

**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**  
**FAKULTA CHEMICKÁ**

**DISERTAČNÍ PRÁCE**  
**EKOTOXIKOLOGICKÉ POSOUZENÍ BODOVÝCH ZDROJŮ**  
**ZNEČIŠTĚNÍ V EKOSYSTÉMU**

**Brno 2018**

**Ing. Šárka Doležalová**

## ABSTRAKT

Předmětem dizertační práce je posouzení ekotoxikologického účinku významných bodových zdrojů znečištění, mezi které patří například rozsáhlé přírodní požáry, požáry průmyslových areálů a průmyslové a komunální čistírny odpadních vod. Mezi posuzované bodové zdroje eventuálního znečištění byla v práci zařazena i případná aplikace produktu z pyrolyzního spalování přebytečného kalu, tzv. biocharu na zemědělské půdy.

Pro posouzení ekotoxocity vybraných matric byly zvoleny akvatické i kontaktní ekotoxikologické testy využívající vodní i půdní organismy. Z vodních živočichů byli vybráni korýši *Thamnocephalus platyurus*, hrotnatky *Daphnia magna* Straus a mořské bakterie *Vibrio fischeri*. Z rostlin byl zvolen okřehek menší *Lemna minor*. Jako zástupci půdních živočichů byli vybráni chvostokoci *Folsomia candida* a žížaly *Eisenia fetida*. Terestrické rostlinné organismy jsou reprezentovány cibulí *Allium cepa* L. a hořčicí bílou *Sinapis alba*.

Předložená práce pojednává o sledovaných analytech, jejich vlastnostech a způsobu jejich distribuce do přírodních ekosystémů. Výstupem práce je komplexní posouzení vlivů vybraných bodových zdrojů znečištění na organismy akvatických a terestrických ekosystémů a zhodnocení ekotoxikologických rizik. Jako nejvíce zátěžové se u všech organismů projevíly pěnové hasební prostředky.

## ABSTRACT

The main subject of this dissertation is the ecotoxicological evaluation of significant point sources of pollution. These include wildfires and wide fires of factories and also industrial and urban wastewater treatment plants. The local application of pyrolytic product obtained from sewage sludge as the point source of pollution was also included in the thesis.

Tests in aquatic and contact arrangement with using both water and soil organisms for ecotoxicity evaluation of selected matrices were chosen. Crustaceans *Thamnocephalus platyurus*, *Daphnia magna* Straus and sea bacteria *Vibrio fischeri* were selected as representative organisms of water animals. Duckweed *Lemna minor* was chosen as water plant. Further collembola *Folsomia candida* and earthworm *Eisenia fetida* were chosen as representatives of soil animals. Finally onion *Allium cepa* L. and mustard *Sinapis alba* are representatives of terrestrial plants.

Submitted thesis deals about analytes of interest, their properties and ways of distribution to the environments. The output of the thesis is a comprehensive assessment of the effects of selected point sources of pollution on aquatic and terrestrial ecosystems organisms and ecotoxicological risks assessment. The fire extinguishing agents have been proven to be the most stressful substances for all selected organisms.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Bodové zdroje znečištění, hasební prostředky, čistírny odpadních vod, biochar, ekotoxicitá.

## KEYWORDS

Pollution point sources, fire extinguishing agents, wastewater treatment plants, biochar, ecotoxicity.

DOLEŽALOVÁ, Š. *Ekotoxikologické posouzení bodových zdrojů znečištění v ekosystému*. Brno, 2018. 161 s. Disertační práce byla zpracována v rámci prezenčního studia na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí disertační práce byla prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

### Poděkování

*Děkuji své rodině a přátelům za nekonečnou podporu a pomoc, za dodávání motivace a optimismu vždy, když bylo třeba. Děkuji své dcerce za to, že je a omlouvám se za to, že jsem jí v době dokončování disertační práce nevěnovala tolik pozornosti, kolik si zaslouží. Kamarádům Ing. Tereze Švestkové, Ing. Janě Oborné, Ing. Kláře Kořínkové a Petrovi Krejčímu děkuji za všechno – oni budou vědět. Doc. MVDr. Heleně Zlámalové Gargošové, Ph.D. děkuji za obětavost a přátelské rady a paní profesorce RNDr. Miladě Vávrové, CSc. děkuji za ochotný a vstřícný přístup, za podporu a trpělivost.*

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
2.1	SKUPINY VYBRANÝCH BODOVÝCH ZDROJŮ ZNEČIŠTĚNÍ .....	10
2.1.1	<i>Retardátory hoření</i> .....	10
2.1.2	<i>Perfluorované sloučeniny</i> .....	11
2.1.3	<i>Pěnové hasební prostředky</i> .....	12
2.1.4	<i>Průmyslové čistírny odpadních vod</i> .....	12
2.1.5	<i>Komunální ČOV</i> .....	14
2.1.6	<i>Upravená biomasa a odpadní produkty z čištění odpadních vod</i> .....	15
2.2	EKOTOXIKOLOGICKÉ ÚDAJE VYBRANÝCH ANALYTŮ .....	18
2.2.1	<i>Hasební prostředky</i> .....	18
2.2.2	<i>Průmyslové odpadní vody</i> .....	21
2.2.3	<i>Komunální odpadní vody</i> .....	24
2.2.4	<i>Biochar z biodegradabilních organických materiálů</i> .....	25
2.3	VYBRANÉ METODY PRO SLEDOVÁNÍ EKOTOXICITY .....	23
2.3.1	<i>Ekotoxikologické testy</i> .....	30
2.3.2	<i>Testy v akvatickém uspořádání</i> .....	30
2.3.3	<i>Testy v kontaktním uspořádání</i> .....	30
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>31</b>
3.1	PŘÍPRAVA A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ .....	31
3.1.1	<i>Hasební prostředky</i> .....	31
3.1.2	<i>Vybrané ČOV</i> .....	33
3.1.3	<i>Vybrané typy biocharu</i> .....	36
3.2	EKOTOXIKOLOGICKÉ HODNOCENÍ VYBRANÝCH BODOVÝCH ZDROJŮ ZNEČIŠTĚNÍ .....	31
3.2.1	<i>Testy v akvatickém uspořádání</i> .....	38
3.2.2	<i>Testy v kontaktním uspořádání</i> .....	50
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY</b> .....	<b>56</b>
4.1	VÝSLEDKY REFERENČNÍCH TESTŮ SE STANDARDNÍ LÁTKOU .....	56
4.1.1	<i>Test inhibice růstu kořene hořčice bílé S. alba</i> .....	56
4.1.2	<i>Test inhibice růstu okřehku menšího L. minor</i> .....	57
4.1.3	<i>Thamnotoxkit F<sup>TM</sup></i> .....	58
4.1.4	<i>Daphtoxkit F<sup>TM</sup> magna</i> .....	58
4.1.5	<i>Bakteriální bioluminiscenční test toxicity</i> .....	61
4.2	VÝSLEDKY TESTOVÁNÍ BODOVÝCH ZDROJŮ ZNEČIŠTĚNÍ .....	61
4.2.1	<i>Pěnové hasební prostředky</i> .....	62
4.2.2	<i>Čistírny odpadních vod</i> .....	76
4.2.3	<i>Biochar</i> .....	85
<b>5</b>	<b>DISKUZE</b> .....	<b>93</b>
5.1	PĚNOVÉ HASEBNÍ PROSTŘEDKY .....	93
5.1.1	<i>Test inhibice růstu kořene hořčice bílé S. alba</i> .....	93
5.1.2	<i>Test inhibice prodloužení kořenů cibulových sazeček A. cepa L.</i> .....	94
5.1.3	<i>Thamnotoxkit F<sup>TM</sup></i> .....	96

5.1.4	<i>Daphtoxkit FTM</i> .....	97
5.1.5	<i>Test reprodukce žížal (E. fetida/E. andrei)</i> .....	99
5.1.6	<i>Bakteriální bioluminiscenční test toxicity</i> .....	100
5.1.7	<i>Shrnutí</i> .....	102
5.2	<b>ODPADNÍ VODY</b> .....	103
5.2.1	<i>Test inhibice růstu kořene hořčice bílé S. alba</i> .....	104
5.2.2	<i>Test inhibice růstu okřehku menšího L. minor</i> .....	105
5.2.3	<i>Daphtoxkit FTM</i> .....	108
5.2.4	<i>Bakteriální bioluminiscenční test toxicity</i> .....	109
5.2.5	<i>Shrnutí</i> .....	111
5.3	<b>BIOCHAR</b> .....	112
5.3.1	<i>Test inhibice růstu kořene hořčice bílé S. alba</i> .....	112
5.3.2	<i>Test inhibice růstu okřehku menšího L. minor</i> .....	114
5.3.3	<i>Daphtoxkit FTM</i> .....	118
5.3.4	<i>Bakteriální bioluminiscenční test toxicity</i> .....	120
5.3.5	<i>Test únikového chování žížal</i> .....	122
5.3.6	<i>Test únikového chování chvostoskoků</i> .....	123
5.3.7	<i>Shrnutí</i> .....	124
5.4	<b>CELKOVÉ SROVNÁNÍ VYBRANÝCH BODOVÝCH ZDROJŮ ZNEČISTĚNÍ</b> .....	127
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>130</b>
<b>7</b>	<b>REFERENCE</b> .....	<b>133</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK</b> .....	<b>140</b>
<b>9</b>	<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>141</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....	<b>145</b>

# 1 ÚVOD

Monitorizační studie a posuzování vlivu polutantů na složky životního prostředí se v posledních letech věnují zejména bodovým zdrojům znečištění. Těchto zdrojů lze v přírodním ekosystému nalézt nepřeberné množství. Předložená práce je zaměřena na dva velmi rozšířené bodové zdroje znečištění, a to na čistírny odpadních vod (dále jen ČOV) a požáry, které mohou být v životním prostředí potenciálním zdrojem halogenovaných persistentních látek, kterými jsou např. perfluorované sloučeniny nebo bromované retardátory hoření.

Většina perfluorovaných sloučenin a bromovaných retardátorů hoření patří mezi endokrinní disruptory, tj. látky narušující hormonální systém organismu. Rovněž jsou považovány za potenciální neurotoxiny a karcinogeny. Všechny tyto látky jsou bioakumulativní. V životním prostředí mají tendenci k přechodu do jeho jednotlivých složek, a to do půdy, sedimentů a odpadních kalů, kde se ochotně vážou na látky organického charakteru. Bromované retardátory jsou převážně kumulovány v tukové tkáni organismů, zatímco perfluorované uhlovodíky, na rozdíl od ostatních halogenovaných sloučenin, nikoliv. Ty se naopak vážou na proteinovou složku tkáně a kumulují se v ledvinách, játrech a močovém měchýři (Eljarrat et al., 2011).

Vzhledem ke všem výše zmíněným vlastnostem je používání těchto sloučenin omnoha v mnoha případech dokonce i zakázáno evropskou legislativou. Na seznam zakázaných látek v rámci Stockholmské úmluvy byl z perfluorovaných sloučenin zařazen například PFOS (perfluoroktansulfonan) (EK, 2015).

Bromované retardátory hoření se dostávají do životního prostředí z průmyslových odpadních vod, do kterých se distribuují během výroby a zpracování, dále ze skládek, při likvidaci odpadů nebo při jejich recyklaci a konečně i při samotných požárech. Je třeba podotknout, že výše specifikované sloučeniny jsou čistě syntetické a ve volné přírodě se přirozeně nevyskytují. Jejich zdrojem je proto jen a jen lidská činnost (Parsons et al., 2008).

Detekovatelná množství reziduí těchto sloučenin jsou monitorována ve všech složkách životního prostředí, tj. v ovzduší, vodě, půdě i biotě. Přímý vliv vybraných látek na životní prostředí je proto často posuzován z ekotoxikologického hlediska pomocí reprezentativních akvatických a půdních organismů. Přínosné je nejen retrospektivní posuzování ekotoxicity, tj. hodnocení již uvolněného znečištění, ale také prospektivní posouzení, při kterém jsou hodnoceny negativní vlivy nově vyvíjených látek na přírodní ekosystémy, a to ještě před jejich distribucí.

Obecně se mohou halogenované uhlovodíky dostávat do průmyslových i komunálních odpadních vod jako produkty antropogenní činnosti, a to buď přímo z průmyslové výroby, nebo prostřednictvím splachů z uhašených požářišť vlivem dešťů. Odpadní, případně dešťové nebo balastní vody, jsou následně stokovou sítí sváděny na čistírny odpadních vod. Tyto čistírny však mohou být zdrojem i jiných polutantů, které rovněž představují potenciální hrozbu pro životní prostředí (Eljarrat et al., 2011).

Na běžných komunálních (biologických) ČOV by se měly vyskytovat pouze vody splaškové z příslušných měst a obcí, nikoliv průmyslové odpadní vody. V dnešní době už je běžné, že průmyslové podniky investují do vlastních ČOV, na kterých jsou odpadní vody chemicky předčištěny tak, aby bylo možné je v souladu s limity Kanalizačního řádu vypouštět do kanalizační sítě daného města, ve kterém podnik působí. Předčištěné odpadní vody jsou následně dočištěny na městské biologické ČOV, přičemž vyčištěná voda je vypouštěna do

blízké vodoteče na základě vodoprávního povolení. Pokud není v lokalitě městská kanalizace, musí být podnik vybaven i vlastní biologickou ČOV pro finální dočištění odpadních vod, aby bylo možné je vypouštět do recipientu.

Čistíren odpadních vod (komunálních nebo podnikových) je mnoho typů a na všech se čistí různé druhy vod. Z toho je zřejmé, že ve vyčištěné vodě je možný výskyt rozličných polutantů, přičemž se jedná především o polutanty persistentní. Některé z těchto látek je možné odstranit pouze chemickou cestou. Ty z nich, které se dostanou na biologickou ČOV, projdou linkou bez výrazné změny koncentrace, přestože se předpokládá, že ČOV bude eliminovat pokud možno co největší podíl znečištění v tunách za rok. Účinnost ČOV samozřejmě závisí na složení vstupních odpadních vod. Velký vliv má především i její samotný provoz. Špatně provozovaná ČOV nepracuje zcela optimálně a představuje tak rizikový bodový zdroj znečištění.

Samotný odtok z ČOV nemusí být jediným bodovým zdrojem znečištění, který má svůj původ v procesech čištění odpadních vod. Při těchto procesech dochází ke vzniku polotekutého odpadu ve formě kalu. Bezodpadová technologie čištění zatím neexistuje.

Podmínky pro nakládání s přebytečným kalem se rok od roku zpřísňují a řešení „kam s ním“ je tak stále komplikovanější. Z tohoto důvodu je nutné hledat další způsoby jeho zpracování a možného využití. V posledních letech vědci celého světa ověřují možnosti zpracování vysušeného kalu termochemickým spalováním, tzv. pyrolýzou. Je posuzována kvalita výstupního materiálu, který poskytují různé pyrolýzní jednotky pracující při různých teplotách, i jeho vlastnosti a chování v půdních matricích. Zmíněný výstupní produkt je biouhel, tzv. biochar. Jedná se o stabilní sloučeninu bohatou na uhlík, která vzniká při spalování biologického materiálu (přebytečný kal z ČOV, ale i kosti zvířat, rostlinná biomasa a další). Tento materiál má zlepšovat vlastnosti půdy a být potřebným zdrojem zásobního uhlíku, případně dalších nutrientů, které jsou důležité pro dobrou bonitu půdy (Mehmood et al. 2017). Protože má relativně dlouhou dobu rozkladu a může tak v půdě setrvávat desítky let (Pohořelý et al., 2017), je žádoucí ověřit vlivy tohoto materiálu na půdní a vodní ekosystémy. Biochar má být sice aplikován na zemědělské plochy půdy, protože se ale jedná o lokální použití, jeho aplikaci řadím rovněž mezi možné bodové zdroje znečištění.

Cílem této práce bylo posouzení negativních vlivů hasebních prostředků, které mohou obsahovat halogenované uhlovodíky jako aditiva, na životní prostředí. Současně bylo zhodnoceno i jejich ekotoxikologické působení v přírodních matricích. Dále byl posouzen vliv vybraných průmyslových a komunálních ČOV na cílový recipient a vliv termochemicky upraveného kalu, tzv. biocharu, na půdní a vodní ekosystémy. Pro posouzení eventuálních negativních vlivů na přírodní ekosystémy byly použity vybrané akvatické a terestrické ekotoxikologické testy, využívající reprezentativní vodní a půdní organismy.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Skupiny vybraných bodových zdrojů znečištění

#### 2.1.1 Retardátory hoření

Používání retardátorů hoření, které sahá daleko do historie lidstva, je doporučováno především z hlediska ochrany majetku proti požáru. První snahy na ochranu majetku před ničivými vlivy požárů jsou datovány již od roku 200 př. n. l., kdy Římané používali směs kamence a vinného octa, aby snížili hořlavost dřeva.

Dnes se za tímto účelem používají retardátory do hořlavých výrobků z plastů, dřeva, papíru a textilních materiálů. Retardátory jsou ve své podstatě chemické látky, které po zakomponování do hořlavého materiálu zvyšují jeho odolnost vůči ohni. Tyto látky mají dvojitý charakter, a to reaktivní a aditivní. Pokud je látka aplikována jako reaktivní, je chemicky vázána v polymerní struktuře nosné matrice. Naopak aditivní retardátory nejsou pevně vázány ve struktuře a vyskytují se v kostře polymeru jako volná látka.

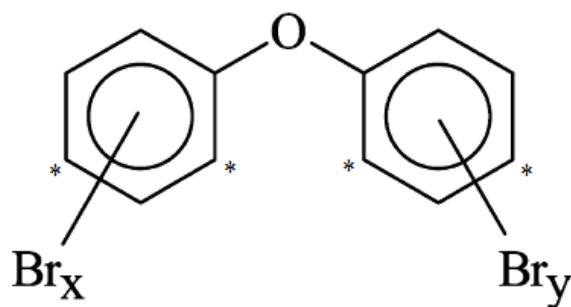
Reaktivní retardátory jsou do životního prostředí uvolněny teprve při hoření polymerní matrice, zatímco ty aditivní mohou být snadno uvolňovány již při běžném používání komerčních výrobků, které je obsahují. Nejsou totiž chemicky vázané ve struktuře polymeru, ale jsou rozptýleny v celém jejím objemu.

Retardátory hoření však nezaručují absolutní nehořlavost materiálu. Jejich význam spočívá v odlišném efektu. Pokud dojde k nadměrnému zahřátí výrobku, nebo dokonce k jeho vznícení, je dříve než samotná polymerní matrice rozkládán retardátor hoření, který je její součástí. Tím je vlastní polymer alespoň částečně chráněn před vlivy požárů, což zvyšuje i možnost útěku např. z hořícího domu.

Výhodnými retardátory přidávanými do polymerů jsou organohalogenované sloučeniny. Ne všechny organohalogenované sloučeniny jsou však pro tyto účely vhodné. Například fluorované sloučeniny jsou stabilní a rozkládají se při mnohem vyšších teplotách než samotný polymer. Naproti tomu jodované sloučeniny nejsou příliš stabilní, a proto se rozkládají již při mírně zvýšených teplotách. Efektivními jsou zejména organochlorované a organobromované sloučeniny, které mají vyšší přilnavost k matrici a v porovnání s ní i nižší teplotu rozkladu. Nejčastěji používanými přípravky se staly bromované retardátory hoření (BFRs), které představují cca 25 % všech retardátorů. Lze mezi nimi nalézt více než 80 různých alifatických, cyklo-alifatických, aromatických a polymerních sloučenin.

Mezi nejvýznamnější aditivní BFRs je nutné zařadit polybromované difenyletery (PBDEs; viz Obr. 1) a hexabromocyklododekan (HBCD). Tyto retardátory jsou jednoduše smíseny s matricemi polymerů. Aditivní BFRs tak mohou být snadno uvolnitelné z polymerní matrice do životního prostředí. Mezi reaktivní BFRs patří například tetrabrombisfenol A, který je chemicky vázán do matrice a je tedy stabilnější a mnohem hůře uvolnitelný (Eljarrat et al., 2011).





Obr. 1. Chemická struktura molekuly polybromovaného difenyletheru, kde \* označuje neaktivnější místa pro substituci (Rahman et al., 2001)

Aby mohla být organobromovaná sloučenina adekvátně použita, musí být kompatibilní s polymerní maticí tak, aby mohla být inkorporována přímo do ní, aniž by došlo ke změně její struktury, fyzikálních vlastností a stability takto vzniklého polymeru v rámci posuzování životního cyklu (LCA; Life Cycle Assessment) výrobku. Polymery jsou zpravidla hydrofobního charakteru, a proto jsou kompatibilní s hydrofobními sloučeninami. Takové sloučeniny jsou bioakumulativní, tzn., mají tendenci kumulovat se v biotě. Kromě toho u nich byla prokázána i schopnost biomagnifikace, což znamená, že mají tendenci kumulovat se v organismech v rámci potravního řetězce, od nižších trofických úrovní k vyšším. Tyto vlastnosti činí tuto sloučeninu persistentní, a to i mnoho let po její emisi do životního prostředí (Eljarrat et al., 2011).

### 2.1.2 Perfluorované sloučeniny

Perfluorované sloučeniny jsou látky relativně nové. Ve větší míře začaly být produkovány zhruba v 50. letech 20. století, přičemž perfluorované organické kyseliny a perfluoroalkany byly vyráběny již od 20. let 20. století. Tyto látky našly uplatnění především v oblasti výroby potravinářských obalů, povrchového ošetřování textilních materiálů, šamponů, papírových výrobků a pěnových hasebních prostředků. Tyto látky rovněž spadají do skupiny tzv. persistentních organických polutantů.

Přestože jsou tyto látky známé již více než 60 let, je stále relativně málo informací nejen o jejich zdrojích, způsobu a míře distribuce mezi jednotlivými složkami životního prostředí, ale také o rizicích, která mohou jejich zvýšené koncentrace představovat nejen pro člověka, ale i pro samotné životní prostředí.

Perfluorované organické sloučeniny jsou v podstatě uhlovodíky, které ve své molekule obsahují navázané atomy fluoru. Předpona „perfluoro“ je používána pro označení těch sloučenin, ve kterých jsou všechny atomy vodíku na uhlíkovém řetězci nahrazeny atomem fluoru. Díky své nejsilnější kovalentní vazbě uhlík – fluor (C-F) jsou chemicky odolné nejen vůči silným kyselinám a zásadám, ale také oxidačním a redukčním činidlům. Ve své podstatě se jedná o látky vysoce stabilní, s dobrými tepelnými vlastnostmi, a proto jsou často používány jako aditiva do polovodičových součástek, léčiv, kosmetických přípravků, případně jako chladiva nebo aditiva médií v hasicích systémech. Tyto látky nepodléhají za běžných podmínek fotolýze ani hydrolyze, a protože jsou persistentní, nepodléhají rovněž přirozené biodegradaci. Všechny tyto sloučeniny obsahují hydrofobní (nepolární) ocas, tvořený fluorouhlíkovou vazbou, a dále hydrofilní (polární) hlavu. Patří proto mezi povrchově aktivní látky, tzv. surfaktanty neboli tenzidy.

Do této skupiny látek můžeme zařadit perfluorované mastné kyseliny, ze kterých jsou nejvíce sledované perfluorooktansulfonová kyselina (perfluorooctanesulfonic acid; PFOS) a perfluorooktanová kyselina (perfluorooctanoic acid; PFOA). Mezi hlavní prekursory mastných kyselin potom patří perfluorooktan sulfonamid (perfluorooctane sulfonamide; PFOSA) (Parsons et al., 2008).

