	2.98	3.29	3.47	3.59	3.69	3.76	3.83	3.88	3.93
15	0.05	2.13	2.44	2.61	2.73	2.82	2.89	2.95	3	3.04
	0.01	2.95	3.25	3.43	3.55	3.64	3.71	3.78	3.83	3.88
16	0.05	2.12	2.42	2.59	2.71	2.8	2.87	2.92	2.97	3.02
	0.01	2.92	3.22	3.39	3.51	3.6	3.67	3.73	3.78	3.83
17	0.05	2.11	2.41	2.58	2.69	2.78	2.85	2.9	2.95	3
	0.01	2.9	3.19	3.36	3.47	3.56	3.63	3.69	3.74	3.79
18	0.05	2.1	2.4	2.56	2.68	2.76	2.83	2.89	2.94	2.98
	0.01	2.88	3.17	3.33	3.44	3.53	3.6	3.66	3.71	3.75
19	0.05	2.09	2.39	2.55	2.66	2.75	2.81	2.87	2.92	2.96
	0.01	2.86	3.15	3.31	3.42	3.5	3.57	3.63	3.68	3.72
20	0.05	2.09	2.38	2.54	2.65	2.73	2.8	2.86	2.9	2.95
	0.01	2.85	3.13	3.29	3.4	3.48	3.55	3.6	3.65	3.69
24	0.05	2.06	2.35	2.51	2.61	2.7	2.76	2.81	2.86	2.9
	0.01	2.8	3.07	3.22	3.32	3.4	3.47	3.52	3.57	3.61
30	0.05	2.04	2.32	2.47	2.58	2.66	2.72	2.77	2.82	2.86
	0.01	2.75	3.01	3.15	3.25	3.33	3.39	3.44	3.49	3.52
40	0.05	2.02	2.29	2.44	2.54	2.62	2.68	2.73	2.77	2.81
	0.01	2.7	2.95	3.09	3.19	3.26	3.32	3.37	3.41	3.44
60	0.05	2	2.27	2.41	2.51	2.58	2.64	2.69	2.73	2.77
	0.01	2.66	2.9	3.03	3.12	3.19	3.25	3.29	3.33	3.37

PŘÍLOHA 4.: VÝBĚR NOREM, KTERÉ UPRAVUJÍ ZPŮSOB EKOTOXIKOLOGICKÉHO POSOUZENÍ ODPADŮ

Různé ČSN normy upravují odběr a laboratorní zpracování vzorků odpadů pro ekotoxikologické stanovení. Mezi tyto normy patří:

- ČSN EN 14735 (838004) Charakterizace odpadů - Příprava vzorků odpadu pro testy ekotoxicity
- ČSN EN 14899 Charakterizace odpadů - Vzorkování odpadů - Zásady přípravy programu vzorkování a jeho použití
- ČSN EN 12457-4 (838005) Charakterizace odpadů - Vyluhování - Ověřovací zkouška vyluhovatelnosti zrnitých odpadů a kalů - Část 4: Jednostupňová vsádková zkouška při poměru kapalné a pevné fáze 10 l/kg pro materiály se zrnitostí menší než 10 mm (bez zmenšení velikosti částic, nebo s ním)
- ČSN EN 15002 (83 8003) Charakterizace odpadů - Příprava zkušebních podílů z laboratorního vzorku
 - ČSN EN 12920+A1 (838011) Charakterizace odpadů - Metodický postup pro stanovení vyluhovatelnosti odpadů za definovaných podmínek

Další normy poskytují návody na ekotoxikologické testování, jako například dříve zmíněné normy:

- ČSN ISO 14380 Kvalita vod – Stanovení akutní toxicity pro *Thamnocephalus platyurus* (Crustacea, Anostraca).
- ČSN EN ISO 6341 Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Zkouška akutní toxicity
 - ČSN EN ISO 20079 - Jakost vod - Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) - Zkouška inhibice růstu okřešku
 - 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 ISO 6341 Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Zkouška akutní toxicity
 - ČSN EN 28 692 Jakost vod - Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas *Scenedesmus subspicatus* a *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692:1989)

- Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapsis alba*). Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ke stanovení ekotoxicity odpadů

8 SEZNAM ZKRATEK

BTEX	Skupina zahrnující benzen, toluen, ethylbenzen a xyleny
C10-C40	Alifatické uhlovodíky obsahující ve svém řetězci 10-40 uhlíků
CEC	Kationtová výměnná kapacita
ČOV	Čistírna odpadních vod
DOM	Rozpuštěná organická hmota
DR	Podíl sušiny ve vzorku (%)
EC50	Efektivní koncentrace, která vyvolá 50% úhyn, či imobilizaci testovaného organismu
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
GC – MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
Hc	Henryho konstanta
IC50	Inhibiční koncentrace, tj. koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu ve srovnání s kontrolou
Kow	Rozdělovací koeficient n – oktanol/voda
LC50	Letální koncentrace pro 50% testovaných organismů
LOAEL	Nejnižší koncentrace nebo dávka, u které je pozorován škodlivý účinek na testovaném organismu
NOAEL	Nejvyšší koncentrace nebo dávka, u které není pozorován škodlivý účinek na testovaném organismu
NR	Čistá odpověď
OM	Organická hmota
PAHs	Polycyklické aromatické uhlovodíky
PCBs	Polychlorované bifenyly
PCDDs	Polychlorované dibenzo-p-dioxiny
PCDFs	Polychlorované dibenzofurany
POPs	Persistentní organické polutanty
SedNet	Europien Sediment Network
SOP	Standardní operační postup