Nejčastěji monitorovaná sloučenina PFOS je středně rozpustná netěkavá a tepelně stabilní látka. I přesto, že se jedná o relativně silnou kyselinu, je při neutrálním pH ve vodě zcela disociována na iontovou formu. To má za následek, že anion PFOS má tendenci tvořit iontový pár s kationty přítomnými ve vodě. PFOS je bioakumulativní a snadno se adsorbuje na půdní částice, sedimenty a kaly. Adsorbovaný PFOS lze obtížně desorbovat pouze při extrakci organickým rozpouštědlem. V organismu se však neváže na lipidický podíl, ale na proteinovou složku krve jako je albumin (Whitacre et al., 2008).

V přírodě se přirozeně vyskytuje pouze monofluoroacetát (MFA), který je produkován několika málo rostlinnými druhy. Polyfluorované sloučeniny jsou jednoznačně syntetického původu. Prostřednictvím environmentálního monitoringu se zjišťují a následně posuzují koncentrace perfluorovaných sloučenin, které se komplexně hodnotí s ostatními stanoveními ve vodním prostředí. Vzorky vzduchu a půd bývají rovněž analyzovány, avšak v menším rozsahu. Tyto látky byly rovněž detekovány ve srážkách a v povrchových vodách. Pozitivní koncentrace byly také stanoveny ve vzorcích odebraných v bezprostřední blízkosti výrobních podniků i ve vzorcích odebraných z požářišť po uhašení požáru pěnovými roztoky hasebních prostředků (Kannan et al., 2005).

### 2.1.3 Pěnové hasební prostředky

Pěnové hasební prostředky jsou v praxi používány při hašení plošných a divokých požárů. Pěna se používá rovněž pro hašení požárů hořlavých kapalin spadajících do skupiny hořlavin třídy B. V převážné většině případů je používána tzv. vzducho-mechanická pěna, která je produkována mechanicky z 3% – 6% vodného roztoku pěnidla. Vyrábí se pomocí hasebních pěnových proudnic a pěnotvorných agregátů. Proudnice jsou používány pro výrobu těžké a středně těžké pěny, agregáty potom pro výrobu pěny lehké.

Hasební pěnidla jsou směsi vody, rozpouštědel, povrchově aktivních látek (PAL) a dalších aditiv přidávaných pro zlepšení vlastností pěny, včetně inhibitorů koroze, konzervantů, barviv a dalších. Povrchově aktivní látky jsou do směsi přidávány za účelem zvýšení stability pěny. Některé povrchově aktivní látky přidávané do pěnidel obsahují fluorovou nebo fluoroalkylovou skupinu. Jedná se proto o perfluorované látky. V koncentráte pěnidla mohou perfluorované povrchově aktivní látky tvořit až 17% podíl. V připraveném hasebním roztoku je tento podíl zhruba 0,5 %, a to s ohledem na jednotky procent příměsi koncentráte ve vodě.

Nejčastěji používaná fluorovaná povrchově aktivní látka je perfluorooktansulfonát, který je nejen velmi účinný sám o sobě, ale je také prekursorem dalších perfluorovaných povrchově aktivních látek. Jako všechny povrchově aktivní látky jsou i ty perfluorované rozdělovány na neionogenní, anionické, kationické a amfoterní, přičemž největší význam mají anionické. Perfluorované povrchově aktivní látky jsou spolu s uhlovodíkovými obsaženy v pěnach tvořících vodní film - označení AFFFs; Aqueous film forming foams (National Foam Inc., 1990).

Přestože u hasebních pěnidel výrobci konstatují, že jsou při odpovídajícím použití snadno biologicky odbouratelná, je třeba dodržovat omezení použití pěnidel v rámci hasebních cvičení v ochranných pásmech vodních zdrojů. Pokud je nezbytně nutné nepoužitý roztok

pěnídla vypustit do kanalizace a následně na městskou ČOV, je zapotřebí povolení provozovatele kanalizace, příp. vodohospodářského orgánu.

#### 2.1.4 Průmyslové čistírny odpadních vod

Současná legislativa a na ní založené požadavky vodoprávních orgánů stále více motivují soukromé i státní podniky k investici do vlastní průmyslové ČOV. Průmyslové odpadní vody se musí buď likvidovat jako odpady v souladu se zákonem č. 185/2001 Sb. o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, nebo musí být čištěny na vhodně navržené ČOV. V praxi jsou možné dva legální způsoby nakládání s těmito odpadními vodami.

Na první pohled se jako méně náročný způsob jeví ten, při kterém jsou odpadní vody odváženy a likvidovány jako odpad, a to autorizovanou osobou mající osvědčení pro tuto činnost. V praxi to potom probíhá následovně: odpadní vody od producenta odebírá místní provozovatel městské biologické ČOV a tyto odpadní vody postupně likviduje společně se splašky v určitém poměru ředění. Výjimku tvoří odpadní vody klasifikované jako nebezpečný odpad. Ty jsou likvidovány specializovanou firmou pro nakládání s odpady mimo biologickou ČOV. Toto řešení nakládání s odpadními vodami je nepraktické, časově náročné a klade přitom vysoké nároky na akumulační prostory. Nízké investiční náklady jsou tak vykoupeny nepohodlím a vysokými provozními náklady, které za rok mohou představovat až stovky tisíc korun. Cena za likvidaci 1 m<sup>3</sup> odpadní vody je kalkulována na základě koncentrace znečištění, zpravidla reprezentované hodnotami CHSK<sub>Cr</sub> (chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanovou metodou) a BSK<sub>5</sub> (biochemická spotřeba kyslíku po 5 dnech inkubace), případně dalšími rizikovými parametry, kterými mohou být např. AOX (adsorbovatelné organicky vázané halogeny) apod. Předpokládané složení odpadních vod lze určit na základě výrobních postupů a sanitačního řádu provozu. Přesné složení je potom možné stanovit pouze laboratorní analýzou v akreditované laboratoři.

Vhodnou alternativu představuje vybudování vlastní průmyslové ČOV. Toto řešení sice klade na počátku vysoké nároky na investiční náklady, nicméně výrazně snižuje pravidelné provozní náklady provozovatele na několik desítek tisíc korun za rok. Vhodně navržená a provozovaná ČOV může mít rovněž dobrou rentabilitu. Přestože je dnes většina ČOV plně automatizovaná, neznamená to, že jsou ČOV bezobslužné a bude možné je provozovat bez lidského zásahu. Každá ČOV potřebuje svého provozovatele a pokud je provozována v souladu s Provozním řádem a jsou-li dodrženy podmínky na nátok, plní voda na odtoku bez problému limity stanovené Kanalizačním řádem pro cílovou kanalizaci, případně Vodoprávním rozhodnutím pro cílový recipient.

U podniků situovaných ve větších obcích a městech vybavených kanalizační sítí, která svádí splašky na místní ČOV, je situace méně komplikovaná. Po udělení povolení ke stavbě a na základě jednání s vodoprávními orgány postačuje ve většině případů pro tzv. předčištění odpadních vod chemický stupeň. Chemické čištění spočívá převážně v neutralizaci a následné koagulaci znečištění přítomného v odpadních vodách, přičemž pro konkrétní odpadní vodu existuje několik kombinací různých chemických činidel, které lze použít v různých dávkách. Vybraná kombinace přesných dávek činidel aplikovaných v určitém pořadí je obecně označována jako chemismus čištění, který je specifický pro daný výrobní podnik a je „nepřenositelný“. Pokud je např. v jedné mlékárně dobře pracující chemická ČOV a její chemismus bude aplikován na jinou mlékárnu, je téměř jisté, že čištění nebude probíhat zcela optimálně. Důvodem je to, že se sice jedná o podnik stejného druhu, ale pravděpodobně jsou

používány odlišné výrobní procesy a produkované odpadní vody mají jiné složení. Určení chemismu čištění odpadních vod je proto složitý a zejména zdlouhavý proces, který lze částečně urychlit na základě zkušeností z praxe.

Podniky, které se nacházejí v obcích bez kanalizační sítě, nebo které jsou situovány zcela mimo obec, mají situaci komplikovanější. Jediným možným recipientem je v jejich případě namísto kanalizace blízký vodní tok (potok, řeka). Pro vypouštění odpadních vod do přírodního recipientu jsou však stanoveny velmi přísné limity. Tyto limity jsou prezentovány v Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech. Tímto nařízením se řídí i příslušné vodoprávní orgány, které povolují, resp. zamítají stavbu vodního díla, kterým ČOV bezesporu je. Konečné rozhodnutí při stanovení limitů má Vodoprávní úřad.

Aby mohla být průmyslová odpadní voda vypouštěna do recipientu vodního toku, musí být ČOV dvoustupňová, složená z chemického stupně pro předčištění a biologického stupně pro dočištění odpadních vod na požadovanou kvalitu. Tímto však rostou nároky na investiční náklady, což některé podniky motivuje k častým podvrhům a falšování odběrů vzorků. Mohou se vyskytovat i takové případy, že si podniky sice nechají zbudovat ČOV, ale za účelem maximálního snížení provozních nákladů omezí, případně zcela vynechají, dávkování chemikálií. V extrémních případech čistírnu odpadních vod vůbec neprovozují a odpadní vody čistírnou pouze protékají.

Špatně provozované ČOV nebo ČOV neprovozované vůbec se potom stávají rizikovými bodovými zdroji znečištění nejen pro ekosystém cílového vodního toku.

### **2.1.5 Komunální ČOV**

Komunální ČOV je zařízení určené k likvidaci městských odpadních vod, tzv. splašků. Čištění splašků je koncipováno za účelem snížení, příp. eliminace znečištění ve formě pevných nečistot (hrubých i jemných), dále rozpuštěných biologicky rozložitelných látek, nutrientů a patogenních organismů. Městské ČOV nejsou v porovnání s průmyslovými ČOV určeny pro odstraňování rozpuštěných anorganických látek, jako jsou především soli, s výjimkou sloučenin fosforu a dusíku (Malý a Malá, 2006).

Městské ČOV jsou navrhovány na principu mechanicko-biologického čištění. Mechanický stupeň je vesměs tvořen usazovacími nádržemi, lapáky písku, hrubými a jemnými česlemi v různých kombinacích. Biologické čištění je potom zajištěno směsnou biocenózou, tzv. aktivovaným kalem, který sestává z různých kultur bakterií, virů, prvoků a hub. Tyto mikroorganismy jsou kromě jiného schopny na svůj aktivní povrch částečně adsorbovat jemné suspendované a koloidní látky obsažené v mechanicky předčištěné odpadní vodě. V rámci vlastního metabolismu jsou schopny z odpadní vody odstraňovat zejména znečištění ve formě rozpuštěných organických látek a nutrientů, jakými jsou sloučeniny dusíku a fosforu.

Biologické čištění může probíhat za aerobních (oxických) i anoxických podmínek. Pro dosažení oxických podmínek je nutné do aktivační směsi (směs aktivovaného kalu a mechanicky předčištěné odpadní vody) dodat vzduch tak, aby koncentrace rozpuštěného kyslíku ve směsi dosáhla hodnoty 2,0 mg/l. Za těchto podmínek probíhá proces tzv. nitrifikace. Z literatury je známo, že proces nitrifikace začíná být aktivní již při koncentracích rozpuštěného kyslíku nad 0,5 mg/l (Drtil a Hutňan, 2007).

Při nitrifikaci dochází, kromě redukce organického podílu, také k oxidaci amoniakálního dusíku přes dusitanový dusík na dusík dusičnanový. Procesem nitrifikace je tak z odpadní vody eliminováno amoniakální znečištění. Celkový dusík jako takový ovšem zůstává.

Proto je tento proces často doplňován čištěním za anoxických podmínek, tzv. denitrifikací. Pokud jsou navozeny anoxické podmínky, je v aktivační směsi přítomen kyslík pouze ve formě rozpuštěných sloučenin, především těch dusíkatých, jako jsou dusičnany  $\text{NO}_3^-$ . Proces denitrifikace začíná být aktivní až při poklesu koncentrace rozpuštěného kyslíku pod mez 0,5 mg/l. Při denitrifikaci dochází k redukci dusičnanů na plynný dusík  $\text{N}_2(\text{g})$  a kyslík  $\text{O}_2$ , který je spotřebován mikroorganismy aktivovaného kalu v rámci endogenní respirace (buněčného dýchání).

V určitých případech lze zařadit také stupeň anaerobního čištění. Anaerobní procesy probíhají zcela bez kyslíku. Anaerobní čištění je aplikováno v případě, pokud jsou kladeny požadavky na odstraňování nutrientů se zvýšeným biologickým odstraňováním fosforu (tzv. luxury-uptake) z odpadní vody. V praxi však ve většině případů postačuje chemické srážení fosforu, ať již primární, simultánní nebo terciární (Tchobanoglous et al., 2003).

Z principu biologického čištění odpadních vod a typu odpadních vod, které lze čistit na komunálních ČOV vyplývá, že komunální ČOV by jako takové neměly představovat významné bodové zdroje znečištění. Samozřejmě i v tomto případě hraje roli to, jaká odpadní voda na ČOV přitéká, zda nedošlo k únikům průmyslových odpadních vod na komunální ČOV, případně zda se do odpadní vody nedostal kontaminant ovlivňující její funkci. V neposlední řadě hraje opět významnou roli kvalita provozování zařízení.

Lze proto konstatovat, že každá ČOV, ať již průmyslová nebo komunální, bude vždy představovat potenciální riziko pro přírodní ekosystémy a vždy na ni budeme muset pohlížet jako na bodový zdroj znečištění.

## **2.1.6 Upravená biomasa a odpadní produkty z čištění odpadních vod**

### **2.1.6.1 Přebytečný kal**

Při čištění odpadních vod vzniká kromě vyčištěné vody i vedlejší produkt, polotekutý odpad ve formě kalu. V rámci procesu v podstatě dochází k přeměně znečištění z rozpuštěné formy na formu pevnou. Vlastnosti kalu jsou závislé jednak na druhu odpadní vody a jednak na mechanismu čištění. U průmyslových čistíren je často používán proces srážení, při kterém vzniká chemický kal. Ten je klasifikován jako nebezpečný odpad a podle toho je s ním nakládáno. Takový kal nesmí v žádném případě přijít na zemědělskou půdu nebo na kompostárnu.

Při čištění komunálních odpadních vod naopak vzniká kal biologický. Kal z komunální ČOV je přebytečná biomasa organismů aktivovaného kalu, která narůstá přímo úměrně s přiváděným množstvím splašků. S kaly biologického původu je potom nakládáno různě. Mohou být zpracovávány na kompostárnách, v bioplynových stanicích, aplikovány do zemědělské půdy, využívány při rekultivacích, dále mohou být skládkovány, anebo spalovány společně s dalšími odpady (Lyčková et al., 2008). Poslední tři aplikace kladou vysoké požadavky na kvalitu odpadního kalu. Především v zemědělství jsou přísně limitovány mikrobiologické parametry a koncentrace rizikových látek, jako jsou základní organické polutanty (PAU, PCB, AOX) a těžké kovy. Dále jsou stanoveny mezní koncentrace těžkých kovů, které je možné do půdy dodat při aplikaci po dobu deseti let. Mezní limity rizikových látek v kalu aplikovaném na zemědělskou půdu stanovuje vyhláška č. 437/2016 Sb.

o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady (MZČR, Vyhláška č. 437/2016 Sb.). Současně s kontrolou kvality kalu aplikovaného na půdu je nutné kontrolovat i kvalitu půdy za účelem posouzení obsahu rizikových prvků v půdě samotné (Lyčková et al., 2008).

Všechny kaly používané v zemědělství musí být upraveny, tzn. zbaveny přebytečné vody tak, aby bylo dosaženo sušiny kalu alespoň 18 %. Tyto kaly musí být dále hygienicky zabezpečené, tj. musí projít procesem stabilizace a hygienizace (MZČR, Vyhláška č. 437/2016 Sb.).

Pro takové zpracování kalu je často používána aerobní nebo anaerobní stabilizace s následným strojovým odvodněním v kombinaci se sušením. Samotné odvodnění je schopno zvýšit sušinu kalu na 15 až 30 %. Výstupní kal z procesu sušení může dosahovat dokonce 60 - 95 % sušiny. To, jaké sušiny dosáhneme, vždy záleží na použité technologii a na vlastnostech kalu. Pokud má tedy přebytečný kal z kalové nádrže sušinu cca 10 %, lze odvodněním jeho množství snížit až třikrát a následným sušením až devět a půl krát. Ani taková opatření však definitivně neřeší problémy spojené s dalším nakládáním s kalem.

### **2.1.6.2 Biochar**

V posledních letech dochází k zavádění a rozvoji technologie pro pyrolýzní spalování kalu. Obecně se jedná o proces spalování biomasy a organických odpadů v prostředí bez kyslíku při teplotách 300 °C a vyšších. Produkty takového spalování jsou energeticky bohaté plyny, kapaliny a tuhý uhl. Tuto zuhelnatělou biomasu s obsahem vysoce stabilního uhlíku nazýváme biouhel, neboli biochar.

Hlavní využití biocharu spatřují světoví odborníci v aplikaci do půdy za účelem zlepšení jejích vlastností a zvýšení zemědělské produkce vyčerpaných půd, nebo půd s nízkou bonitou (Lehmann, 2007; Sohi et al., 2010). Největší potenciál využití biocharu vzniká v oblastech s vysoce zvětralými půdami, které jsou charakteristické pro většinu vlhkých tropů (Crane-Droesch et al. 2013). Výstupy mnoha studií ukazují, že biochar aplikovaný do půdy pozitivně ovlivňuje půdní fyzikálně-chemické vlastnosti, zlepšuje její bonitu a vodní kapacitu půdy (Lehmann, 2007; Sohi et al., 2010; Crane-Droesch et al. 2013).

Na tomto místě je nutné konstatovat, že neexistuje pouze jeden typ biocharu. Biocharů je mnoho druhů a kromě spalování přebytečného kalu ho lze získat i spalováním různých druhů biomasy, jako je dřevo, listí, chlévská mrva, zvířecí kosti apod. To, jaké bude mít biochar vlastnosti, ovlivňuje především kvalita vstupního materiálu a použitá technologie pyrolýzy (Sohi et al., 2010; Libra et al., 2011). Nelze proto říci, že kvalitní, a tedy v zemědělství použitelný biochar, získáme pouhou termochemickou přeměnou biomasy. Pokud již vstupní materiál obsahuje rizikové nebo dokonce nežádoucí látky, bude je s největší pravděpodobností obsahovat i výstupní produkt. Samozřejmě, že některé organické kontaminanty vysoké teplotě neodolávají a dojde k rozpadu jejich molekul za vzniku jiných, jednodušších. Na druhou stranu však existují kontaminanty, které se procesem spalování mohou zkoncentrovat. Jedná se především o kontaminanty anorganického původu. Z výše uvedeného vyplývá, že pro získání kvalitního a nezávadného produktu je velmi důležitá vysoká kvalita vstupního materiálu (Libra et al., 2011).

Výzkum v oblasti biocharu je poměrně mladý. V roce 2017 Mehmood s kolektivem zveřejnili rešerši týkající se posouzení rozsahu a zaměření výzkumů biocharu. Čerpali z publikací vydaných od roku 2010 do roku 2014 včetně. Během tohoto pětiletého období byl výzkum zaměřen nejvíce na technologii, chemii a ovlivnění úrodnosti půdy, dále pak na

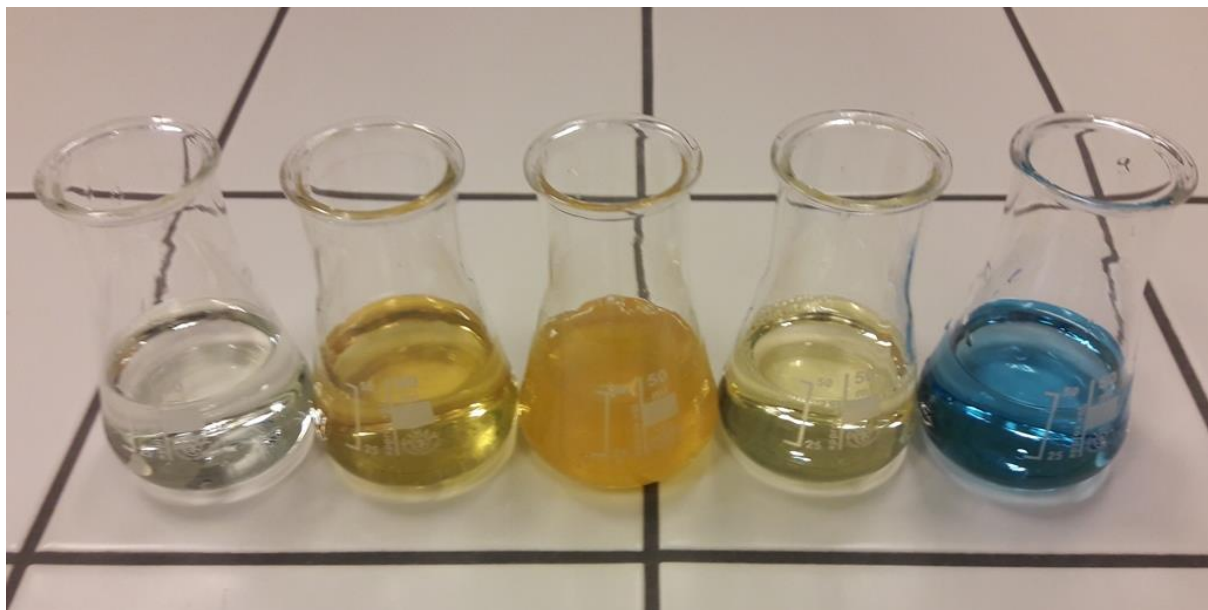
výkonnost zařízení, emise skleníkových plynů a klima, sorpci, biologii, fyziku a rezistenci vůči životnímu prostředí. Vše ve spojitosti s biocharem (Mehmood et al., 2017). V posledních letech také vědci zkoušejí biochar obohacovat, často například o částice nula mocného železa (NZVI), a to za účelem zlepšení jeho vlastností a zvýšení jeho účinnosti jakožto sorbentu.

Studie pro posouzení vlivu biocharu na organismy žijící v půdě jsou dohledatelné, nicméně ve velmi omezeném množství. Protože tento materiál může v půdě setrvávat až desítky tisíc let (Břendová a kol., 2015), je důležité simultánně s vývojem technologií a zařízení pro výrobu kvalitního biocharu a se studiem jeho vlastností a vlivů na charakter půdní matrice posuzovat i jeho vliv na přírodní ekosystémy, ať už půdní, do kterých má být přímo aplikován, tak také akvatické, do kterých se mohou dostat výluhy z půd s obsahem látek vyluhovatelných ze zkoumaného materiálu.

## 2.2 Ekotoxikologické údaje vybraných analytů

### 2.2.1 Hasební prostředky

Za účelem posouzení možných ekotoxických vlivů požárních zásahů na přírodní ekosystémy bylo v rámci práce vybráno pět pěnových hasebních prostředků používaných Hasičským záchranným sborem Jihomoravského kraje. Jedná se o Expyrol F-15 (EF-15), Finiflam F-15 (FF-15), Moussol-APS F-15 (MAF-15), Pyrocool B (PB) a Sthamex F-15 (SF-15) (viz Obr. 2). Základní vlastnosti vzorků jsou uvedeny v Tab. 1.



Obr. 2. Koncentráty pěnových hasebních prostředků v pořadí zleva EF-15, FF-15, MAF-15, PB a SF-15 (vlastní foto).

#### 2.2.1.1 Expyrol F-15 (EF-15)

Koncentrát Expyrol F-15 je určen pro výrobu 3% roztoku pěnového hasebního prostředku, který tvoří vodní film na povrchu hašeného subjektu a patří proto mezi fluorosyntetické pěny tvořící vodní film (Aqueous Film-Forming Foams; AFFF). Díky svým vlastnostem je vhodný především pro hašení hořících paliv, jako jsou benzin, olej i paliva s polárními aditivy, přičemž zamezuje úniku těkavých chemikálií a opětovnému vznícení požáru, nebo výbuchu. Je vhodný pro tvorbu středně a vysoko expanzní pěny.

Podle bezpečnostního listu jsou v prostředku obsaženy následující látky, které jsou považovány za nebezpečné podle platných předpisů OSHA USA (Occupational Safety and Health Administration; Bezpečnost a ochrana zdraví při práci): ethylenglykol (10 – 30 %), 2-(2-butoxyethoxy)ethanol (5 – 10 %), capryl/caprylil glukosid (neionogenní tenzid, 1 – 5 %) a decylsulfát sodný (anionaktivní tenzid, 1 – 5 %).

#### ***Dostupná ekotoxikologická data***

V bezpečnostním listu tohoto výrobku dodaném přímo od výrobce jsou uvedena data o ekotoxicitě výše zmíněných nebezpečných látek, které prostředek obsahuje. Nejsou však dostupná relevantní ekotoxikologická data pro samotný prostředek (SABO FOAM, 2017).



### **2.2.1.2 Finiflam F-15 (FF-15)**

Finiflam F-15 patří mezi syntetická víceúčelová pěnidla na bázi fluorových tenzidů. Lze jej použít jako hasební prostředek, který tvoří stabilní pěnu, a to právě z důvodu obsahu povrchově aktivních látek. Tvoří ho směs tenzidů s rozpouštědly, stabilizátory a mrazuvzdornými a nemrznoucími aditivy. Dnes je tento výrobek distribuován pod názvem TOWALEX F-15.

#### ***Dostupná ekotoxikologická data***

V bezpečnostním listu tohoto výrobku nejsou uvedena žádná data o ekotoxicitě prostředku (ZAHAS, 2011).

### **2.2.1.3 Moussol-APS F-15 (MAF-15)**

Moussol-APS F-15 patří mezi alkohol-rezistentní pěnidla, která tvoří vodní film. Toto pěnidlo je směsí povrchově aktivních látek, dále látek tvořících polymerní a vodní film, pěnových stabilizátorů a nemrznoucích sloučenin. Tento prostředek v podstatě kombinuje účinnost koncentrátů tvořících jak polymerní, tak vodní film. Moussol-APS F-15 obsahuje mimo jiné i fluorované tenzidy, které zvyšují přilnavost pěny na nepolární uhlovodíky.

Podle bezpečnostního listu výrobku se i v tomto případě jedná o víceúčelové hasivo, které obsahuje tyto nebezpečné látky: < 25 % 1,2-ethandiolu, < 10 % 2-(2-butoxyethoxy)ethanolu, < 5 % alkylpolyglykosidu (neiontový tenzid), < 5 % poly-(1,1,2,2-tetrafluoro-1,2-ethanediyl) (fluorovaný tenzid).

#### ***Dostupná ekotoxikologická data***

Technický list výrobku uvádí ekotoxicitu třídy 2 (ohrožení vodního prostředí). Hodnota LC50 pro ryby je 4 500 mg/l při 48 hodinové expozici, pro perloočky je hodnota EC50 3 750 mg/l při 24 hodinové expozici a pro řasy je hodnota IC50 505 mg/l při 72 hodinové expozici (DR. STHAMER, 2012).

### **2.2.1.4 Pyrocool B (PB)**

Dalším testovaným prostředkem je víceúčelové syntetické pěnidlo Pyrocool B, jehož 3% vodný roztok je používán jako pěnový hasební prostředek. I tento prostředek tvoří na povrchu hořící plochy film, který zabraňuje prostupu vzduchu k požářišti a omezuje emise těkavých plynů. Tím je omezeno opětovné vzplanutí požárů. Dle výrobce neobsahuje tento produkt fluorované sloučeniny. Jeho vlastnosti jsou způsobeny obsahem biologicky degradabilních tenzidů a nemrznoucích aditiv.

#### ***Dostupná ekotoxikologická data***

V bezpečnostním listu tohoto výrobku nejsou uvedena žádná data o ekotoxicitě prostředku (PYROCOOL SLOVAKIA, 2002).

### **2.2.1.5 Sthamex F-15 (SF-15)**

Pěnidlo Sthamex F-15 je syntetický koncentrát s obsahem fluorovaných sloučenin. Jedná se o víceúčelový hasební prostředek, který tvoří vodní film na povrchu hořícího materiálu. Kombinace fluorovaných látek, stabilizátorů pěny a nemrznoucích aditiv zajišťuje vysokou účinnost prostředku při hašení požárů nepolárních kapalin a rozsáhlých požárů jak na velkých

plochách, tak v uzavřeném prostoru (požáry typu A + B). V praxi je používán 5% vodný roztok, který lze použít pro tvorbu nízko a středně expanzní pěny.

Podle technického listu obsahuje nebezpečné látky v množství < 10 % 2-(2-butoxyethoxy)ethanolu, < 10 % 1-butoxy-2-propanolu, < 5 % alkylethersulfátu sodného (anionaktivní tenzid), < 5 % laurylethersulfátu sodného (anionaktivní tenzid) a < 10 % alfa-olefin sulfonátu sodného (anionaktivní tenzid).

### ***Dostupná ekotoxikologická data***

V bezpečnostním listu výrobku je deklarována ekotoxicita třídy 2 (ohrožení vodního prostředí). Podle publikované studie je vypočtená hodnota LC50 pro ryby 390 mg/l při 48 hodinové expozici, pro perloočky je hodnota EC50 78 mg/l při 24 hodinové expozici a pro řasy je hodnota IC50 20 mg/l při 72 hodinové expozici (DR. STHAMER, 2014).

Tab. 1. Základní dostupné informace o testovaných pěnových hasebních prostředcích

Prostředek		EF-15	FF-15	MAF-15	PB	SF-15
Výrobce		Tyco Fire & Security Holding Germany	Tyco Fire & Security Holding Germany	Dr. Sthamer, Hamburg	Pyrocool Slovakia spol. s r.o.	Dr. Sthamer, Hamnurg
Typ pěny	Nízko expanzní	Ne	Ano	Ano	Ano	Ano
	Středně expanzní	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano
	Vysoce expanzní	Ano	Ne	Ne	Ano	Ne
Typ požáru		A + B	A + B	A + B	A + B	A + B
Pracovní roztok		3%	3%	3% <sup>1</sup> / 5% <sup>2</sup>	3%	5%
Bod tuhnutí		- 15 °C	- 15 °C	- 15 °C	- 15 °C	- 15 °C
Obsahuje fluorované sloučeniny		Ano	Ano	Ano	Ne	Ano
Ekotoxikologické informace						
Bakterie		-	-	-	-	-
Řasy		-	-	72hIC50 505 mg/l	-	72hIC50 60 mg/l
Ryby		-	-	48hLC50 4 500 mg/l	-	96hLC50 15 mg/l
Perloočky		-	-	24hEC50 3 750 mg/l	-	48hEC50 45 mg/l

<sup>1</sup> koncentrace pracovního roztoku pěnidla pro hašení nepolárních uhlovodíků

<sup>2</sup> koncentrace pracovního roztoku pěnidla pro hašení polárních a vysoce polárních látek

## 2.2.2 Průmyslové odpadní vody

Průmysl produkuje různé typy odpadních vod, jejichž složení se velice liší. Mezi významné producenty odpadních vod patří průmysl automobilový, strojní, stavební, dřevozpracující, nábytkářský, papírenský, textilní, prádelenský, chemický, elektrochemický, farmaceutický a potravinářský. V takto širokém spektru průmyslových odvětví jsou produkovány odpadní vody s velmi rozdílnou kvalitou.

U strojních průmyslových odvětví jsou zásadními znečišťujícími složkami oleje, řezné emulze, chladicí kapaliny, lepidla, prach s obsahem těžkých kovů, příměsi agresivních chemikálií, barvy, laky, organická rozpouštědla. V potravinářském průmyslu se naopak vyskytují vysoké obsahy živočišných a rostlinných tuků, rozpuštěných cukrů a škrobů, krve, ostatků poražených chovných zvířat (peří, štetiny) a rostlinné a živočišné syrovátky. Specifické jsou odpadní vody z farmaceutické výroby, které obsahují zbytky farmakologických látek a dále nemocniční odpadní vody, které jsou ve své podstatě vody splaškové, ovšem rovněž obsahují zbytky farmak a velmi často mohou obsahovat infekční činitele.

Pro posouzení vlivu průmyslových ČOV na vodní ekosystémy bylo jako zástupce strojírenského, resp. elektrochemického průmyslu, vybráno zařízení, které v současnosti slouží pro čištění odpadních vod v galvanovně. Pro účely posouzení vlivu odpadních vod z potravinářského průmyslu byly vybrány ČOV, které jsou v současnosti provozovány ve dvou mlékárnách a jatkách. Celkem tedy byly vybrány čtyři možné bodové zdroje znečištění z oblasti čištění průmyslových odpadních vod.

### 2.2.2.1 Galvanovna (G)

Jako další potenciální bodový zdroj znečištění byla zvolena galvanovna zaměřená na výrobu komponent do průmyslových klimatizací, lokalizovaná v Jihomoravském kraji. Výrobní program je zaměřený na povrchovou úpravu kovů a plastických materiálů, včetně lakování, a strojírenskou nebo elektrotechnickou výrobu.

V areálu podniku vznikají odpadní vody splaškové, odpadní vody technologické a dešťové vody. Dešťové vody jsou sváděny do retenční nádrže. Roční produkce splaškových vod je 38 660 m<sup>3</sup>, což je 154,64 m<sup>3</sup>/d. Odpadní vody z kuchyňského provozu jsou předčištěny v lapáku tuků. Průmyslové odpadní vody vznikají při technologickém procesu mytí výrobků v průběhu výrobního procesu a dále při povrchových úpravách před lakováním výrobků, tj. při procesu odmašťování a fosfátování. Vznikají tedy alkalické a kyselé zaolejované odpadní vody. Roční produkce technologických odpadních vod činí 18 500 m<sup>3</sup>, což činí 74 m<sup>3</sup>/d. Tyto vody jsou čištěny v areálové ČOV. Koncentrované odpadní vody u dokončovacích operací jsou odváženy k likvidaci externí firmou.

#### ***Technologie pro čištění průmyslových odpadních vod***

ČOV galvanovny sestává z chemického stupně čištění s biologickým dočištěním. Odpadní vody z provozu jsou čerpány do několika kontinuálně protékaných srážecích reaktorů, ve kterých probíhá kyselé a alkalické srážení podle charakteru odpadních vod. Chemický kal je oddělován procesem sedimentace a je odvodňován pomocí kalolisu v místě vzniku. Fugát vznikající při odvodňování kalu je veden zpět na začátek čistícího cyklu. Chemicky předčištěná odpadní voda odtéká k dočištění společně se splašky z provozu do biologické ČOV o látkové kapacitě 332 EO. Hydraulická kapacita odpovídá 493 EO. Biologická ČOV

sestává ze dvou aktivačních nádrží a pracuje v režimu předřazené denitrifikace. Vyčištěná odpadní voda se od aktivovaného kalu kontinuálně odděluje v dosazovací nádrži a odtéká do městské kanalizace.

### **2.2.2.2 Mlékárna A (MA)**

Mlékárna A je lokalizována v kraji Vysočina, ve kterém působí jako regionální zpracovatel mléka a převážná většina zpracovávaného mléka pochází především z tohoto kraje. V roce 2013 tato mlékárna zpracovávala už 130 000 litrů mléka za den. Výrobní program mlékárny je převážně zaměřen na výrobu přírodních polotvrdých a tvrdých sýrů holandského typu různého složení, čerstvě stloukaného másla a tvarohu. Dále jsou zde vyráběny tavené sýry a tekuté mléčné výrobky (čerstvé mléko, zákys, smetana).

#### ***Technologie pro čištění průmyslových odpadních vod***

Mlékárna A má ve svém areálu vlastní podnikovou ČOV o látkové kapacitě 6 885 EO, která je určena pro čištění odpadních vod z výroby a sanitační. ČOV je navržena na maximální denní množství odpadních vod 320 m<sup>3</sup>, přičemž celkové roční množství nesmí překročit 119 040 m<sup>3</sup>. Hydraulická kapacita ČOV odpovídá 3 333 EO. Nejvýznamnější odtok z ČOV je pozorovatelný mezi 8. a 16. hodinou, kdy probíhá hlavní směna. Odtok z ČOV je zaústěn do blízkého recipientu vodního toku, ve kterém je průměrný průtok vody 0,9 m<sup>3</sup>/s.

Technologie ČOV je koncipována ze stupně mechanického předčištění, které je zajištěno strojně stíranými česlemi. Následuje stupeň chemické úpravy mechanicky předčištěných odpadních vod, které kontinuálně probíhá dávkováním chemikálií do trubkového směšovače a následnou separací vznikajícího chemického kalu ve flotační jednotce (flotace rozpuštěným vzduchem, DAF). Chemicky předčištěná odpadní voda následně odtéká do stupně biologického čištění. Biologická ČOV je v tomto případě sestavena ze čtyř provzdušňovaných aktivačních nádrží. Hlavním procesem čištění je v tomto případě nitrifikace. V případě potřeby je možné ČOV provozovat v režimu předřazené denitrifikace. Vyčištěná voda se od biologického kalu odděluje ve dvou vertikálních dosazovacích nádržích a odtéká do recipientu. Přebytný chemický a biologický kal jsou v místě ČOV společně odvodňovány ve směsi a následně odváženy k likvidaci. Fugát z odvodnění je vrácen zpět na začátek čistícího cyklu. Chod ČOV je celý řízen automaticky na základě měření a regulace (pH sondy, průtokoměry).

### **2.2.2.3 Mlékárna B (MB)**

Mlékárna B se rovněž nachází v kraji Vysočina. Výrobní program této mlékárny je zaměřen pouze na výrobu tvrdých a tavených sýrů. Ve své podstatě se spíše jedná o sýrárnu.

#### ***Technologie pro čištění průmyslových odpadních vod***

Tato mlékárna má také vlastní ČOV o látkové kapacitě 264 EO situovanou v areálu podniku. Produkce odpadních vod je v tomto případě několika násobně nižší, což ovlivňuje i plochu zabíranou technologií. ČOV je navržena na průměrný denní přítok odpadních vod 40 m<sup>3</sup>, přičemž celkové roční množství nesmí překročit 51 000 m<sup>3</sup>. Hydraulická kapacita ČOV odpovídá 267 EO. V tomto případě je technologie založena na mechanickém předčištění, které zajišťují strojně stírané česle a následně lapák tuků. Z lapáku odtékají odpadní vody do stupně biologického čištění, které tvoří provzdušňovací aktivační nádrž se

třemi selektory a dosazovací nádrž. Aktivační proces pracuje v režimu simultánní denitrifikace. V aktivační nádrži probíhá simultánní srážení fosforu dávkováním roztoku síranu železitého  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  (obchodní název Prefloc) do prvního selektoru. Vyčištěná voda odtéká do recipientu blízkého vodního toku, který dosahuje průměrného průtoku  $1,11 \text{ m}^3/\text{s}$ . Přebytný kal není v místě nijak upravován, je pouze skladován a odvážen k likvidaci na komunální ČOV s kalovým hospodářstvím.

#### **2.2.2.4 Jatka (J)**

Jatka, zvolená pro testování ekotoxicity surových a vyčištěných odpadních vod, jsou situována v Jihomoravském kraji. V rámci výrobního programu je zde porážen dobytek s následným zpracováním vepřového a hovězího masa. Stěžejními výrobky jsou klobásy a šunky. Mezi další produkty patří drobné masné výrobky, měkké salámy, pečené výrobky, speciality, uzená masa, vařené výrobky a živočišné tuky. Jedná se proto o provoz jak s porážkou dobytka a zpracováním masa, tak s výrobou tepelně opracovaných masných výrobků.

#### ***Technologie pro čištění průmyslových odpadních vod***

Podnik má vlastní ČOV o látkové kapacitě 570 EO. ČOV je navržena na maximální denní množství odpadních vod  $38 \text{ m}^3$ , přičemž celkové roční množství nesmí překročit  $9\,065 \text{ m}^3$ . Hydraulická kapacita ČOV odpovídá 396 EO. Technologie sestává ze stupně pro mechanické předčištění, které je zajištěno strojně stíranými česlemi a rotačním bubnovým sítem. Mechanicky předčištěná odpadní voda dále postupuje do stupně chemického předčištění vody, při kterém je odpadní voda kontinuálně mísená s chemikáliemi v trubkovém směšovači a vznikající kal je separován ve flotační jednotce. Chemicky předčištěná voda odtéká do biologické části ČOV k dočištění. Biologická část ČOV sestává ze tří nádrží a pracuje v režimu předřazené denitrifikace. Vyčištěná voda je od aktivovaného kalu separována v dosazovací nádrži a odtéká do recipientu vodního toku, který dosahuje průměrného průtoku  $1,35 \text{ m}^3/\text{s}$ . Přebytný kal není v místě nijak upravován, je pouze skladován a odvážen k likvidaci na komunální ČOV s kalovým hospodářstvím.

#### **2.2.2.5 Dostupná ekotoxikologická data**

Oblasti posuzování možných ekotoxikologických rizik průmyslových odpadních vod a odtoků z průmyslových ČOV není věnována zvláštní pozornost. Ovšem na Katedře biologie a ekologie Přírodovědecké fakulty Ostravské univerzity v Ostravě byla v rámci studentské práce realizována studie za účelem posouzení vlivů různých průmyslových odpadních vod na klíčivost semen hořčice bílé *Sinapis alba*. V rámci studie byly vybrány odpadní vody z nemocnice, blíže nespecifikovaného potravinářského podniku, farmaceutické společnosti a vody po uhašení požáru chemického závodu.

Nejvyšší ekotoxický účinek byl pozorován u vzorku vody po uhašení požáru, kdy byla po jeho aplikaci pozorována inhibice 83 %. U vzorku odpadní vody z potravinářského podniku byla pozorována inhibice růstu kořene 73 %, přičemž koncentrace  $\text{IC}_{50}$  byla stanovena pro 46% roztok. Z vzorku z nemocnice dosáhla inhibice pouze 46 % a z farmaceutického výrobního závodu 44 % (Jadamusová, Sezimová, 2012).

### 2.2.3 Komunální odpadní vody

Již desítky let má každé velké město v ČR komunální ČOV, která slouží pro centrální čištění splaškových odpadních vod produkovaných obyvatelstvem města a jeho městských částí, případně okolních obcí. Centralizovaný systém byl dosud hlavním směrem, kterým se ubíral vývoj technologií pro čištění komunálních odpadních vod. Ovšem ne vždy dovolí okolní podmínky vybudování centralizovaného systému.

A tak v posledních letech nabývá na významu i decentralizovaný systém, který spočívá v budování samostatných ČOV pro jednotlivé obce, případně pro jednotlivé domácnosti. Jedná se o ČOV spadající pod kategorii do 500 EO.

Každý ze systémů má své výhody a nevýhody. Výhody centralizovaného systému spočívají především ve stabilitě a vyšší odolnosti vůči výkyvům hydraulického a látkového zatížení ČOV. Nevýhodou jsou vysoké nároky na vybudování rozsáhlé sítě splaškové kanalizace, s čímž souvisí i nemalé investiční náklady. Oproti tomu decentralizovaný systém je výhodný vzhledem k nižším investičním nákladům, a to především proto, že se jedná o menší stavbu a kanalizace nedosahuje takových délek, jako u systému centralizovaného. Velkou nevýhodou tohoto systému je však malá odolnost vůči výkyvům hydraulického a látkového zatížení. Malé ČOV se obecně hůře vyrovnávají s velkým přítokem odpadních vod a lze je velmi snadno tzv. vypláchnout a vyplavit aktivovaný kal. Při přítoku vysoce koncentrovaných vod je u malých ČOV pouze omezená možnost zředění a snadno lze ČOV přetížit a hrozí tak její kolaps. Takový kolaps se projevuje bytněním kalu, hnilobným zápachem a tvorbou hutné tmavě hnědé vrstvy na hladině aktivační nádrže. Naopak při nedostatečném přítoku, nebo při přítoku nízko koncentrovaných odpadních vod dochází rychleji k vyhladovění ČOV a opět hrozí kolaps. Hladová ČOV se projevuje tvorbou bílé, velmi lehké pěny, připomínající pěnu saponátovou, na hladině aktivační nádrže.

Za účely posouzení vlivu komunálních ČOV, jakožto potenciálních bodových zdrojů znečištění pro přírodní ekosystémy byly vybrány dvě ČOV spadající do kategorie velikosti pod 500 EO.

#### 2.2.3.1 ČOV A (ČA)

Obec, ve které byla vybudována ČOV A, leží v kraji Vysočina. Jedná se o malou obec, ve které v současnosti žije 151 obyvatel (ČSÚ, 2017). V obci byla namísto jednotné stokové sítě vybudována kanalizace oddílná (splašková). V obci není žádný průmyslový podnik. Nachází se zde pouze obecní obchod se smíšeným zbožím, hasičská zbrojnice, knihovna a kulturní dům.

#### *Technologie čištění odpadních vod*

ČOV o kapacitě 150 EO je tvořena jednou biologickou linkou, která sestává ze dvou aktivačních nádrží. ČOV pracuje v režimu předřazené denitrifikace. Splašková odpadní voda je mechanicky předčištěna v česlicovém koši osazeném na nátok do čerpací jímky. Odtud je voda čerpána do aktivačního procesu. Vyčištěná voda se od aktivovaného kalu odděluje v sedimentační nádrži a odtéká do recipientu blízkého vodního toku o neznámé průměrné vodnatosti.

### 2.2.3.2 ČOV B (ČB)

ČOV B byla vybudována v roce 2014 pro nově budovanou místní část obce, ve které se nachází. Jedná se o komplex řadových, bytových a rodinných domů, který je postupně zabydlován. Tato obec leží rovněž v kraji Vysočina. V obci v současnosti žije 538 obyvatel (ČSÚ, 2017). Nachází se zde mateřská i základní škola, hasičská zbrojnice, obecní obchod se smíšeným zbožím. V oblasti zemědělství zde podniká několik soukromých subjektů.

#### ***Technologie pro čištění průmyslových odpadních vod***

ČOV je projektována pro kapacitu 400 EO, přičemž roční množství přivedených odpadních vod nesmí překročit 32 850 m<sup>3</sup>. ČOV je koncipována jako dvoulinková, a to z důvodu postupného připojování obyvatel a navyšování množství odpadních vod na projektovanou kapacitu. Připojování obyvatel stále probíhá. Splašková odpadní voda je mechanicky předčištěna pomocí česlicového koše osazeného na přítoku do čerpací stanice. Odtud je voda čerpána do ČOV. ČOV sestává ze dvou souběžných technologických linek, které jsou tvořeny vždy jednou aktivační a jednou dosazovací nádrží. Čištění je založeno na principu nitrifikace se simultánním srážením fosforu. Vyčištěná voda je oddělena od aktivovaného kalu v dosazovací nádrži a odtéká do recipientu vodního toku.

### 2.2.3.3 Dostupná ekotoxikologická data

U komunálních odpadních vod nebyvají vesměs prováděny ekotoxikologické studie. V posledních letech je hlavní zájem zaměřen na hodnocení ekotoxicity přebytečného kalu vznikajícího na ČOV, a to především za účelem posouzení možnosti vhodnosti jeho aplikace na zemědělskou půdu.

Ve Španělsku bylo například testováno celkem 28 vzorků kalu z komunálních ČOV. Kaly byly rozděleny do pěti kategorií podle technologií kalového hospodářství používaných na posuzovaných ČOV, a to na podkladě aerobní a anaerobní stabilizace, mechanického a termického sušení a kompostování. Prováděná analytická stanovení byla zaměřena na zjištění koncentrace sedmi rizikových prvků (Cd, Cr, Cu, Pb, Zn, Ni, Hg) a organického podílu reprezentovaného fenolickými sloučeninami, polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAHs), polychlorovanými bifenyly (PCBs), polychlorovanými naftaleny (PCNs), polybromovanými difenylethery (PBDEs) a perfluorovanými sloučeninami.

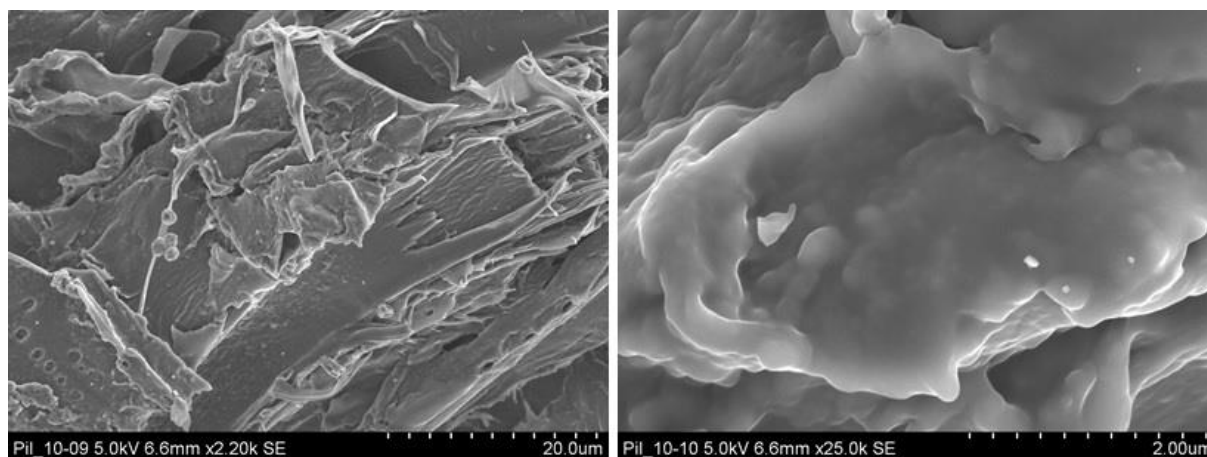
Z výsledku této studie vyplynulo, že nebyla pozorována významná závislost mezi obsahem těžkých kovů v kalu a jeho ekotoxickým působením na testovací organismy. Nejnižší toxicita byla pozorována u kompostovaného kalu. Na podkladě zjištěných výsledků bylo konstatováno, že ekotoxicita kalů může být spíše spojena se stupněm stabilizace kalu a obsahem fenolových a dalších biodegradabilních organických sloučenin než s obsahem rizikových prvků nebo persistentních organických polutantů, tzv. POPs (Roig, 2012).

### 2.2.4 Biochar z biodegradabilních organických materiálů

Pro posouzení vlivu různých typů biocharu na přírodní ekosystémy byly v rámci práce posuzovány laboratorně připravené materiály, vyrobené z různých druhů biomasy za použití různých technologií. Celkem byly posuzovány tři typy biocharu, a to biochar vyrobený z dřevěných pilin, jeho modifikace a biochar vyrobený ze sušeného stabilizovaného přebytečného kalu z komunální ČOV.

#### 2.2.4.1 Biochar A (BA)

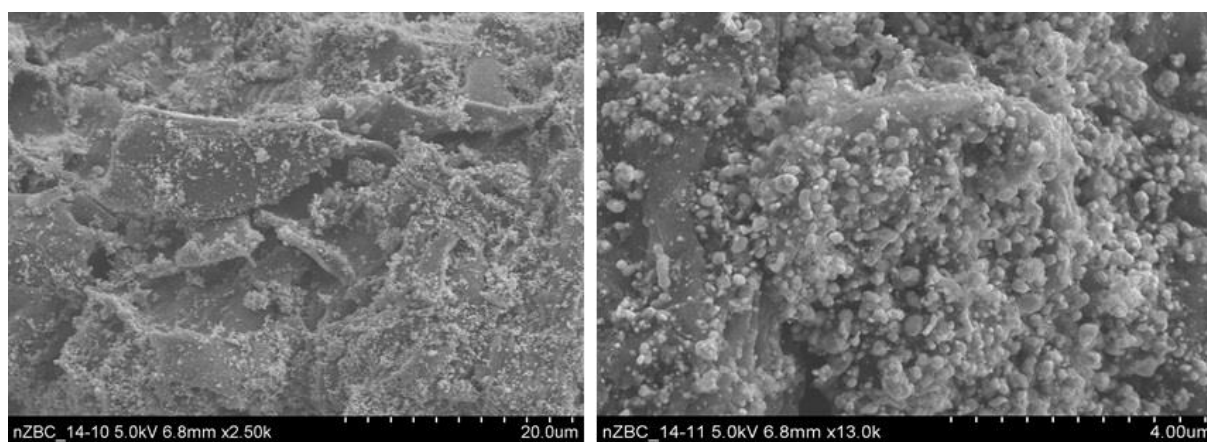
Biochar A byl vyroben pro vědecké účely v Regionálním Centru Pokročilých Technologíí a Materiálů (RCPTM) v Olomouci. Vstupním materiálem pro jeho výrobu byla směs dřevěných pilin z borového a smrkového dřeva. Vzorek byl vyroben pyrolýzním spalováním vstupní biomasy v laboratorní peci v dusíkové atmosféře při teplotě 700 °C po dobu 4 hod. Struktura vzorku je zobrazena na Obr. 3.



Obr. 3. SEM přiblížení struktury biocharu A – obrázek pořízen pomocí skenovací elektronové mikroskopie (RCPTM).

#### 2.2.4.2 Biochar B (BB)

Biochar B (viz Obr. 4) je modifikace biocharu A obohacená o nanočástice nula mocného železa (NZVI). Vzorek byl vyroben pyrolýzním spalováním vstupní biomasy modifikované prekurzorem Fe v laboratorní peci v dusíkové atmosféře při teplotě 700 °C po dobu 4 hod. Dle rentgenové difrakční analýzy (XRD) odpovídá složení vzorku procentuálnímu zastoupení složek krystalické fáze 38 %  $\alpha$ -Fe (ferrit), 12 %  $\gamma$ -Fe (austenit) a 50 % C (grafit). Dle termické analýzy odpovídá složení vzorku 40 % Fe a 60 % C s malým množstvím  $\text{Fe}_3\text{C}$ .



Obr. 4. SEM přiblížení struktury biocharu B – obrázek pořízen pomocí skenovací elektronové mikroskopie (RCPTM).

#### **Dostupná ekotoxikologická data**

Výzkum v oblasti biocharu se nejvíce zaměřuje na porovnávání a hodnocení vlastností jednotlivých produktů vyrobených z různých zdrojů, při různých teplotách a za použití



různých technologií, a to za účelem nalezení technologicky výhodného postupu pro produkci materiálu s výhodnými adsorpčními vlastnostmi, vysokým obsahem živin pro zvýšení zemědělské produkce a s nízkým ekologickým dopadem. Další oblast, na kterou se výzkumy zaměřují, je oblast použití biocharu jakožto adsorbentu toxických prvků (především těžkých kovů) a posouzení míry poklesu toxicity v důsledku jejich adsorpce. Vědeckých studií pro posouzení ekotoxikologického vlivu biocharu, vyrobeného z různých druhů biomasy, na organismy terestrických a akvatických ekosystémů po jeho aplikaci do zemědělské půdy je, oproti jiným, „pouze“ několik desítek.

Například polští vědci ze Zemědělské Univerzity v Krakově společně s kolegy ze Státního výzkumného ústavu (Ústav půdní vědy a pěstování rostlin se sídlem ve městě Puławy) zkoumali v rámci polní studie ekotoxicitu půdy po aplikaci dvou různých biocharů, jednoho vyrobeného ze slámy pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) a druhého ze slámy ozdobnice obrovské (*Miscanthus giganteus*). Každý biochar byl smísen s vrchní vrstvou půdy do hloubky 0,1 m a byl aplikován v dávkách 2,25 t/ha a 5 t/ha, což odpovídá procentuální koncentraci cca 0,12 %, resp. 0,25 %. Horní vrstva půdy byla testována na ekotoxicitu po 18 měsících od zahájení experimentu. Pro bakterie *Vibrio fischeri* byla stanovena hodnota inhibice luminiscence IC50 59 %, resp. 61 % pro biochar ze slámy pšenice seté a IC50 71 %, resp. 52 % pro biochar ze slámy ozdobnice obrovské. Pro korýše *Heterocypris incongruens* byla stanovena hodnota inhibice růstu IC50 39 %, resp. 33 % pro biochar ze slámy pšenice seté a IC50 47 %, resp. 32 % pro biochar ze slámy ozdobnice obrovské. Biochary obohacená půda byla toxická pro bakterie *V. fischeri* a pro korýše *H. incongruens* vykazovala nízkou toxicitu (Mierzwa-hersztek et al., 2017).

Další vědeckou studii zabývající se vlivem teploty pyrolýzy na vlastnosti výstupního biocharu a následně vliv jeho aplikace na reprodukci půdních organismů zpracovali španělsí vědci ve spolupráci s kolegy z USA. V rámci tohoto výzkumu bylo vyrobeno čtrnáct různých biocharů ze sedmi druhů biomasy. Jako zdroj biomasy použili býčí hnůj s pilinami, stébla kukuřice, dubové a borové dřevo, zbytky jídla, odpad z výroby bílého papíru a anaerobně zpracovaný odpad z mlékárny. Biomasu jednotlivě pyrolyticky spálili vždy při nízké teplotě (300 nebo 350 °C) a při vysoké teplotě (550 nebo 600 °C). U získaných čtrnácti vzorků biocharu následně testovali vliv na reprodukci zástupců edafonu, a to na chvostoskocích *Folsomia candida*. Nižší reprodukce organismů oproti kontrole byla prokázána u biocharu ze směsi býčího hnoje a pilin získaného při teplotě 550 °C a u biocharu z kukuřičných stébel a odpadu z papírny získaného při teplotě 350 °C, resp. 300 °C. Naopak stimulace reprodukce byla prokázána u vzorků biocharu z býčího hnoje s pilinami a dubového dřeva získaných při 350 °C a dále u biocharu ze zbytků potravy získaného při teplotě 300 °C. Testy zbývajících vzorků vykazovaly obdobnou míru reprodukce organismů jako kontrolní skupiny (Domene et al., 2015).

Bastos s kolektivem prezentuje ve své studii publikované v roce 2014 výsledky získané pro toxicitu biocharu vyrobeného z borovicové dřevní štěpky. V rámci studie testovali vodné výluhy z biocharu a jím upravené půdy v dávce 80 t/ha, což odpovídá hmotnostní procentuální koncentraci cca 7 %. Pro bakterii *V. fischeri* stanovili hodnotu EC<sub>50</sub> samotného biocharu 30,9 % po 5 minutové expozici, respektive 33,1 % po 15 minutové expozici. U upravené půdy stanovili EC<sub>50</sub> na 75,8 %, resp. 90,7 %. Prostřednictvím korýše *Daphnia magna* byly stanoveny hodnoty EC<sub>20</sub> 79,3 % a EC<sub>10</sub> 54,6 % po 48 hodinách expozice pro biochar. U výluhu upravené půdy pozorovali míru imobilizace 25 %. Pro řasu *Pseudokirchneriella subcapitata* nebyly pozorovány významné inhibiční účinky u žádného

vzorku. U výluhu upravené půdy byla pozorována míra inhibice pouhých 10 % (Bastos et al., 2014).

V roce 2010 publikovali američtí vědci studii zaměřenou na toxicitu dvou různých biocharů, vyrobených z borovicové štěpky a drůbeží podestýlky, pro žížaly *Eisenia fetida*. Testy proběhly v laboratorních podmínkách, kdy byla obohacena standardní umělá půda vždy jedním biocharem v dávkách 0; 22,5; 45; 67,5 a 90 t/ha, což odpovídá koncentracím cca 2,4; 4,7; 7,1 a 9,4 %. V testech s biocharem z drůbeží podestýlky byla pozorována významná mortalita a tedy i markantní úbytek hmotnosti organismů, přičemž u vzorků s dávkou 67,5 a 90 t/ha bylo dosaženo 100% úbytku. Podle autorů to bylo způsobeno vysokým obsahem amoniaku, který zapříčinil změnu pH půdy a to mělo fatální následky pro organismy. Co se týče testů s biocharem z borovicové štěpky, zde nebyly pozorovány významné toxické účinky, s výjimkou testu s dávkou 45 t/ha, kdy byl pozorován úbytek hmotnosti přes 40 % (Liesch et al., 2010).

Další studie polských vědců publikovaná v roce 2013 je zaměřena na posouzení vlivů čtyř různých biocharů vyrobených ze sloní trávy (*Mischantus*) BC-M, kokosových skořápek BC-O, proutí BC-W a pšeničné slámy BC-2. Zde byla použita kompletní baterie testů zahrnující organismy všech trofických úrovní. V kontaktním testu na rostlině *Lepidium sativum* (řeřicha setá) byla prokázána inhibice růstu způsobená půdou obohacenou vzorky BC-M a BC-2 v 10% koncentraci, a to 92 %, resp. 58 %. U bakterie *V. fischeri* byl pozorován inhibiční účinek výluhu všech vzorků, nejvyšší však opět u vzorků BC-M a BC-2, a to 99 %, resp. 85 %. U řasy *Selenastrum capricornutum* byla pozorována největší míra inhibice u výluhu vzorků BC-O a BC-W, a to 26,5 %, resp. 21 %. U prvoka *Tetrahymena thermophila* byla pozorována největší míra mortality u výluhů vzorků BC-O a BC-2, a to 16,8 %, resp. 15,1 %. Největší citlivost vykazoval korýš *D. magna*, u kterého byla pozorována 100% mortalita ve všech případech, s výjimkou vzorku BC-O. V důsledku toho byly dále testovány 10x zředěné výluhy, přičemž byla pozorována nejvyšší mortalita u vzorků BC-M a BC-2 (Oleszczuk et al., 2013).

#### 2.2.4.3 Biochar C (BC)

Biochar C byl vyrobený ve výzkumném centru AdMaS v Brně pomocí mikrovlnné pyrolýzy. Proces byl zahájen na startovní teplotě 18 °C při podtlaku -398 mba. Celkový čas pálení byl 90 minut, přičemž bylo dosaženo nejvyšší teploty 231 °C při výkonu mikrovlnného záření 130 MW/V.

Vstupní materiál pro výrobu biocharu C pochází z komunální ČOV o kapacitě 80 000 EO. ČOV je mechanicko-biologická s biologickým odstraňováním dusíku a chemickým srážením fosforu. Průměrný denní přítok na ČOV dosahuje až 24 000 m<sup>3</sup>.

Vznikající přebytečný kal je zpracováván v rámci kalového hospodářství dané ČOV. Kal je částečně zahuštěn ve flotační nádrži, případně pomocí zahušťovací odstředivky. Zahuštěný kal je následně stabilizován ve vyhnívacích nádržích. Stabilizovaný kal z vyhnívacích nádrží je dále homogenizován s kaly sváženými z okolních menších ČOV, které nemají vlastní kalové hospodářství. Tento homogenizovaný kal je odvodňován v odstředivkách a finálně je vysušen v nízkoteplotní pásové sušárně kalů pomocí horkého vzduchu. Výstupní suchý granulát (SG), o obsahu sušiny cca 90 %, byl použit pro výrobu biocharu C (BC).

### ***Dostupná ekotoxikologická data***

Vědci z polské Zemědělské Univerzity v Krakově studovali vliv termické přeměny stabilizovaného čistírenského kalu na koncentraci těžkých kovů a v rámci toho posuzovali toxicitu výluhů výstupního biocharu pro řeřichu setou *L. sativum*. Zaměřili se na kaly ze tří ČOV ve městech Krakow, Krzeszowice a Słomniki. Biochar z ČOV Krakow a Krzeszowice měl dle autorů práce stimulační účinky, kdy kořeny řeřichy byly v testech s biochary o 6,5 % delší. Naopak u biocharu vyrobeného z kalu ČOV Słomniki byla prokázána inhibice růstu kořene, a to 25,15 % (Gondek and Mierzwa-Hersztek, 2017). V tomto případě autoři v práci uvádějí hodnotu inhibice 75 %. Při uvážení, že průměrná délka kořínků v kontrolním nasazení byla 50,1 mm a průměrná délka kořínků v nasazení s výluhem biocharu z ČOV Słomniki byla 37,5 mm, není taková míra inhibice možná. Předpokládám, že se jedná o chybu při výpočtech hodnot inhibice růstu kořene.

Tito autoři se rovněž zabývali vlivem teploty pyrolýzy na koncentraci makroprvků, stopových prvků a polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs) a v rámci toho posuzovali míru toxického účinku biocharu z různých druhů biomasy pro bakterie *V. fischeri*. Ekotoxicitu testovali u vzorků biocharu z pšeničné slámy (WSB), řepkové slámy (RSB), slámy ozdobnice *Miscanthus* (MSB), pilin jehličnatých stromů (SB), kůry z jehličnatých stromů (BB) a listů stromů (LTB). Ekotoxický účinek jednotlivých vzorků rostl v řadě WSB<BB<RSB<LTB<MSB<SB, s hodnotami EC<sub>50</sub> (%) 112<49<37<25<17<14. Výluh vzorku WSB lze proto klasifikovat do II. třídy toxických sloučenin, tzn. mírná akutní toxicita a nízké akutní riziko a výluhy zbývajících vzorků do III. třídy toxických sloučenin, tzn. významný toxický účinek a akutní nebezpečí (Gondek et al., 2017).

V roce 2015 Anna Zielińska a Patryk Oleszczuk publikovali výsledky studie zaměřené na posouzení vlivu procesu pyrolýzy na obsah PAHs a stopových prvků (těžkých kovů) a rovněž na míru ekotoxického účinku kalu před a po termické přeměně. Jako vzorky vybrali kaly ze čtyř ČOV různě situovaných v Polsku, a to ve městech Koszalin (KN), Kalisz (KZ), Chełm (CM) a Suwałki (SI). Z každého kalu vyrobili biochar při teplotách 500, 600 a 700 °C. Pro řeřichu setou *L. sativum* vykazovaly nejvyšší toxicitu všechny vzorky surového kalu. S klesající teplotou pyrolýzy klesala i toxicita biocharů, přičemž biochary vyrobené při 500 °C vykazovaly stimulační efekt na růst kořene rostlin. Výjimkou byly vzorky z ČOV SI, kdy všechny produkty pyrolýzy vykazovaly stimulační efekt. Pro bakterii *V. fischeri* byly opět všechny kaly toxické v řadě CM<SI<KZ<KN, a to s hodnotami EC<sub>50</sub> 17, 13, 10 a 1 %. Ze vzorků biocharu byly vysoce toxické vzorky CM700 a KN700 s hodnotou EC<sub>50</sub> 5,16 %, resp. 0,16 %. Pro korýše *D. magna* vykazovaly nejvyšší toxicitu výluhy vzorků SI700 a KZ700. Nejnižší mortalita byla pozorována u výluhů všech vzorků biocharu vyrobených při teplotě 500 °C. Z testu vyplývá, že pro perloočku nebyly nejtoxičtější surové kaly, jak tomu bylo u předchozích dvou testů (Zielińska and Oleszczuk, 2015).

## 2.3 Vybrané metody pro sledování ekotoxicity

### 2.3.1 Ekotoxikologické testy

Předložená práce je zaměřena na posuzování vlivu vybraných bodových zdrojů znečištění na vodní a půdní ekosystémy prostřednictvím ekotoxikologických testů.

Ekotoxikologie je vědní disciplína, která je zaměřena na toxické účinky chemických látek a produktů antropogenní činnosti. Zabývá se studiem vlivů kontaminantů (stresorů) na živé organismy, jejich populace a společenstva. Pro ekotoxikologické testování je využíváno rozdílné citlivosti druhů ze všech trofických úrovní (bakterie, rostliny, bezobratlé organismy i vybrané obratlovce). S ohledem na studovaný ekosystém jsou využívány jak vodní, tak půdní organismy.

### 2.3.2 Testy v akvatickém uspořádání

Testy v akvatickém uspořádání jsou vhodné pro testování kontaminovaných vod, výluhů testovaných matric a roztoků kontaminantů, které jsou přímo ve styku s testovacím organismem. Testy v akvatickém uspořádání lze rozdělit do dvou podskupin, a to na testy s vodními organismy a na testy s organismy terestrickými. Účelem tohoto testování je stanovit efekt rozpuštěné chemické látky nebo výluhu testované matrice na organismy, které mohou být testovanou látkou v příslušném ekosystému zasaženy.

Testy s vodními organismy jsou koncipovány tak, že jsou testovací organismy nasazeny do roztoku testované látky. Roztok v tomto případě představuje životní prostředí organismu. Po stanovenou dobu testování je sledována vitalita organismů a jsou hodnoceny endpointy jako je mortalita, imobilizace, inhibice růstu, inhibice rozmnožování aj. V rámci práce byli pro testování vybráni reprezentativní zástupci vodních organismů rostlina *Lemna minor*, korýši *Daphnia magna* a *Thamnocephalus platyurus* a bakterie *Vibrio fischeri*.

Testy s terestrickými organismy jsou koncipovány obdobně, přičemž jsou využívány především semena nebo sazečky suchozemských rostlin. Pokud se jedná o sazečky, je koncept testu obdobný jako u akvatických organismů. Sazečky rostliny jsou nasazeny do nádobek s roztokem toxikantu a je sledován vývoj růstu jejich kořene. V případě semen rostlin se posuzuje inhibice, příp. stimulace jejich klíčivosti, na základě délky kořene po několika dnech inkubace v kontaktu s toxikantem, který je zprostředkován filtračním papírem nasáknutým testovaným roztokem. V rámci práce byly pro testování vybrány reprezentativní zástupci terestrických organismů semínka hořčice bílé *Sinapis alba* a sazečky cibule *Allium cepa* L.

### 2.3.3 Testy v kontaktním uspořádání

Testy v kontaktním uspořádání jsou určeny pro posuzování pevných kontaminantů nebo látek s nízkou rozpustností, případně pro posouzení kontaminovaných pevných matric (půdy, sedimenty).

Rovněž testy v kontaktním uspořádání lze rozdělit na skupiny testů využívající vodní a také půdní organismy. Mezi testy s vodními organismy patří např. Ostracodtoxkit F<sup>TM</sup>, který využívá bentického korýše *Heterocypris incongruens*, a to nejčastěji ke zjištění ekotoxicity sedimentů, popř. kalů. Vzhledem k charakteru zkoušených vzorků nebyly v rámci práce kontaktní testy s vodními organismy využity. Naopak byly využity testy s reprezentativními půdními organismy žížalou *Eisenia fetida* a chvostoskokem *Folsomia candida*.

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Příprava a zpracování vzorků

Pro posouzení vybraných zdrojů znečištění bylo vybráno pět hasebních prostředků, čtyři průmyslové ČOV, dvě komunální ČOV a čtyři druhy biocharu. U hasebních prostředků byly testovány jednak pracovní roztoky a jednak infiltráty zachycené po průchodu dvěma různými půdními matricemi. U všech ČOV byla testována vyčištěná voda na odtoku, u vybraných průmyslových ČOV pak i přitékající odpadní voda. U jednoho typu biocharu byl k dispozici vzorek vstupního materiálu, který byl pro možnost porovnání rovněž otestován. Vstupní kal i z něho vyrobený biochar byly v tomto případě testovány v surové a mleté formě. Za účelem posouzení možného ekotoxického účinku vybraných bodových zdrojů znečištění bylo tedy celkem posuzováno 31 vzorků.

#### 3.1.1 Hasební prostředky

V rámci testování pěnových hasebních prostředků byly připraveny pracovní roztoky a filtráty imitující proces infiltrace do půdní matrice.

##### 3.1.1.1 Pracovní roztoky

Pracovní roztoky byly připraveny naředěním demineralizovanou vodou tak, aby reflektovaly koncentrace běžně používané v praxi. Z prostředků EF-15, FF-15, MAF-15 a PB byly připraveny vodné roztoky o koncentraci 3 %. Vodný roztok prostředku SF-15 byl připraven v koncentraci 5 %.

##### 3.1.1.2 Filtráty

Pro přípravu vzorků filtrátů byla navržena a sestavena kolonová aparatura pro infiltraci. Aparatura byla složena ze skleněného válce se specifickými rozměry (viz Obr. 5). Dno válce bylo opatřeno sterilní propustnou tkaninou, která plnila dvě funkce. Jednak držela půdní matrici ve válci a jednak propouštěla filtrát odcházející z kolony. Do takto připravené kolony byla nasypána standardní půdní matrice ve výšce 30 cm, která odpovídá průměrné výšce svrchní vrstvy půdy a rovněž hloubce používané pro infiltrační experimenty *in-situ* (Johnson, 1963; Mijangos and Garbisu, 2010; Hirzel and Matus, 2013). Pro každý infiltrační proces bylo použito  $740 \pm 5,0$  g půdní matrice. Pro porovnání vlivu půdní matrice na změnu ekotoxického účinku byly použity dva různé typy půdní matrice, a to standardní půda Lufa 2.2 a Lufa 2.3.



Obr. 5. Aparatura pro infiltrační experiment – jímání filtrátů jednotlivých hasebních prostředků (vlastní foto).

Do takto připravené kolony byl nalit jeden litr připraveného pracovního roztoku, přičemž proces infiltrace probíhal spontánně vlivem gravitace. Vystupující filtrát z kolony byl jímán do kádinky a následně byl uchován pro testování ekotoxicity. Objem získaného filtrátu na konci experimentu činil vždy  $825 \pm 25$  ml. V rámci infiltračního pokusu vždy došlo k poklesu půdy o  $6,0 \pm 0,5$  cm, výška půdního sloupce na konci experimentu tedy byla  $24 \pm 0,5$  cm.

Takto byly připraveny vzorky filtrátů vždy ze dvou různých půdních matric od každého hasebního prostředku zvlášť. Vlastnosti jednotlivých pracovních roztoků a filtrátů shrnuje Tab. 2.

Tab. 2. Přehled základních fyzikálně-chemických vlastností připravených vzorků.

Pracovní roztok			Filtrát Lufa 2.2			Filtrát Lufa 2.3		
Vzorek	pH	$\gamma$ ( $\mu\text{S/cm}$ )	Vzorek	pH	$\gamma$ ( $\mu\text{S/cm}$ )	Vzorek	pH	$\gamma$ ( $\mu\text{S/cm}$ )
EF-15	8,93	1 125	E2.2	6,00	772	E2.3	7,90	1 102
FF-15	7,87	1 127	F2.2	5,40	1 049	F2.3	7,61	1 091
MAF-15	8,06	325,0	M2.2	5,00	469	M2.3	7,45	695,0
PB	7,68	1 059	P2.2	4,60	1 566	P2.3	7,44	1 735
SF-15	9,08	1 619	S2.2	5,80	1 258	S2.3	7,22	1 208

### 3.1.2 Vybrané ČOV

V rámci hodnocení ČOV jakožto potenciálních bodových zdrojů znečištění byly odebrány vzorky na dvou malých komunálních ČOV, které spadají do velikostní kategorie pod 500 EO. Další vzorky byly odebrány na čtyřech průmyslových ČOV, reprezentující různé průmyslové oblasti.

#### 3.1.2.1 ČOVA

Na ČOV A byl odebrán vzorek vody na odtoku do recipientu (vzorek ČAO). Několik dní před odběrem vzorku byla ČOV znovu uvedena do provozu po kolapsu. V době odběru vzorku se tedy ČOV zapracovávala a čistící proces ještě neměl nejvyšší možnou účinnost. Vzorek vody na odtoku byl kalný a zbarvený do hněda. Vlastnosti vzorku reprezentuje Tab. 3, která shrnuje výsledky rozborů v základních ukazatelích znečištění.

Tab. 3. Výsledky rozborů odpadních vod v rozsahu sledovaném v rámci provozu ČOV.

Ukazatel	Zkratka	Limity		Odtok z ČOV (mg/l)
		„p“	„m“	Vzorek ČAO
Biochemická spotřeba kyslíku za pět dní	BSK <sub>5</sub>	25	50	10,5
Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným	CHSK <sub>Cr</sub>	80	120	98,0
Nerozpuštěné látky	NL	25	50	45,7
Amoniakální dusík	N-NH <sub>4</sub>	N	n	0,429
Amoniak a amonné ionty jako NH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N	n	0,553

n – limit nestanoven

#### 3.1.2.2 ČOV B

Na ČOV B byl také odebrán vzorek vody na odtoku do recipientu (vzorek ČBO). Tato ČOV byla v době odběru vzorku ve stavu po šestihodinovém výpadku proudu. Obecně by výpadek proudu kratší 24 hodin neměl nijak významně ohrozit funkci ČOV. U malých ČOV o kapacitě menší než 500 EO by mohla mít i šestihodinová absence kyslíku vliv na efektivitu čistícího procesu. Základní ukazatele znečištění daného vzorku jsou zřehledněny v Tab. 4.

Tab. 4. Výsledky rozborů odpadních vod v rozsahu sledovaném v rámci provozu ČOV.

Ukazatel	Zkratka	Limity		Odtok z ČOV (mg/l)
		„p“	„m“	Vzorek ČBO
Biochemická spotřeba kyslíku za pět dní	BSK <sub>5</sub>	20	50	10
Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným	CHSK <sub>Cr</sub>	105	160	74
Nerozpuštěné látky	NL	30	50	5

### 3.1.2.3 ČOV MA

Na ČOV mlékárny A byl rovněž odebrán vzorek vody na odtoku do recipientu (vzorek MAO). Tato ČOV byla v běžném provozu bez výskytu poruch či výjimečných situací. V době odběru byly všechny technologické celky v provozu a bez poruch. Kvalita vzorku je uvedena v Tab. 5, která shrnuje výsledky rozborů v základních ukazatelích znečištění.

Tab. 5. Výsledky rozborů odpadních vod v rozsahu sledovaném v rámci provozu ČOV.

Ukazatel	Zkratka	Limit		Odtok (mg/l)
		„p“	„m“	Vzorek MAO
Reakce vody	pH	6,0 – 8,5		7,90
Biochemická spotřeba kyslíku za pět dní	BSK <sub>5</sub>	30	60	21,7
Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným	CHSK <sub>Cr</sub>	120	240	62,7
Nerozpuštěné látky	NL	50	90	18,4
Amoniakální dusík	N-NH <sub>4</sub>	10	20	3,60
	N-NH <sub>4</sub> (Z)	15	25	
Celkový dusík	N <sub>c</sub>	30	45	15,2
	N <sub>c</sub> (Z)	40	55	
Celkový fosfor	P <sub>c</sub>	5	10	1,22
Extrahovatelné látky	EL	10	20	< 10,0
Adsorbovatelné organické halogeny	AOX	0,3	0,55	0,081

### 3.1.2.4 ČOV MB

V případě ČOV mlékárny B byl odebrán vzorek vody jak na přítoku ČOV (vzorek MBP), tak na jejím odtoku (vzorek MBO). Celkem byly odebrány vzorky dva pro posouzení vlivu procesu chemického a biologického čištění na změnu ekotoxického účinku. V době odběru



byla ČOV v běžném provozu bez detekovaných poruch nebo výjimečných stavů. Tab. 6 zobrazuje výsledky rozborů v základních ukazatelích znečištění.

Tab. 6. Výsledky rozborů odpadních vod v rozsahu sledovaném v rámci provozu ČOV.

Ukazatel	Zkratka	Limity		Přítok (mg/l)	Odtok (mg/l)
		„p“	„m“	Vzorek MBP	Vzorek MBO
Reakce vody	pH	6,0 – 8,5		7,04	6,99
Biochemická spotřeba kyslíku za pět dní	BSK <sub>5</sub>	30	45	396	3,4
Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným	CHSK <sub>Cr</sub>	120	150	742	22,0
Nerozpuštěné látky	NL	50	65	169	< 5,0
Celkový dusík	N <sub>c</sub>	30 (50 <sup>Z</sup> )	60 (70 <sup>Z</sup> )	52,1	2,8
Amoniakální dusík	N-NH <sub>4</sub>	10 (18 <sup>Z</sup> )	15 (20 <sup>Z</sup> )	23,0	0,178
Celkový fosfor	P <sub>c</sub>	5	8	14,8	0,619
Adsorbovatelné organické halogeny	AOX	0,5	0,7	0,161	0,055
Extrahovatelné látky	EL	10	15	144	< 0,200

<sup>Z</sup> – limit pro zimní období (hodnota platí pro období, ve kterém je teplota odpadní vody na odtoku z biologického stupně nižší než 12 °C)

### 3.1.2.5 ČOV J

I v případě ČOV jatek byl odebrán vzorek odpadní vody na přítoku do ČOV (vzorek JP) a vzorek vyčištěné vody na jejím odtoku (vzorek JO). V době odběru vzorku byla i tato ČOV v režimu standardního provozu bez poruch nebo výjimečných stavů. Vlastnosti vzorku reprezentuje Tab. 7, která shrnuje výsledky rozborů v základních ukazatelích znečištění.

Tab. 7. Výsledky rozborů odpadních vod v rozsahu sledovaném v rámci provozu ČOV.

Ukazatel	Zkratka	Limity		Přítok ČOV (mg/l)	Odtok z ČOV (mg/l)
		„p“	„m“	Vzorek JP	Vzorek JO
Reakce vody	pH	6,0 – 8,5		6,56	7,34
Biochemická spotřeba kyslíku za pět dní	BSK <sub>5</sub>	30	40	1 800	2,9
Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným	CHSK <sub>Cr</sub>	150	170	3 140	26
Nerozpuštěné látky	NL	30	40	844	< 5,0
Amoniakální dusík	N-NH <sub>4</sub>	20	40	14,8	0,206
Celkový dusík	N <sub>c</sub>	40	60	172	4,9
Celkový fosfor	P <sub>c</sub>	2	5	31,3	< 0,050
Extrahovatelné látky	EL	7	8	1 012	0,33

### 3.1.2.6 ČOV G

Na ČOV galvanovny byl odebrán vzorek odpadní vody před vstupem do chemické ČOV (vzorek GP) a na jejím výstupu (vzorek GO), tj. před vstupem na biologickou část. Protože odtok biologické ČOV je zaústěn do městské kanalizace a je proto zajištěno další dočištění těchto odpadních vod ve směsi se splašky z celého města, bylo v tomto případě posuzování vlivu čištění na míru ekotoxicity vztaženo pouze na chemickou ČOV. Výsledky rozborů v základních ukazatelích znečištění vzorku jsou uvedeny v Tab. 8.

Tab. 8. Výsledky rozborů odpadních vod v rozsahu sledovaném v rámci provozu ČOV.

Ukazatel	Zkratka	Limit pro vypouštění do kanalizace (mg/l)	Přítok CHČOV (mg/l)	Odtok CHČOV (mg/l)
			Vzorek GP	Vzorek GO
Reakce vody	pH	6,0 – 8,5	7,130	9,340
Biochemická spotřeba kyslíku za pět dní	BSK <sub>5</sub>	200	269,3	193,4
Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným	CHSK <sub>Cr</sub>	500	841,3	586,7
Nerozpuštěné látky	NL	200	116,2	12,23
Rozpuštěné látky	RL	5 000	679,0	1673,3
Celkový dusík	N <sub>c</sub>	35	41,67	31,77
Celkový fosfor	P <sub>c</sub>	3	31,20	0,2845
Chloridy	Cl <sup>-</sup>	1 000	28,80	170,1
Fluoridy	F <sup>-</sup>	2	10,21	4,853
Nikl	Ni	0,1	0,1167	0,0561
Olovo	Pb	0,025	0,0235	<0,01
Zinek	Zn	0,75	0,2637	0,0065

### 3.1.3 Vybrané typy biocharu

Ze všech vzorků biocharu byly v souladu s metodikou připraveny výluhy (viz. Obr. 6) podle Vyhlášky MŽP ČR č. 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 Příl. 2.

#### *Příprava vodného výluhu*

Pro přípravu jednoho litru vodného výluhu bylo naváženo vždy  $100 \pm 1$  g sušiny vzorku. Sušina vzorku byla stanovena podle ČSN ISO 11465. Množství pevného vzorku bylo převedeno do plastové vzorkovnice a bylo k němu přidáno takové množství vody, aby bylo se vzorkem v poměru 10:1. Takto připravené vzorkovnice byly uzavřeny a upnuty do laboratorní třepačky Heidolph REAX 20. Po dobu 24 hodin probíhalo vyluhování v třepačce otáčením vzorkovnic metodou „hlava-pata“ při otáčkách 5 až 10 ot./min. Po uplynutí doby vyluhování byly vzorkovnice postaveny do statické polohy a jejich obsahy byly ponechány sedimentovat. Protože pevné vzorky obsahovaly vysoký podíl jemných částic, byla zvolena doba

sedimentace 60 minut. Jednotlivé výluhy (viz Obr. 6) byly zfiltrvány pomocí papírového filtru o porozitě 5  $\mu\text{m}$ . Protože přefiltrované vzorky BC a SG stále obsahovaly velké množství jemně dispergovaných částic, které prošly filtrem, byly výluhy dále upraveny centrifugací, pomocí které bylo dosaženo separace pevného podílu z vodného výluhu (ČSN EN 12457-4, 2003).



Obr. 6. Výluhy jednotlivých vzorků biocharu po 24 hodinách třepání v pořadí zleva SG\_M, BC\_M, BA, BB (vlastní foto).

### 3.1.3.1 Biochar A (BA)

Vzorek BA byl obdržen ve formě jemného prášku. Vzorek byl výrazně lehčí, než vzorek BC. Vzorek BA měl ve stejném objemu jako vzorek BC hmotnost 15 g, zatímco vzorek BC měl hmotnost 100 g. Z důvodu nedostatku vzorku a jeho nízké hmotnosti byl připraven zředěný výluh v poměru 15 g BA a 985 ml vody.

### 3.1.3.2 Biochar B (BB)

Vzorek BB byl obdržen rovněž ve formě jemného prášku. Vzorek byl opět výrazně lehčí, než vzorek BC. Vzorek BB měl ve stejném objemu jako vzorek BC hmotnost 15 g, zatímco vzorek BC měl hmotnost 100 g. Z důvodu nedostatku vzorku a jeho nízké hmotnosti byl připraven zředěný výluh v poměru 15 g BB a 985 ml vody.

### 3.1.3.3 Biochar C (BC)

Vzorky SG a BC byly obdrženy v granulované formě. Z obou vzorků byly připraveny výluhy v poměru 100 g vzorku a 900 ml vody. Pro přípravu jednotlivých výluhů od každého vzorku byly vzorky rozemlety v laboratorním mlýnku na jemný prach.

Tab. 9. Základní parametry výluhů jednotlivých vzorků biocharu.

Vzorek	pH	Konduktivita (μS/cm)
BA	8,15	127,3
BB	8,50	83,90
BC	7,01	2 280
SG	6,96	3 960

## 3.2 Ekotoxikologické hodnocení vybraných bodových zdrojů znečištění

### 3.2.1 Testy v akvatickém uspořádání

#### 3.2.1.1 Testy s vodními organismy

Pro posouzení působení vybraných bodových zdrojů znečištění byly vybrány testy v akvatickém uspořádání využívající zástupce všech trofických úrovní, a to konzumenty - vodní bezobratlé organismy korýše *T. platyurus* a hrotnatky *D. magna*, dále destruenty - bakterie *V. fischeri*, a producenty - vodní rostlinu okřehek menší *L. minor*. Tyto testy dohromady tvoří baterii testů pro komplexní posouzení vlivů kontaminantů na vodní ekosystém jako celek.

#### ***Thamnotoxkit F<sup>TM</sup> (Microtox<sup>®</sup>)***

Thamnotoxkit F<sup>TM</sup> je jedním z testů Microtox<sup>®</sup>. V podstatě se jedná o testovací sadu, jejíž použití má za účel ušetřit čas a náklady vynaložené na chov testovacích organismů. Sada obsahuje dormantní testovací organismy, tzn. organismy udržované v latentní fázi do doby testování.

K životu jsou organismy přivedeny aplikací živného média a následnou inkubací za přesně stanovených podmínek. Test využívá jako testovací organismus korýše *T. platyurus*, jehož přirozeným životním prostředím jsou převážně stojaté vody. Lokality s největším výskytem tohoto organismu se nacházejí v Severní Americe a v Mexiku. Pro ekotoxikologické testování jsou využívána larvální stádia vylíhnutá z cyst.

Test je určen pro stanovení akutní toxicity. Celková doba trvání testu je 48 hodin, přičemž 24 hodin je doba potřebná pro líhnutí organismů z cyst. Jako výsledek testu je stanovena hodnota 24hLC50. Výsledky testu je možné získat už za dva dny, a proto je možné relativně rychle posoudit míru nebezpečnosti podezřelé látky (Microbiotests Inc, 1995b).

#### **Postup práce:**

*Příprava standardní sladké vody (SSV):* do odměrné baňky o objemu jeden litr byly převedeny obsahy vialek č. 1 – 4 s koncentrovanými roztoky dodávanými v sadě. Odměrná

baňka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku a její obsah byl promíchán. Před použitím byla SSV provzdušňována po dobu minimálně 15 minut.

*Příprava a zpracování vzorků:* byla připravena koncentrační řada vzorku E2.3 v rozsahu 0 - 100 ml/l ředěním SSV.

*Líhnutí cyst testovacího organismu:* do odměrné baňky o objemu 20 ml bylo odměřeno 2,5 ml SSV. Baňka byla doplněna po rysku deionizovanou vodou a její obsah byl promíchán. Takto bylo připraveno médium pro líhnutí cyst naředěním SSV v poměru 1:8. Pomocí média byla provedena rehydratace cyst. Do vialky s cystami byl přidán cca 1 ml média. Vialka byla v dalších 30 minutách pravidelně manuálně protřepávána. Do plastové Petriho misky bylo aplikováno 10 ml média, do kterého byly následně převedeny hydratované cysty. Petriho miska uzavřená víčkem byla uložena do inkubátoru, ve kterém bylo udržováno stabilní osvětlení o intenzitě 3 000 až 4 000 lux a teplota 25 °C. Po 20 až 22 hodinách byli vylíhnutí jedinci použiti pro testování akutní ekotoxicity.

*Nasazení organismů do testu:* byla připravena koncentrační řada testovaného vzorku, přičemž pro ředění byla použita SSV. Jednotlivé roztoky byly plněny do testovací destičky, která je tvořena šesti testovacími šachtami ve čtyřech řadách. Celkem tak lze testovat pět různých koncentrací vzorku společně s kontrolním testem ve třech opakováních. Šachty v řadě D slouží jako mycí šachty, aby nedocházelo k rozředování vzorku médiem. Do každé šachty byl převeden 1 ml příslušného vzorku a následně bylo z mycí šachty pomocí pipety převedeno 10 jedinců. Takto připravená destička byla přikryta parafilmem a byla uložena k inkubaci do temna při 25 °C po dobu 24 hodin (Microbiotests Inc, 1995b).

*Referenční test se standardní látkou:* referenční test slouží k ověření optimální citlivosti organismů za pomoci látky, u které je známá standardní hodnota ekotoxického účinku pro daný organismus. Byla připravena koncentrační řada roztoku dichromanu draselného  $K_2Cr_2O_7$  v koncentracích 0,032; 0,056; 0,1; 0,18 a 0,32 mg/l. Výsledek testu byl porovnán s validovanou hodnotou standardní látky za účelem ověření správného nasazení testu a vhodné citlivosti testovacích organismů (Microbiotests Inc, 1995b).

*Vyhodnocení testu:* po 24 hodinách byli spočítáni živí jedinci v každém nasazení. Z těchto dat byla dle rovnice (1) vypočtena procentuální míra imobilizace  $Im$  pro každou koncentraci.

$$(1) Im = \frac{N_c - N_i}{N_c} \cdot 100 \%,$$

kde  $N_c$  je počet živých jedinců v kontrolním nasazení a  $N_i$  je počet živých jedinců v testované koncentraci. Výsledky imobilizace  $Im$  byly vyneseny do souřadnicového systému oproti koncentracím vyjádřeným v logaritmických hodnotách na ose  $x$ . Pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota EC50 (Microbiotests Inc, 1995b).

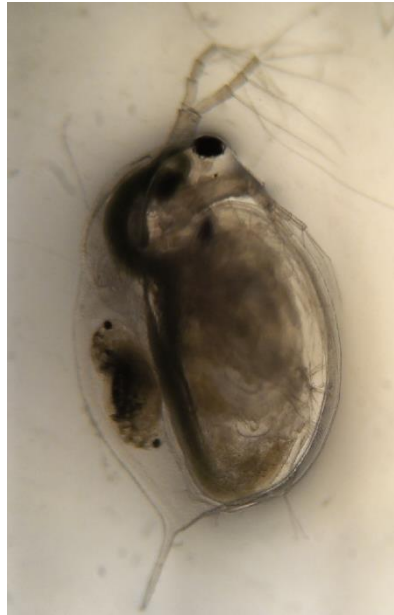
### ***Daphtoxkit F<sup>TM</sup> magna (Microtox<sup>®</sup>)***

Daphtoxkit F<sup>TM</sup> je dalším z testů Microtox<sup>®</sup>. Testovací sada obsahuje klidová stádia testovacích organismů ve formě tzv. ehippií. Organismy jsou tak opět udržovány v latentní fázi do doby testování.

Přidáním živného média k ehippiím a následnou inkubací za přesně stanovených podmínek dochází k oživení organismů. Test využívá jako testovací organismus hrotnatku *D. magna* Straus (viz Obr. 7), která patří do čeledi *Daphniidae*, jejímž přirozeným životním prostředím jsou sladkovodní biotopy. *Daphniidae* se vyskytují v různých druzích po celém

světě a jsou oproti korýšům *T. platyurus* zpravidla méně citlivé na působení chemických látek.

Pro ekotoxikologické testování jsou využíváni juvenilní jedinci mladší 24 hodin. Celková doba trvání testu je 5 dní, přičemž 72 hodin je doba potřebná pro líhnutí organismů z ehippií. Tento test je určen pro stanovení akutní toxicity, která je hodnocena na základě počtu imobilizovaných, resp. uhynulých jedinců. Za imobilizovaného jedince lze považovat takového, který není schopen žádného nebo jiného dalšího pohybu, než je pohyb tykadlem. Jako výsledek testu je stanovena hodnota 24hEC50 a 48hEC50 (Microbiotests Inc, 1995a).



Obr. 7. Samička *D. magna* Straus se dvěma juvenilními organismy před vylíhnutím (vlastní foto).

#### **Postup práce:**

**Příprava standardní sladké vody (SSV):** do odměrné baňky o objemu 2 litry byly převedeny obsahy vialek č. 1 – 4 s roztoky solí NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub> a KCl, které jsou součástí sady. Odměrná baňka byla doplněna po rysku deionizovanou vodou a její obsah byl promíchán. Před použitím byla SSV provzdušňována po dobu minimálně 15 minut.

**Příprava a zpracování vzorků:** byla připravena koncentrační řada jednotlivých vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků v rozsahu 0 – 10 ml/l ředěním SSV a koncentrační řada jednotlivých vzorků filtrátů ze standardní půdy Lufa 2.3 (viz Kap. 3.1.1.2 Tab. 2.) v rozsahu 0 – 100 ml/l ředěním SSV. Dále byla připravena koncentrační řada výluhů jednotlivých vzorků biocharu v rozsahu 0 – 1 000 ml/l. Koncentrační řada odpadních vod byla rovněž připravena v rozsahu 0 – 1 000 ml/l.

**Líhnutí ehippií testovacího organismu:** líhnutí bylo zahájeno tři dny před samotným testováním ekotoxicity vzorků. Obsah vialky s ehippiemi byl převeden do mikrosítka a propláchnut vodou tak, aby bylo odstraněno veškeré konzervační činidlo. Propláchnutá ehippia byla převedena na Petriho misku do 15 ml SSV. Takto připravená Petriho miska byla uzavřena víčkem a inkubována při 20 °C po dobu 72 až 80 hodin za kontinuálního osvětlení 6 000 lux.

**Standardizovaný laboratorní chov:** v laboratoři ekotoxikologie byl zaveden chov organismů *D. magna* Straus. Organismy v laboratorním chovu byly pravidelně krmeny

1x denně suspenzí řasy *Scenedesmus subspicatus*. Každý den byli z chovu odebíráni juvenilní jedinci, aby bylo zajištěno stáří organismů nižší než 24 hodin potřebné pro testování. Chovné médium bylo měněno jedenkrát týdně. Médium bylo provzdušňováno v pravidelných intervalech, nikoliv trvale. Juvenilní jedinci mladší 24 hodin byli použiti pro testování ekotoxicity.

*Příprava chovného média:* jako médium pro chov bylo použito Elen dtovo médium M4, jehož složení je zřehledněno v Tab. 10. Médium M4 bylo díky obsahu mnoha stopových prvků prokázáno jako vhodnější pro laboratorní chovy těchto organismů. Médium M4 bylo připravováno vždy čerstvé a před použitím pro chovy bylo provzdušněno (Elen dt, 1990).

Tab. 10. Složení média M4 v porovnání s médiem dle ISO 6341:1982 (Elen dt, 1990).

Médium		M4	ISO
Stopový prvek	Sloučenina	c (mg/l)	c (mg/l)
<b>Mikroprvky</b>			
B	H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,5000*	-
Fe	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,2000*	-
Mn	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,1000*	-
Li	LiCl	0,0500*	-
Rb	RbCl	0,0500*	-
Sr	SrCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,0500*	-
Mo	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,0250*	-
Br	NaBr	0,0125*	-
Cu	CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,0063*	-
Zn	ZnCl <sub>2</sub>	0,0063*	-
Co	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,0025*	-
J	KJ	0,0025*	-
Se	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0,0010*	-
V	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	0,0003*	-
EDTA·2H <sub>2</sub> O		2,5000	-
<b>Makroprvky</b>			
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O		293,80	293,80
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O		123,30	123,30
NaHCO <sub>3</sub>		64,80	64,80
KCl		5,80	5,80
Na <sub>3</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O		10,00	-
NaNO <sub>3</sub>		0,27	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0,14	-
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		0,18	-
<b>Vitamíny</b>			
Thiamin		0,075	-
B12		0,001	-
Biotin		0,00075	-

\* koncentrace cílového stopového prvku, nikoliv sloučeniny

*Nasazení organismů do testu:* byla připravena koncentrační řada testovaného vzorku, přičemž pro ředění byla použita SSV. Jednotlivé roztoky byly převedeny do testovací desky, která je tvořena šesti testovacími šachtami v pěti sloupcích. Celkem tak lze testovat pět různých koncentrací vzorku společně s kontrolním testem ve čtyřech opakováních. Šachty v prvním sloupci slouží jako mycí prostor, aby nedocházelo k rozředování vzorku SSV. Do každé šachty bylo převedeno 10 ml příslušného vzorku a následně bylo z mycí šachty pomocí pipety převedeno 5 jedinců. Celkem tak bylo do jedné koncentrace nasazeno 20 testovacích jedinců. Takto připravená deska byla přikryta parafilmem a byla uložena k inkubaci do temna při 20 °C po dobu 48 hodin. Počet imobilizovaných, resp. uhynulých organismů, byl vyhodnocován po 24 a 48 hodinách. Po 48 hodinách byl test ukončen (Microbiotests Inc, 1995b). Vzorky pracovních roztoků hasebních prostředků byly testovány na organismech laboratorního chovu, avšak byla použita metodika testu Daphtoxkit. Pro porovnání citlivosti obou druhů organismů byl proveden referenční test se standardní látkou.

*Referenční test se standardní látkou:* referenční test slouží k ověření optimální citlivosti organismů za pomoci látky, u které je známé rozmezí hodnot ekotoxického účinku pro daný organismus. Byla připravena koncentrační řada roztoku dichromanu draselného  $K_2Cr_2O_7$  v koncentracích 0,32; 0,56; 1,0; 1,8 a 3,2 mg/l. Výsledek testu byl porovnán s validovanou hodnotou standardní látky za účelem ověření správného nasazení testu a vhodné citlivosti testovacích organismů (Microbiotests Inc, 1995a). Lze si povšimnout, že koncentrace jsou o jeden řád vyšší než v případě testu Thamnotoxkit F.

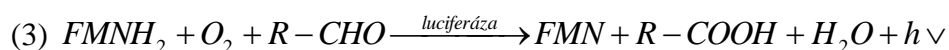
*Vyhodnocení testu:* po 24 a 48 hodinách byli spočítáni živí jedinci v každém nasazení. Z těchto dat byla dle rovnice (2) vypočtena procentuální míra imobilizace  $Im$  pro každou koncentraci.

$$(2) \quad Im = \frac{N_c - N_i}{N_c} \cdot 100 \%,$$

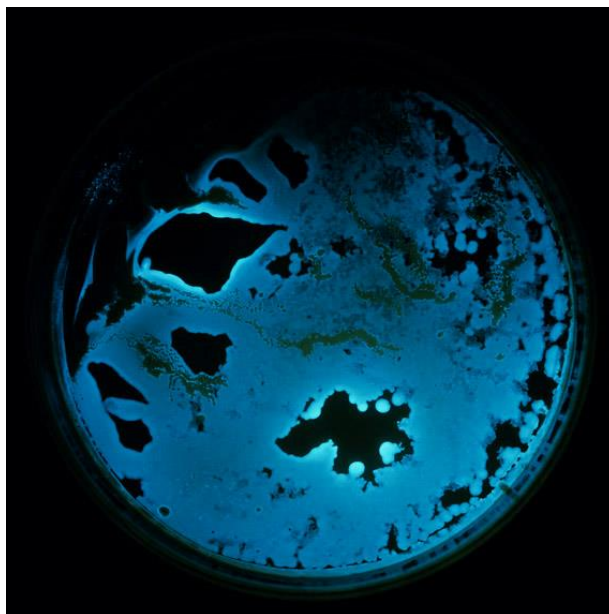
kde  $N_c$  je počet živých jedinců v kontrolním nasazení a  $N_i$  je počet živých jedinců v testované koncentraci. Výsledky imobilizace  $Im$  byly vyneseny do souřadnicového systému oproti koncentracím vyjádřeným v logaritmických hodnotách na ose  $x$ . Pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota EC50 (Microbiotests Inc, 1995a).

### ***Bakteriální bioluminiscenční test toxicity ISO 11348-3***

Tento krátkodobý test spočívá v hodnocení míry zhášení bioluminiscence fotoaktivních gramnegativních mořských bakterií *V. fischeri*, které zastupují skupinu destruentů. Tyto bakterie mají schopnost reagovat na přítomnost kontaminantů v prostředí změnou intenzity bioluminiscence. V důsledku chemické reakce (3), která probíhá v rámci metabolismu bakterií, emitují bakterie *V. fischeri* přirozeně světlo (viz Obr. 8). Emisi světla způsobuje katalyzátor reakce, enzym luciferáza.







Obr. 8. Emise luminiscence bakteriemi *V. fischeri* rozprostřenými na Petriho misce (Engel, 2006).

Do čeledi *Vibrionaceae* jsou zařazeny rody bakterií, které tvoří delší zahnuté tyčinky, tzv. vibria. *V. fischeri* je pohyblivá bakterie obývající mořské ekosystémy. Aby tato bakterie přežila, vytváří symbiotické vztahy s několika dalšími druhy žijícími v ekosystému.

Testované vzorky musí vyhovovat deklarovaným požadavkům, a to zejména z hlediska hodnoty pH, která se optimálně pohybuje v rozmezí 6 – 8,5, a salinity. *V. fischeri* jsou mořské bakterie, které pro svůj život potřebují zajistit vhodný osmotický tlak tak, aby nedocházelo k jejich inhibici v důsledku nevhodné salinity. Na jeden litr vzorku je proto nezbytné přidat 20 g kuchyňské soli (chlorid sodný, NaCl).

Test využívá lyofilizované bakterie v suspenzi, tzn. bakterie uvedené do latentní fáze. Výstupem testu je závislost intenzity luminiscence na koncentraci testovaného vzorku. Při vyhodnocení testu je důležitý poměr úbytku produkovaného světla k míře zbývající světelné produkce. Je nutné zohlednit korekční faktor, který koriguje vliv ředící vody (Jennings et. al., 2001).

#### **Postup práce:**

*Příprava živného média (ŽM):* jako živné médium byl připraven 2% sterilní roztok NaCl.

*Příprava a zpracování vzorků:* připravené vzorky byly obohaceny přídatkem NaCl tak, aby finální koncentrace NaCl odpovídala 2 %. V rámci screeningového testu byla testována inhibice luminiscence daným vzorkem, přičemž podle výše popsaného postupu byla zkoušená koncentrace každého vzorku 50 %.

*Příprava testovacího organismu:* suspenze bakterií byla před zahájením testu rozmrazena a vytemperována na  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ . Následně bylo přidáno živné médium. Vzniklá suspenze byla uchovávána v termostatu.

*Nasazení organismů do testu:* do jednotlivých zkumavek bylo převedeno vždy 500  $\mu\text{l}$  suspenze s bakteriemi. Zkumavky byly vloženy do termobloku přístroje LUMISTox 300 a byly ponechány k adaptaci v termostatu při  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  po dobu 15 minut. Po adaptování vzorku byla v čase 0 změřena intenzita luminiscence ve všech zkumavkách. Následně bylo do jednotlivých zkumavek přidáno 500  $\mu\text{l}$  testovaného vzorku a po 15 a 30 minutách byla opět

změřena intenzita luminiscence oproti kontrole (ISO 11348-3, 2009). Intenzita luminiscence byla měřena pomocí luminometru LUMIStox 300, vybaveným termoblokem LUMIStherm.

**Referenční test se standardní látkou:** referenční test slouží k ověření optimální citlivosti organismů za pomoci látky, u které je znám rozsah hodnot ekotoxického účinku pro daný organismus. Byl připraven roztok dichromanu draselného  $K_2Cr_2O_7$  o koncentraci 105,8 mg/l. Tento byl před měřením luminiscence smísen s ŽM v poměru 1 : 1. Výsledek testu byl porovnán s validovanou hodnotou standardní látky za účelem ověření správného nasazení testu a vhodné citlivosti testovacích organismů (ISO 11348-3, 2009).

**Vyhodnocení testu:** po ukončení testu se standardní látkou byly porovnány naměřené hodnoty intenzity luminiscence v čase 15 a 30 min s intenzitou naměřenou na začátku testu v čase 0. Porovnáním těchto hodnot byl dle rovnice (4) vypočten korekční faktor pro standardní látku pro expozici po 15 a po 30 minutách.

$$(4) f_{kt} = \frac{I_{kt}}{I_0} \quad (t = 15 \text{ a } 30\text{min}), \text{ kde}$$

$f_{kt}$  je korekční faktor pro expozici po 15 a 30 minutách,

$I_{kt}$  je intenzita luminiscence kontrolního vzorku po expozici 15 a 30 minut v relativních jednotkách luminiscence,

$I_0$  je intenzita luminiscence kontrolní zkušební suspenze bezprostředně před přidáním ředící vody v relativních jednotkách luminiscence.

V rámci testování inhibičních účinků vzorků byla již přímo měřena inhibice luminiscence. Korekční faktory tedy nebyly počítány.

#### ***Test inhibice růstu okřešku menšího *L. minor****

Test vychází z normy ČSN EN ISO 20079 (75 7745) Jakost vod – Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek *L. minor* – Zkouška inhibice růstu okřešku.

*L. minor* je sladkovodní plovoucí rostlina, která spadá do čeledi *Lemnaceae* (okřeškovitě). Rostliny z čeledi okřeškovitých se vyskytují v pomalu tekoucích nebo stojatých vodách, jako jsou rybníky a tůně. V současnosti je známo 13 druhů. V ČR se vyskytují pouze čtyři druhy, a to zmíněný okřehek menší *L. minor*, okřehek hrbatý *L. gibba*, okřehek trojbrázdý *L. trisulca* a okřehek červený *L. turionifera*. V letním období je často vidět na našich rybnících okřehek menší ve formě vodního květu plovoucího na hladině. Okřehek menší tvoří jeden až tři oválné listy a rozmnožuje se vegetativním dělením.

Test toxicity na okřešku menším spočívá v posouzení semichronické toxicity chemických látek a přírodních i odpadních vod. Doba inkubace organismu v testovaném médiu je stanovena na 168 hodin, celý test potom trvá sedm dní. Výsledkem je hodnota IC50 (koncentrace, která způsobí 50% inhibici růstu organismu v porovnání s kontrolou). Test lze vyhodnotit na základě různých přístupů. Je možné posuzovat počet lístků na začátku a na konci testu, dále přírůstek (nebo úbytek) biomasy, případně plochu, kterou okřehek v testovací nádobce zabírá. Poslední zmíněný přístup je používán zřídka, protože je komplikovaný a při vyhodnocování existuje vysoké riziko, že dojde k chybnému zaměření (ČSN EN ISO 20079, 2007).

#### **Postup práce:**

**Příprava živného média (ŽM):** pro kultivaci rostlin *L. minor* byl ze zásobních roztoků mikro- a makrosložek připraven Steinbergův živný roztok. Koncentrace jednotlivých

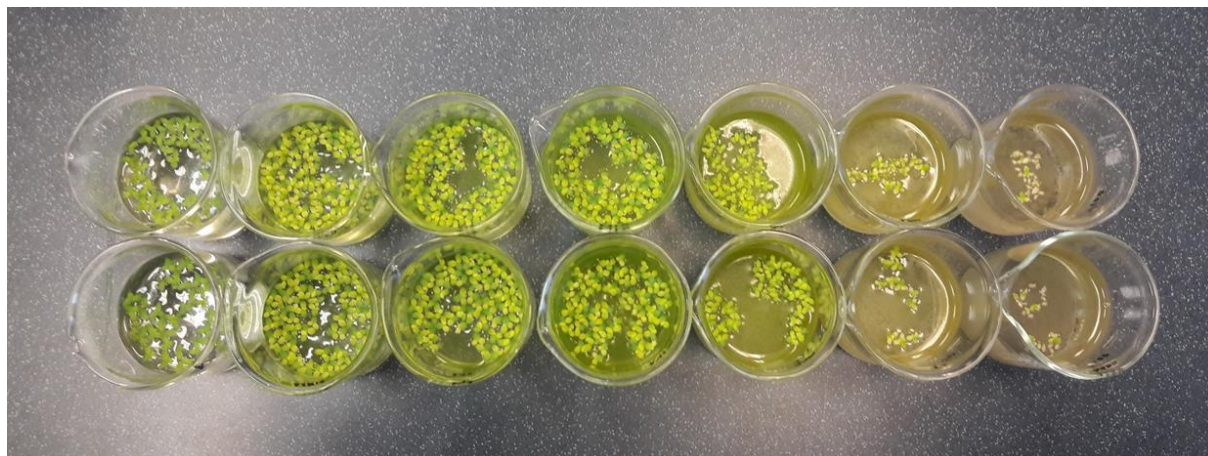
zásobních roztoků jsou uvedeny v Tab. 11. Do odměrné baňky o objemu 1 litr bylo převedeno po 20 ml ze zásobních roztoků I, II a III a po 1 ml ze zbylých zásobních roztoků. Odměrná baňka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku a její obsah byl promíchán.

*Příprava a zpracování vzorků:* byla připravena koncentrační řada jednotlivých vzorků odpadních vod v rozsahu 0 - 100 % ředěním ŽM.

Tab. 11. Přehled složení a koncentrací jednotlivých zásobních roztoků mikro- a makrosložek (ČSN EN ISO 20079, 2007).

Makrosložky		
Zásobní roztok	Látka	Koncentrace (mg/l)
I	KNO <sub>3</sub>	17 500
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4 500
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	630
II	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5 000
III	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	14 750
Mikrosložky		
IV	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	120
V	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	180
VI	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	44,0
VII	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	180
VIII	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	760
	Na <sub>2</sub> -EDTA·2H <sub>2</sub> O	1 500

*Nasazení testu:* byla připravena koncentrační řada vzorků ředěním ŽM. Do kádinek o objemu 150 ml bylo vždy převedeno 100 ml testovaného vzorku. Do připravené kádinky byly přeneseny dvoj- nebo třílístkové kolonie okřešku tak, aby celkový počet lístků v jedné kádince byl devět. Jako kontrolní testy byly nasazeny kádinky s čistým ŽM. Všechny koncentrace včetně kontroly byly nasazeny ve dvou opakováních. Takto připravené kádinky byly překryty parafilmem a byly uloženy ke kultivaci po dobu 7 dní pod osvětlením o intenzitě v rozmezí 6 500 až 10 000 lux při teplotě 24 ± 2 °C.



Obr. 9. Okřehek menší v testovacích kádinkách se vzorkem JO na konci expozice, koncentrace roste zleva doprava (vlastní foto).

*Referenční test se standardní látkou:* referenční test slouží k ověření optimální citlivosti organismů za pomoci látky, u které je znám rozsah hodnot ekotoxického účinku pro daný organismus. Byla připravena koncentrační řada roztoku dichromanu draselného  $K_2Cr_2O_7$  v koncentracích 5; 10; 20; 30; 50 a 80 mg/l. Výsledek testu byl porovnán s validovanou hodnotou standardní látky za účelem ověření správného nasazení testu a vhodné citlivosti testovacích organismů (ČSN EN ISO 20079, 2007).

*Vyhodnocení testu:* po 168 hodinách byl na konci testu (viz Obr. 9) spočítán celkový počet lístků v každé kádince zvlášť a následně bylo stanoveno množství suché biomasy pro každou koncentraci. Lístky z kádinek jednotlivých testovaných koncentrací vzorku byly převedeny do sítka a byly propláchnuty vodou. Propláchnutá biomasa byla převedena na předem vysušený a zvážený filtrační papír a takto byla vysušena do konstantní hmotnosti při teplotě  $105 \pm 5$  °C.

Z odečtených výsledků byla vypočtena růstová rychlost  $\mu$  pro každé nasazení podle rovnice (8).

$$(8) \mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n}, \text{ kde}$$

- $N_n$  je počet lístků na konci testu,
- $N_0$  je počet lístků na začátku testu,
- $t_n$  je doba trvání testu v hodinách.

Ze získaných hodnot růstových rychlostí potom byla podle rovnice (9) vypočtena procentuální míra inhibice, příp. stimulace růstu  $I_{\mu i}$ .

$$(9) I_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

- $\mu_c$  je rychlost růstu v kontrolním nasazení,
- $\mu_i$  je rychlost růstu v testované koncentraci.

Pokud je hodnota  $I_{\mu i} < 0$ , má testovaná látka stimulační účinky. Současně byla vypočtena i hodnota redukce biomasy  $I_B$  na základě porovnání hmotností rovnice (10).

$$(10) I_B = \frac{B_c - B_i}{B_c} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

- $B_c$  je množství suché biomasy v kontrolním nasazení (g),
- $B_i$  je množství suché biomasy v testované koncentraci (g).

Pokud je hodnota  $I_B < 0$ , má testovaná látka stimulační účinky. Výsledky inhibice růstu  $I_{\mu i}$ , resp.  $I_B$  byly vyneseny do souřadnicového systému oproti koncentracím vyjádřeným v logaritmickech hodnotách na ose  $x$ . Pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota IC50 (OECD 221, 2006).

### 3.2.1.2 Testy s terestrickými organismy

Z testů v akvatickém uspořádání s terestrickými organismy byly vybrány testy využívající semena hořčice bílé *S. alba* a sazečky cibule kuchyňské *A. cepa L.*

#### ***Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba****

Metodika testu je dána Metodickým pokynem odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů z roku 2007 vydaným Ministerstvem životního prostředí České republiky. Test byl primárně vyvinut pro hodnocení toxicity odpadů, resp. jejich výluhů. Nicméně dnes je tento test běžně využíván pro posuzování toxicity chemických látek a prostředků, včetně kontaminovaných přírodních matric. Výstupem testu je míra inhibice, resp. stimulace, kořene naklíčeného semene hořčice bílé *S. alba*.

Koncept testu spočívá v aplikaci 30 semen na filtrační papír v Petriho misce, na který bylo aplikováno stanovené množství testované látky rozpuštěné v ředící vodě (méněsložková obdoba živného media). Uzavřená Petriho miska je potom uložena k inkubaci v temnu za konstantní teploty  $20 \pm 2$  °C po dobu 72 hodin. Na konci testu je měřena délka kořínků naklíčených semen. Inhibice, resp. stimulace, je potom určována v porovnání s délkou kořínků v kontrolním nasazení, tj. pouze s ředící vodou (MŽP ČR, 2007).

#### **Postup práce:**

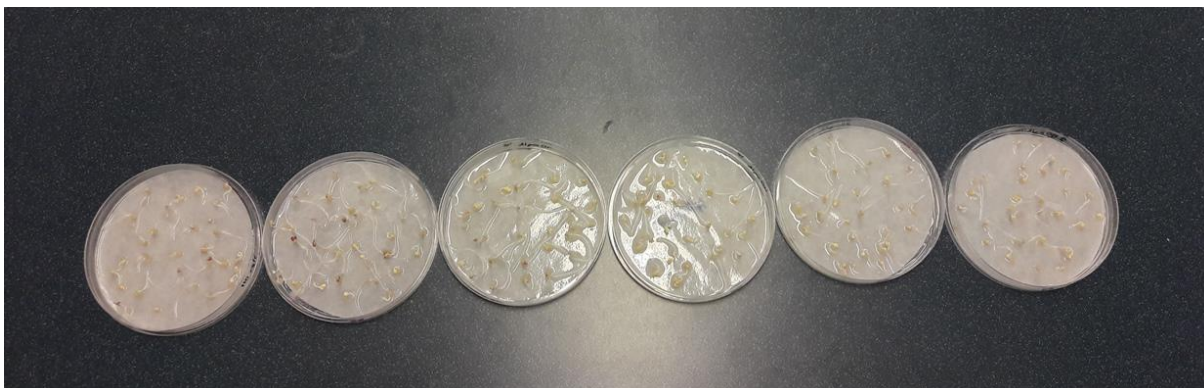
*Příprava ředící vody (ŘV):* pro přípravu ŘV byly použity zásobní roztoky solí  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  a  $\text{KCl}$ . Přesné složení ŘV je uvedeno v Tab. 12. Do odměrné baňky o objemu 1 litr bylo převedeno 25 ml každého zásobního roztoku, baňka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku a její obsah byl promíchán. Připravená ŘV byla provzdušněna (Svobodová a kol., 2000).

Tab. 12. Přehled složení a koncentrací jednotlivých zásobních roztoků.

Zásobní roztok	Sloučenina	Koncentrace (mg/l)
I	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	11,76
II	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,93
III	$\text{NaHCO}_3$	2,59
VI	$\text{KCl}$	0,23

*Příprava a zpracování vzorků:* byla připravena koncentrační řada jednotlivých vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků a jejich filtrátů z obou půdních matric v rozsahu 0 - 500 ml/l ředěním ŘV, přičemž koncentrační řada byla individuálně přizpůsobena pro každý roztok. Dále byla připravena koncentrační řada jednotlivých vzorků odpadních vod a koncentrační řada jednotlivých vzorků výluhů biocharu v rozsahu 0 – 1 000 ml/l ředěním ŘV.

*Nasazení testu:* byla připravena koncentrační řada vzorků ředěním s ŘV. Dno Petriho misek o průměru 10 cm bylo vyloženo filtračním papírem, který byl navlhčen 10 ml příslušného vzorku. Na zvlhčený filtrační papír bylo nasazeno vždy 30 semínek. Petriho misky byly uzavřeny víčkem a byly uloženy k inkubaci po dobu 72 hodin do temna při teplotě 20 °C. Testy všech koncentrací, včetně kontrolního testu, byly nasazeny ve třech opakováních.



Obr. 10. Semena hořčice bílé v testovacích Petriho miskách se vzorkem ČAO na konci expozice, koncentrace roste zleva doprava (vlastní foto).

**Referenční test se standardní látkou:** referenční test slouží k ověření optimální citlivosti organismů za pomoci látky, u které je znám rozsah hodnot ekotoxického účinku pro daný organismus. Byla připravena koncentrační řada roztoku dichromanu draselného  $K_2Cr_2O_7$  v koncentracích 10; 20; 30; 40; 60; 70; 80; 160 a 320 mg/l. Výsledek testu byl porovnán s validovanou hodnotou standardní látky za účelem ověření správného nasazení testu a vhodné citlivosti testovacích organismů.

**Vyhodnocení testu:** po 72 hodinách byla změřena délka všech kořínků v každém nasazení (viz Obr. 10). Z jednotlivých délek byla vypočtena průměrná délka kořene pro každou koncentraci. Pomocí průměrných délek kořene byla dle rovnice (11) vypočtena hodnota inhibice, příp. stimulace růstu,  $I$ .

$$(11) I = \frac{L_c - L_i}{L_c} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

$L_c$  je délka kořene v kontrolním nasazení (cm),

$L_i$  je délka kořene v testované koncentraci (cm).

Pokud je hodnota  $I < 0$ , má testovaná látka stimulační účinky. Výsledky inhibice růstu  $I$  byly vyneseny do souřadnicového systému oproti koncentracím vyjádřeným v logaritmických hodnotách na ose  $x$  (Svobodová et al., 2000). Pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota IC50.

#### **Test inhibice prodloužení kořenů cibulových sazeček *A. cepa* L.**

Test je založen na posouzení inhibice, resp. stimulace, růstu kořene cibule *A. cepa* L. Míra stanovovaného účinku je opět posuzována ve vztahu ke kontrolnímu nasazení s čistým živným médiem.

Koncept testu spočívá v nasazení 12 cibulek do roztoku testované látky o dané koncentraci, a to za podmínek denního světelného režimu a konstantní teploty  $20 \pm 2$  °C po dobu 7 dnů, tj. 168 hodin. V průběhu testu dochází k pozvolnému úbytku testovaného roztoku v důsledku spotřeby sazečkami. Proto je nutné během testu roztok průběžně doplňovat.

Na konci testu je měřena délka kořínků. Pro přesnější výsledek je možné stanovit množství celkové biomasy kořínků v testovaném roztoku a toto pak porovnat s množstvím biomasy z kontrolního nasazení (Fiskesjö, 1985; Olorunfemi & Ogunsanwo, 2011).

### Postup práce:

*Příprava živného média (ŽM):* jako ŽM byl použit Steinbergův živný roztok (příprava viz Tab. 10, kapitola 3.2.1.1. Test inhibice růstu okřehku menšího *L. minor*). Připravené ŽM bylo před nasazením testu provzdušněno.

*Příprava a zpracování vzorků:* byla připravena koncentrační řada jednotlivých vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků a jejich filtrátů z obou půdních matric v rozsahu 0 - 200 ml/l ředěním ŘV. Koncentrační řada byla zvláště přizpůsobena pro každý roztok.

*Nasazení testu:* byla připravena koncentrační řada vzorků ředěním s ŽM. Připravenými roztoky byly naplněny zkumavky, do kterých byly následně nasazeny připravené sazečky cibule. Sazečky byly den před testováním zbaveny svrchní slupky a rehydratovány v ŽM pro zahájení klíčení. Vždy šest takto připravených sazeček bylo nasazeno po jednom kusu do zkumavek naplněných příslušným vzorkem. Testy všech koncentrací, včetně kontrolního testu, byly nasazeny ve dvou opakováních. Zkumavky s cibulkami (viz Obr. 11) byly uloženy za světelných podmínek běžného dne po dobu 7 dní při teplotě  $20 \pm 2$  °C (Fiskesjö, 1985; Olorunfemi & Ogunsanwo, 2011).



Obr. 11. Test inhibice růstu kořene cibule *A. cepa* na konci expozice (vlastní foto).

*Vyhodnocení testu:* po sedmi dnech byla změřena délka kořínků v každém nasazení. Z jednotlivých délek byla vypočtena průměrná délka kořene pro každou koncentraci. Pomocí průměrných délek kořene byla dle rovnice (12) vypočtena hodnota inhibice, příp. stimulace, růstu, *I*.

$$(12) I = \frac{L_c - L_i}{L_c} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

$L_c$  je délka kořene v kontrolním nasazení (cm),

$L_i$  je délka kořene v testované koncentraci (cm).

Pokud je hodnota  $I < 0$ , má testovaná látka stimulační účinky. Výsledky inhibice růstu  $I$  byly vyneseny do souřadnicového systému oproti koncentracím vyjádřeným v logaritmických hodnotách na ose  $x$  (OECD 208, 2006). Pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota IC50.

### 3.2.2 Testy v kontaktním uspořádání

Z testů v kontaktním uspořádání byly vybrány pouze testy využívající půdní bezobratlé organismy žížalu *E. fetida* a chvostoskoka *F. candida*.

#### **Zkušební matrice**

Jako zkušební matici lze při kontaktním testování použít uměle vytvořenou půdu nebo standardní komerčně dostupnou půdu z ekologicky nezávadné lokality. Standardní půda je dostupná v několika modifikacích, které se liší svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi (pH, vodná kapacita půdy, obsah organické hmoty, distribucí velikosti částic apod.). Oba druhy zkušební matrice jsou doporučovány normami OECD pro hodnocení ekotoxicity v půdách.

#### **Artificiální půda**

Jedná se o uměle připravenou půdní matici. Přestože složení uměle vytvořené půdy je jasné dané metodikou, má tato matrice vysoce variabilní složení, a to především z hlediska fyzikálně-chemických vlastností, obsahu mikrosložek a mikrobiální aktivity. Je to z toho důvodu, že není možné matici vždy připravit z totožných složek.

Artificiální půdu tvoří z 10 % vysušená rašelina, která byla homogenizována prosetím přes síto o velikosti ok 2 mm a z 20 % suchý kaolinový jíl, rovněž v podobě jemného prášku. Zbytek tvoří vysušený křemenný písek, který obsahuje více než 50 % zrn o velikosti v rozmezí 0,05 – 0,2 mm. Optimální hodnota pH uměle vytvořené půdy je  $6,0 \pm 0,5$ . Vodní kapacita této matrice se pohybuje v rozmezí 35 až 40 % (OECD 207, 1984).

#### **Standardní půda**

Za účelem posouzení vlivu půdní matrice na změnu ekotoxického účinku a posouzení rozdílů mezi různými druhy půdy byly jako standardní půdní matrice pro testování použity půdy Lufa 2.2 a Lufa 2.3. Oba typy půdy jsou dodávány německou společností LUFA Speyer. V oblastech, ve kterých jsou půdy odebírány, nejsou používány pesticidy ani biocidní ani organická hnojiva. Půda v dané oblasti nebyla minimálně pět let zemědělsky využívána. Jedná se o přirozeně se vyskytující půdy, které reprezentují běžné půdní typy. Jsou odebírány v ekologicky nezávadných oblastech Německa do hloubky 20 cm. Za účelem standardizace jsou půdy prosívány sítím o velikosti oka 2 mm (LUFA Speyer, 2018).

Dle klasifikace Ministerstva zemědělství Spojených států (USDA) je tato půda klasifikována jako písčito-hlinitá. (LUFA Speyer, 2016). Vlastnosti obou typů půdy jsou shrnuty v Tab. 13.



Tab. 13. Fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných standardních půd LUFA (LUFA Speyer, 2016).

Průměrné hodnoty včetně standardní odchylky vztažené k sušině	Jednotka	Standardní půdní typ	
		2.2	2.3
Organický uhlík	% C	1,61 ± 0,15	0,67 ± 0,03
Dusík	% N	0,17 ± 0,01	0,08 ± 0,01
pH (0,01M CaCl <sub>2</sub> )	-	5,4 ± 0,2	5,9 ± 0,6
Kationtová výměnná kapacita	meq/100g	9,7 ± 0,4	7,6 ± 0,8
Distribuce velikosti částic dle USDA (%)			
< 0,002	mm	8,0 ± 1,7	6,8 ± 1,6
0,002 – 0,05	mm	15,8 ± 3,1	33,6 ± 0,5
0,05 – 2,0	mm	76,2 ± 4,1	59,6 ± 1,4
Půdní typ	-	písčito hlinitá	písčito hlinitá
Maximální vodná kapacita půdy	(g/100g)	44,8 ± 2,9	35,6 ± 1,4
Hustota	(g/l)	1 198 ± 38	1 310 ± 43

### 3.2.2.1 Metodiky testů

#### *Test únikového chování žížal*

Žížaly jsou nepostradatelnou složkou půdy a v rámci půdních procesů hrají významnou roli. Tito bezobratlí patří do kmene kroužkoců (*Annelida*), třídy máloštětinateců (*Oligochaeta*). V půdě svojí činností rozkládají organickou hmotu a podílejí se na provzdušnění půdy. K jejich expozici dochází dvěma způsoby, dermálně a orálně. Tyto organismy jsou často využívány pro posuzování míry schopnosti bioakumulace toxikantů. (ČSN EN ISO 11268-1, 2014; OECD 207, 1984). Pro rychlé orientační vyhodnocení negativního vlivu podezřelé půdní matrice lze využít test únikového chování žížal, který do dvou dnů poskytne informaci, na základě které lze určit další směr testování. Test využívá žížalu hnojní *E. fetida*, alternativně lze využít žížalu kalifornskou *E. andrei*. V rámci práce byl test únikového chování žížal využit pro posouzení vlivu aplikace biocharu na půdní organismy.

#### Postup práce:

*Příprava půdní matrice:* jako standardní matrice byla pro tento test použita uměle připravená půda, která je tvořena směsí rašeliny, jílu a písku. Vysušená rašelina bez viditelných zbytků rostlinných částí byla homogenizována přeseťm přes síto o velikosti ok 2 mm. Suchý kaolinový jíl s obsahem kaolinitu nad 30 % byl rovněž přeseťm a případné větší hrudky byly rozetřeny. Křemenný písek byl vysušen a přeseťm přes síto o velikosti ok 2 mm tak, aby bylo dosaženo co nejvyššího zastoupení částic o velikosti v rozmezí 0,5 až 2 mm (norma udává minimální podíl těchto částic 50 %). Uměle připravená půda byla připravena smísením jednotlivých,

předem připravených, materiálů v poměru 10 % rašeliny, 20 % jílu a 70 % písku (OECD 222, 2004).

*Příprava vzorků:* vzorky biocharu C byly dodány ve formě granulí o délce do 1 cm. Z toho důvodu byly rozetřeny v třecí misce, aby bylo dosaženo pokud možno co nejvyšší homogenizace vzorku. Takto připravené vzorky byly jednotlivě smíseny s umělou půdou ve stanovených poměrech a byla vytvořena koncentrační řada v rozsahu 0 – 100 %.

*Příprava organismů pro testování:* pro test byli vybráni dospělí jedinci s opaskem starší dvou měsíců a mladší jednoho roku. Vybraní jedinci byli jemně omyti vodou od substrátu z chovu a byli osušeni na filtračním papíru. Hmotnost vybraných jedinců se pohybovala v rozmezí 250 až 600 mg. Do každého nasazení bylo aplikováno deset připravených jedinců.

*Nasazení organismů do testu:* obdélníkové plastové nádoby byly rozděleny na poloviny přepážkou. Do jedné poloviny nádoby bylo naváženo 250 g umělé půdy, která byla nasycena na 40 až 60 % VKP deionizovanou vodou. Do druhé poloviny bylo naváženo 250 g umělé půdy ve směsi s testovanou látkou. I tato matrice byla nasycena deionizovanou vodou. V takto připravené testovací nádobě byla odstraněna přepážka a na rozhraní obou matric bylo nasazeno 10 jedinců vybraných do testu. Nádoby byly překryty potravinářskou fólií opatřenou otvory a byly uloženy k expozici při teplotě 24 °C pod stálé osvětlení o intenzitě 6 000 lux na dobu 48 hodin. V průběhu testu nebyly testované organismy krmeny. Testované koncentrace, včetně kontrolního testu, byly nasazeny ve dvou opakováních.

*Vyhodnocení testu:* po 48 hodinách expozice byl vyhodnocen počet testovacích organismů v jednotlivých dílech nádob. Porovnáním počtu organismů v umělé půdě s počtem organismů v testované matrici byla na základě preference prostředí vyhodnocena míra únikového chování žížal. Procentuální míra únikovosti  $A$  byla vypočtena dle rovnice (13).

$$(13) A = \frac{N_0 - N_x}{N_0} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

$N_0$  je předpokládaný počet organismů v kontrolní matrici,

$N_x$  je počet nalezených organismů v testované matrici.

Výpočet je založen na předpokladu homogenní distribuce organismů mezi jednotlivými matricemi, tj. 50:50 (ISO 17512-1, 2008).

### **Test reprodukce žížal (*E. fetida*/*E. andrei*)**

Postup testu je prováděn podle normy ČSN EN ISO 11268-2 (836456) Kvalita půdy - Účinky znečišťujících látek na žížaly - Část 2: Stanovení účinků na reprodukci *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* z roku 2014 metodika OECD č. 222. Test je určen pro hodnocení vlivů chemikálií na reprodukční schopnost žížal *E. fetida* a *E. andrei*. Test je vhodný pro posuzování i jiných subletálních endpointů, jako je úbytek hmotnosti, vitalita nebo vitalita vylíhnutých jedinců.

Vhodnými organismy pro testování jsou dospělí jedinci s vyvinutým opaskem (clitellum) o hmotnosti v rozmezí 250 až 600 mg. Dospělí jedinci jsou vystaveni působení testované látky aplikované na standardní půdní matrici. Koncentrace toxikantu jsou voleny tak, aby se projevíly jak subletální, tak letální efekty po osmítýdenní expozici. Po celou dobu testování jsou testovací organismy krmeny nejčastěji koňským hnojem. Je nutné dbát na kvalitu hnoje. Zcela nevyhovující je hnůj s obsahem léčiv a hormonů. Po prvních čtyřech týdnech expozice jsou odstraněni a spočítáni dospělí jedinci v nasazení, kteří jsou následně zváženi a je

posuzována jejich morfologie a vitalita. Po dalších čtyřech týdnech expozice jsou spočítáni vylíhnutí juvenilní jedinci. Výslednou hodnotou pak je hodnota NOEC (No observed effect concentration) a ECX, kde X je procento mortality, resp. inhibice reprodukce v porovnání s kontrolou (ISO 11268-2, 2014; OECD 222, 2004).

#### **Postup práce:**

*Příprava půdní matrice:* jako testovací matrice byla použita standardní půda Lufa 2.3. Půda je dodávána ve formě přímo použitelné pro testování. Z toho důvodu nebyla půda před nasazením do testu nijak upravována.

*Příprava vzorků:* vzorky pracovních roztoků FF-15, MAF-15 a SF-15 byly smíseny se standardní půdou ve stanovených poměrech a byla tak vytvořena koncentrační řada v rozsahu 0 - 50 %.

*Příprava organismů pro testování:* pro test byli vybráni dospělí jedinci s opaskem starší dvou měsíců a mladší jednoho roku. Vybraní jedinci byli jemně omyti vodou od substrátu z chovu a byli osušeni na filtračním papíru. Hmotnost vybraných jedinců se pohybovala v rozmezí 250 až 600 mg. Do každého nasazení bylo aplikováno deset připravených jedinců. Před nasazením do testovací nádoby byla zaznamenána celková hmotnost jedinců.

*Nasazení organismů do testu:* do obdélníkové plastové nádoby bylo naváženo 500 g standardní půdy, která byla nasycena na 40 až 60 % VKP deionizovanou vodou, nebo testovaným vzorkem. Do takto připravené testovací nádoby bylo nasazeno 10 jedinců vybraných do testu. Nádoby byly překryty potravinářskou fólií opatřenou otvory a byly uloženy k expozici při teplotě  $20 \pm 2$  °C po dobu 28 dní. V průběhu testu byl udržován světelný režim běžného dne (16 hod světlo/8 hod tma) s osvětlením o intenzitě v rozmezí 400 až 800 lux. Testovací organismy byly v průběhu testu krmeny peletovaným koňským hnojem. První krmná dávka byla podána jeden den po zahájení testu, a to tak, že  $5 \pm 0,5$  g krmiva bylo rozmístěno na povrchu půdní matrice a bylo ovlhčeno deionizovanou vodou v množství 5 - 6 ml na testovací nádobu. Další krmivo bylo podáváno jedenkrát týdně. Poslední krmivo bylo podáno po 28 dnech expozice, kdy byli vyjmuti živí jedinci, a byl zahájen reprodukční test. Půda byla inkubována po dobu dalších 28 dní za stejných podmínek kromě pravidelného krmení. Testy všech koncentrací, včetně kontrolního testu, byly nasazeny ve dvou opakováních.

*Vyhodnocení testu:* po 28 dnech byli vyjmuti a spočítáni živí jedinci v každém nasazení. Byla zaznamenána celková hmotnost živých, omytých a osušených jedinců z každé testovací nádoby. Porovnáním počtu organismů v kontrolním testu s počtem organismů v kontaminované matrici byla podle rovnice (14) vyhodnocena procentuální míra mortality.

$$(14) M = \frac{N_c - N_i}{N_c} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

$N_c$  je počet jedinců v kontrolním nasazení,

$N_i$  je počet jedinců v testované koncentraci.

Výsledné hodnoty mortality  $M$  byly vyneseny do souřadnicového systému oproti koncentracím vyjádřeným v logaritmickech hodnotách na ose  $x$ . Pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byly vypočteny hodnoty LC50, resp. LCX v případě, že nebylo dosaženo 50 % pozorovatelného efektu, tj. mortality.

Po dalších 28 dnech bylo spočítáno množství vylíhnutých jedinců v každé koncentraci a byla vyhodnocena míra inhibice reprodukce porovnáním s kontrolním testem (OECD 222, 2004).

### ***Test únikového chování chvostoskoků***

Metodika testu je daná normou ISO 17512-2:2011. Test je vhodný pro rychlé zjištění negativního vlivu testované látky na půdní bezobratlé, chvostoskoky *F. candida* nebo *F. fimetaria*. *F. candida* je upřednostňován především proto, že se na rozdíl od *F. fimetaria* rozmnožují partenogeneticky, tzn. nepohlavně, a jejich odchov v laboratorních podmínkách je tak méně náročný.

Chvostoskokci jsou taxonomicky zařazeni mezi *Hexapoda* (šestinozí) a vzhledem ke svému tenkému exoskeletu, vysoce propustnému pro vzduch a vodu, představují v porovnání se žížalami a roupicemi členovce s rozdílnou cestou a mírou expozice. Dospělí jedinci obvykle dosahují délky 0,5 až 5 mm. Tito členovci přispívají k rozkladným procesům především v kyselých půdách, ve kterých jsou společně s roupicemi nejdůležitějšími bezobratlými, protože žížaly a mnohonožky v nich chybí (OECD 232, 2009; ČSN EN ISO 11267, 2014).

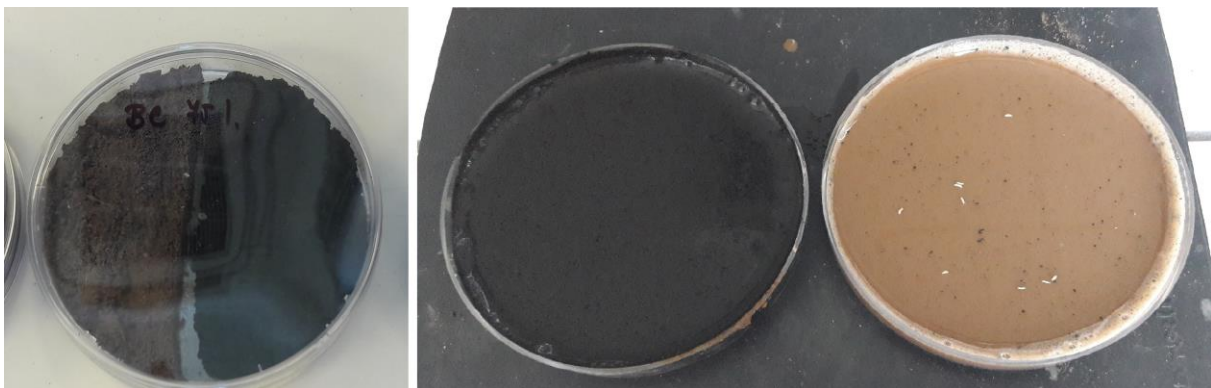
### **Postup práce:**

*Standardní půdní matrice:* jako standardní půdní matrice byla použita půda Lufa 2.3.

*Příprava a zpracování vzorků:* byla připravena koncentrační řada vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků v rozsahu 0 – 1 000 ml/l smísením se standardní půdní matricí.

*Příprava testovacích organismů:* z laboratorního chovu byli odebráni dospělí jedinci a byl založen chov nový. Organismy v chovu byly krmeny sušeným droždím. Do testu byli vybráni jedinci obdobného stáří.

*Nasazení organismů do testu:* Petriho miska o průměru 10 cm byla rozdělena na dvě poloviny přepážkou. Do jedné poloviny byla vložena standardní půda, do druhé poloviny potom testovaný vzorek. Navážka půdy, resp. vzorku činila  $15 \pm 0,5$  g. Obě matrice byly zarovnané do jedné výšky. Po odstranění přepážky byla zahlazena vzniklá mezera mezi jednotlivými prostředími. Do takto připravené Petriho misky bylo přímo na rozhraní mezi matricemi nasazeno 10 vhodných jedinců. Jednotlivé Petriho misky s testovanými vzorky byly uzavřeny víčkem a na dobu 48 hodin byly uloženy k expozici za temna do inkubátoru při teplotě  $20 \pm 2$  °C. V průběhu testu nebylo organismům podáváno žádné krmění (ISO 17512-2, 2011).



Obr. 13. Petriho miska s nasazeným testem před vyhodnocením vlevo, počítání organismů v jednotlivých dílech vpravo (vlastní foto).

*Vyhodnocení testu:* po 48 hodinách expozice byl vyhodnocen počet testovacích organismů v jednotlivých dílech Petriho misek (viz Obr. 13). Matrice byly opět odděleny přepážkou, díly byly odděleny a zality deionizovanou vodou a bylo spočítáno množství organismů plovoucích na hladině v obou prostorech. Porovnáním počtu organismů ve standardní půdě s počtem organismů v testované matrici byla na základě preference prostředí vyhodnocena míra únikového chování chvostoskoků. Procentuální míra únikovosti  $A$  byla vypočtena dle rovnice (15).

$$(15) A = \frac{N_0 - N_x}{N_0} \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

$N_0$  je předpokládaný počet organismů v kontrolní matrici,

$N_x$  je počet nalezených organismů v testované matrici.

Výpočet je založen na předpokladu homogenní distribuce organismů mezi jednotlivými matricemi, tj. 50:50 (ISO 17512-2, 2011).

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Výsledky referenčních testů se standardní látkou

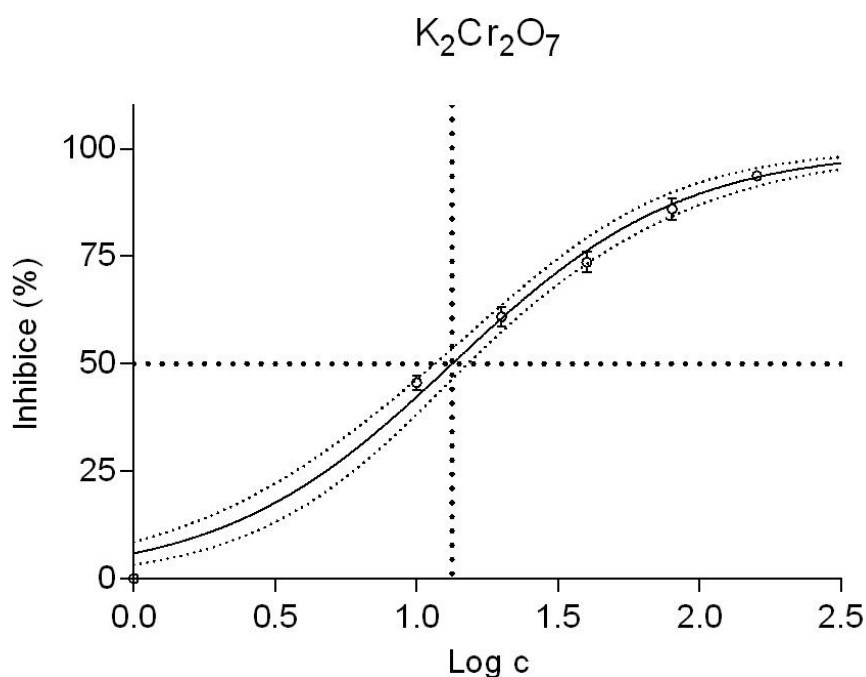
Kapitola zpřehledňuje výsledky referenčních testů za účelem posouzení validity vybraných metod.

#### 4.1.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

V souladu s postupem uvedeným v Kap. 3.2.1.1. byla citlivost testovacích organismů ověřena pomocí referenčního testu se standardní látkou. Jako standardní látka byl použit roztok  $K_2Cr_2O_7$ , ze kterého byla připravena koncentrační řada o koncentracích 10; 20; 40; 80; 160 a 320 mg/l. Výsledky referenčního testu jsou uvedeny v Tab. 14.

Tab. 14. Výsledky referenčního testu pro semena hořčice bílé *S. alba*.

$K_2Cr_2O_7$							
c (mg/l)	0	10	20	40	80	160	320
$\bar{L}$ (mm)	3,32	1,81	1,30	0,87	0,46	0,21	0,10
$\bar{I}$ (%)	-	45,6	61,0	73,7	86,0	93,7	97,0



Graf 1. Grafické znázornění závislosti míry inhibice růstu kořene na koncentraci v logaritmických hodnotách po 72 hodinové expozici.

Propojením souboru bodů v grafu, které znázorňují závislost inhibice růstu kořene na logaritmických hodnotách koncentrace standardní referenční látky, vznikla křivka dávka-odpověď zobrazená na Graf 1. Nelineární regresí křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota **IC50 13,4 mg/l**. Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení toxicity odpadů definuje platnost testu, pokud je výsledná hodnota IC50

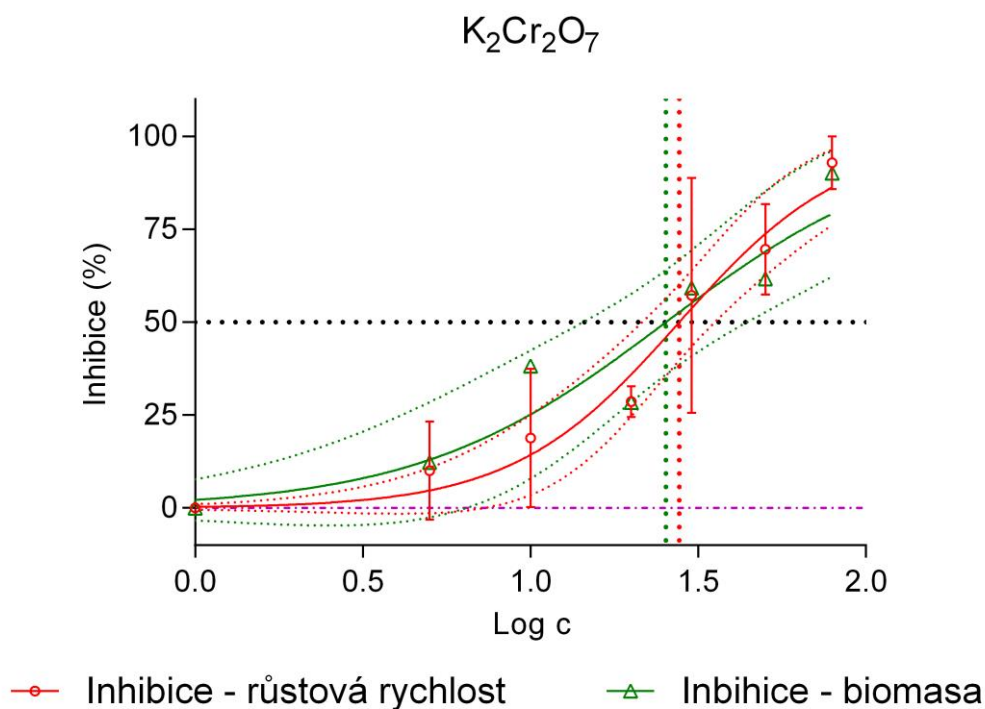
v rozmezí 10 - 50 mg/l. Výsledek testu splňuje normovanou hodnotu a testovací organismy tedy vykazují požadovanou citlivost vůči testované látce.

#### 4.1.2 Test inhibice růstu okřehku menšího *L. minor*

V souladu s postupem uvedeným v Kap. 3.2.1.1. byla citlivost testovacích organismů ověřena pomocí referenčního testu se standardní látkou. Jako standardní látka byl použit roztok  $K_2Cr_2O_7$ , ze kterého byla připravena koncentrační řada o koncentracích 0; 5; 10; 20; 30; 50 a 80 mg/l. Výsledky referenčního testu jsou uvedeny v Tab. 15.

Tab. 15. Výsledky referenčního testu pro okřehek menší *L. minor*.

$K_2Cr_2O_7$							
c (mg/l)	0	5	10	20	30	50	80
$N_n$	108	94	82	73	53	42	30
$\mu$ ( $den^{-1}$ )	0,0083	0,0074	0,0066	0,0059	0,0040	0,0026	0,0006
$m_B$ (g)	0,0081	0,0071	0,0050	0,0058	0,0033	0,0031	0,0008
$I_{\mu i}$ (%)	-	10,0	19,9	28,3	51,4	68,1	92,4
$I_B$ (%)	-	12,4	38,3	28,4	59,3	61,7	90,1



Graf 2. Grafické znázornění závislosti míry inhibice růstu na koncentraci v logaritmických hodnotách po 168 hodinové expozici.

Propojením souboru bodů v grafu, které znázorňují závislost inhibice růstu na logaritmických hodnotách koncentrace standardní referenční látky, vznikla křivka dávka-odpověď zobrazená na Graf 2. Nelineární regresí křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla na základě inhibice růstové rychlosti vypočtena hodnota **IC50 27,8 mg/l**. Na základě inhibice porovnání hmotností suché biomasy byla vypočtena hodnota

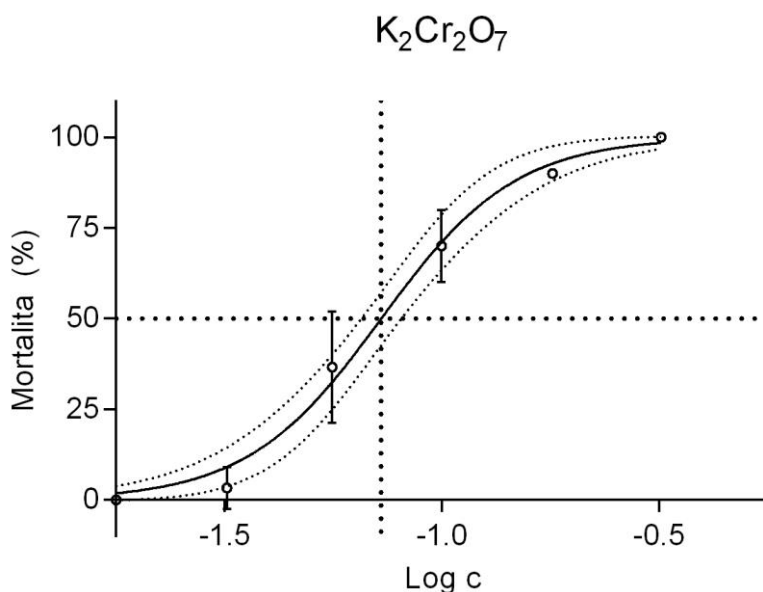
**IC50 25,3 mg/l.** Oba výsledky testu splňují normované rozmezí 10 - 50 mg/l. Testovací organismy proto vykazují požadovanou citlivost vůči testované látce.

#### 4.1.3 Thamnotoxkit F<sup>TM</sup>

V souladu s postupem uvedeným v Kap. 3.2.1.1. byla citlivost testovacích organismů *T. platyurus* ověřena pomocí referenčního testu se standardní látkou. Jako standardní látka byl použit roztok K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, ze kterého byla připravena koncentrační řada o koncentracích 0,032; 0,056; 0,1; 0,18 a 0,32 mg/l. Výsledky referenčního testu jsou uvedeny v Tab. 16.

Tab. 16. Výsledky referenčního testu s organismy *T. platyurus*.

K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>						
c (mg/l)	0	0,032	0,056	0,100	0,180	0,320
Počet živých organismů	30/30	29/30	19/30	9/30	3/30	0/30
Mortalita (%)	0,0	3,3	36,7	70,0	90,0	100



Graf 3. Grafické znázornění závislosti míry mortality na koncentraci v logaritmických hodnotách se standardní odchylkou SD.

Propojením souboru bodů v grafu, které znázorňují závislost mortality na logaritmických hodnotách koncentrace standardní referenční látky, vznikla křivka dávka-odpověď zobrazená na Graf 3. Nelineární regresí křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byla vypočtena hodnota **LC50 0,073 mg/l**. Výrobce testovací sady definuje platnost testu, pokud je výsledná hodnota LC50 v rozmezí 0,060 – 0,095 mg/l. Výsledky testu splňuje deklarovanou hodnotu a testovací organismy proto vykazují požadovanou citlivost vůči testované látce.

#### 4.1.4 Daphtoxkit F<sup>TM</sup> magna

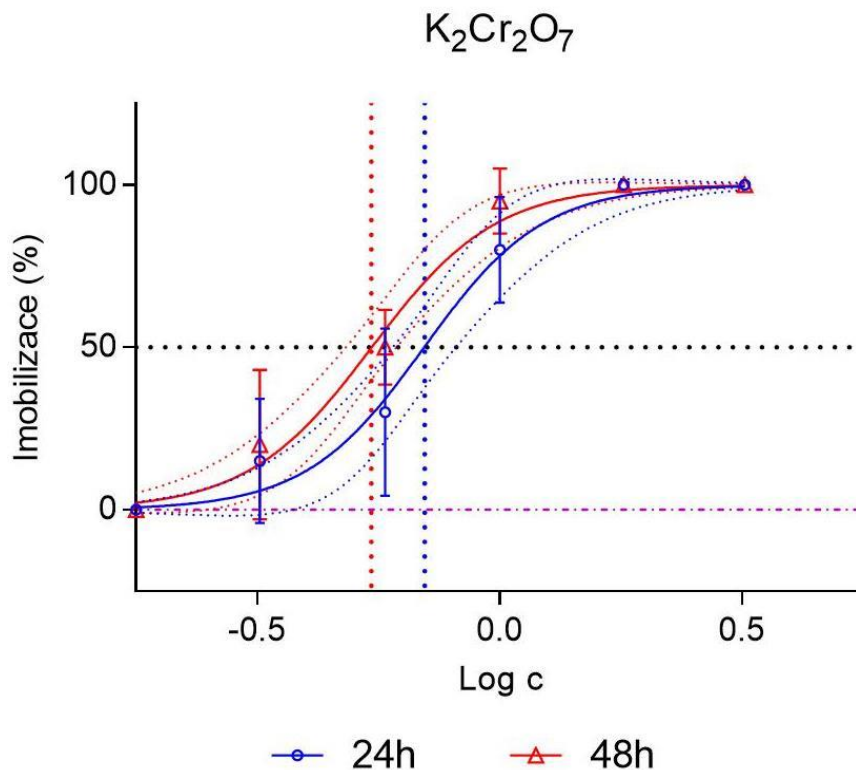
V souladu s postupem uvedeným v Kap. 3.2.1.1. byla citlivost testovacích organismů z kytu a organismů z laboratorního chovu ověřena pomocí referenčního testu se standardní látkou.



Jako standardní látka byl použit roztok  $K_2Cr_2O_7$ , ze kterého byla připravena koncentrační řada o koncentracích 0,32; 0,56; 1,0; 1,8 a 3,2 mg/l. Výsledky referenčního testu pro organismy z kitu jsou uvedeny v Tab. 17, pro organismy z laboratorního chovu potom v Tab. 18.

Tab. 17. Výsledky referenčního testu s organismy *D. magna* z kitu.

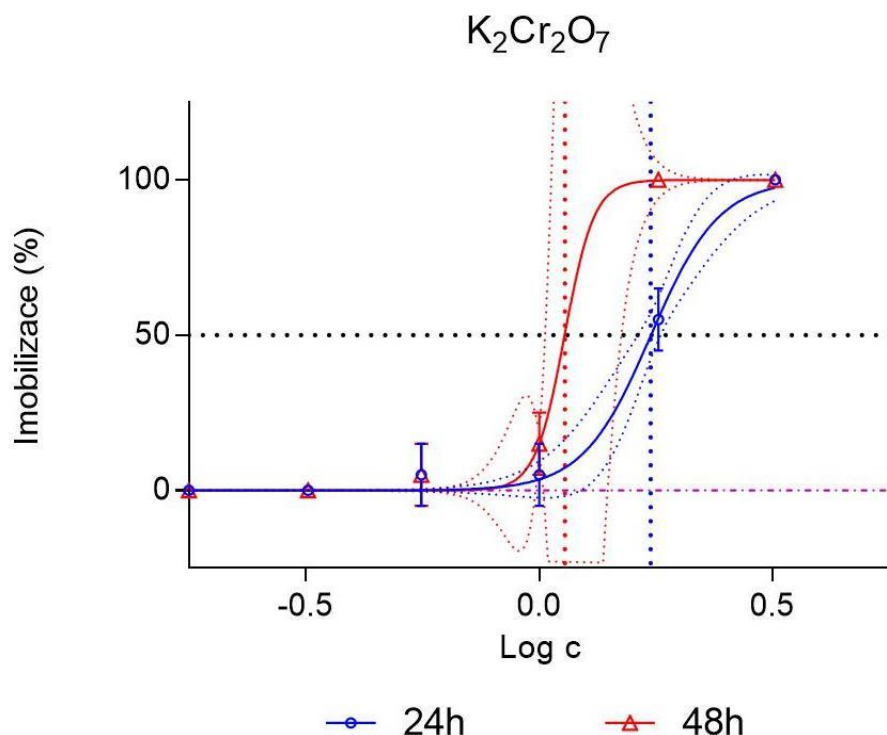
		$K_2Cr_2O_7$					
c (mg/l)		0	0,32	0,56	1,0	1,8	3,2
Vitální organismy	24 h	20	17	14	4	0	0
	48 h	20	16	10	1	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	15	30	80	100	100
	48 h	0	20	50	95	100	100



Graf 4. Grafické znázornění závislosti míry imobilizace lyofilizovaných organismů na koncentraci v logaritmických hodnotách se standardní odchylkou SD po 24 a 48 hodinové expozici.

Tab. 18. Výsledky referenčního testu s organismy z laboratorního chovu *D. magna*.

		<b>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></b>					
<b>c (mg/l)</b>		<b>0</b>	<b>0,32</b>	<b>0,56</b>	<b>1,0</b>	<b>1,8</b>	<b>3,2</b>
Vitální organismy	24 h	20	20	19	19	9	0
	48 h	20	20	19	17	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	0	5	5	55	100
	48 h	0	0	5	15	100	100



Graf 5. Grafické znázornění závislosti míry imobilizace organismů z chovu na koncentraci v logaritmičeských hodnotách po 24 a 48 hodinové expozici.

Propojením souboru bodů v grafu, které znázorňují závislost imobilizace organismů na logaritmičeských hodnotách koncentrace standardní referenční látky, vznikla křivka dávka-odpověď (viz Graf 4 a Graf 5). Nelineární regresí křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byly vypočteny hodnoty 24hEC<sub>50</sub> a 48hEC<sub>50</sub>.

Pro organismy z testovacího kitu byla vypočtena hodnota **24hEC<sub>50</sub> 0,70 mg/l** a hodnota **48hEC<sub>50</sub> 0,54 mg/l**. Specifikační list dodaný k organismům definuje jejich citlivost průměrnými hodnotami EC<sub>50</sub> pro standardní látku, a to 24hEC<sub>50</sub> 1,32 mg/l a 48hEC<sub>50</sub> 0,84 mg/l. Hodnota 24hEC<sub>50</sub> současně musí být v přijatelném rozmezí 0,6 – 2,1 mg/l v souladu s normou ISO 6341. Výsledek po 24 hodinové expozici splňuje podmínku normy ISO 6341, avšak od hodnoty dané výrobcem se značně liší. Organismy z kitu jsou proto citlivější než organismy z chovu.

Pro organismy z laboratorního chovu byla vypočtena hodnota **24hEC<sub>50</sub> 1,73 mg/l** a hodnota **48hEC<sub>50</sub> 1,13 mg/l**. ISO norma 6341 definuje platnost testu, pokud jsou výsledné hodnoty EC<sub>50</sub> v rozmezí 0,6 – 2,1 mg/l. Oba výsledky testu spadají do rozmezí hodnot daných normou a testovací organismy proto vykazují požadovanou citlivost vůči testované látce.

#### 4.1.5 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

V souladu s postupem uvedeným v Kap. 3.2.1.1. byla citlivost testovacích lyofilizovaných organismů ověřena pomocí referenčního testu se standardní látkou. Jako standardní látka byl použit 7,5% roztok NaCl a  $K_2Cr_2O_7$ , pro které byla změřena hodnota intenzity záření a míra inhibice luminiscence. Výsledky referenčních testů jsou uvedeny v Tab. 19.

Tab. 19. Výsledky referenčního testu s lyofilizovanými organismy *V. fischeri*.

<b><math>K_2Cr_2O_7</math> (c = 105,8 mg/l)</b>									
n	$I_0$	$I_{15}$	$I_{30}$	$f_{kt15}$	$\overline{f_{kt15}}$	Inhibice <sub>15</sub> (%)	$f_{kt30}$	$\overline{f_{kt30}}$	Inhibice <sub>30</sub> (%)
1.	1 527	645,4	501,7	0,423	0,231	40,87	0,339	0,1155	61,70
2.	944,6	146,4	80,75	0,106		78,10	0,053		80,00
3.	736,8	268,5	128,8	0,186		63,96	0,084		84,31
<b>NaCl (c = 7,5 %)</b>									
n	$I_0$	$I_{15}$	$I_{30}$	$f_{kt15}$		Inhibice <sub>15</sub> (%)	$f_{kt30}$		Inhibice <sub>30</sub> (%)
1.	736,8	275,6	127,6	0,374		62,66	0,173		84,66

Výsledky testů se standardními referenčními látkami vypovídají o validitě testu a vhodné citlivosti organismů. Aby byl test validní, musí se výsledné hodnoty korekčních faktorů pohybovat v rozmezí 0,6 – 1,8. Další podmínkou platnosti testu je pro standardní látku dichroman draselný ( $K_2Cr_2O_7$ ) při 30 minutové expozici inhibice v rozmezí 20 – 80 %. Pro standardní látku chlorid sodný (NaCl) by za stejných podmínek měly organismy vykazovat inhibici 40 – 60 %.

Protože většina testů ekotoxicity, které uvádí tato práce, používá jako standardní látku  $K_2Cr_2O_7$ , bylo měření této látky opakováno celkem třikrát. Korekční faktory u všech měření jsou nižší než spodní hranice limitu pro hodnocení validity testu. Avšak pouze s jedinou výjimkou byla ve všech případech splněna podmínka pro míru inhibice v daném rozmezí, a to při měření inhibice luminiscence v posledním vzorku po 30 minutách expozice, v rámci kterého byla naměřena hodnota 84,31 %.

Jako druhou standardní látku lze použít 7,5% roztok NaCl. Tento byl pouze pro zajímavost měřen pouze jedenkrát. I v tomto případě vyšel korekční faktor hluboce pod spodním limitem. Inhibice luminiscence po 15 i po 30 minutách přesáhla horní limit hranice.

Získané výsledky vypovídají o vyšší citlivosti organismů, než je požadováno. Tento jev může být zapříčiněn způsobem skladování organismů během přepravy. Organismy musí být uchovávány striktně při teplotě -18 °C. Tato teplota nemusela být v rámci logistiky vždy dodržena. Z toho důvodu jsou výsledky testů na organismech *V. fischeri* pouze orientační.

#### 4.2 Výsledky testování bodových zdrojů znečištění

Kapitola zpřehledňuje výsledky všech testů, vybraných pro posouzení možných negativních účinků jednotlivých bodových zdrojů znečištění na přírodní ekosystémy. Postupně jsou uvedeny výsledky testování pěnových hasebních prostředků a jejich půdních filtrátů, čistíren odpadních vod a biocharu.

## 4.2.1 Pěnové hasební prostředky

### 4.2.1.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita všech vzorků připravených z koncentrátů hasebních pěnidel, a to vzorků pracovních roztoků a filtrátů z infiltračního experimentu s využitím půdy Lufa 2.2 a 2.3 (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.).

Byly nasazeny základní testy vzorků s koncentrační řadou v rozmezí 0 až 500 ml/l. Pro každý vzorek byla koncentrační řada upravena individuálně podle míry efektu pozorovaného v předchozích testech. U vzorků FF-15 a MAF-15 byla testována dodatečná koncentrační řada pro doplnění výsledků základního testu. Výsledky základních a doplňkových testů všech vzorků jsou dle typu vzorku postupně uvedeny v Tab. 20, 21 a 22.

Tab. 20. Vyhodnocené výsledky základních testů pracovních roztoků hasebních prostředků pro organismus *S. alba*.

EF-15								
c (ml/l)	0	15	30	60	120	240		
$\bar{L}$ (mm)	4,09	2,34	2,61	1,50	0,52	0,35		
$\bar{I}$ (%)	-	42,9	36,2	63,3	87,3	91,3		
FF-15								
c (ml/l)	0	15	30	60	120	240		
$\bar{L}$ (mm)	4,09	2,32	2,37	2,46	1,71	0,50		
$\bar{I}$ (%)	-	43,3	41,9	39,9	58,2	87,9		
Doplňkový FF-15								
c (ml/l)	0	10	25	50	150			
$\bar{L}$ (mm)	3,82	2,60	2,45	2,54	1,10			
$\bar{I}$ (%)	-	32,1	35,9	33,2	71,2			
MAF-15								
c (ml/l)	0	15	30	60	120	240	480	
$\bar{L}$ (mm)	4,09	3,20	3,03	3,19	1,56	0,69	0,36	
$\bar{I}$ (%)	-	22,9	25,8	22,0	61,9	83,1	91,1	
Doplňkový MAF-15								
c (ml/l)	0	50	100	250	500			
$\bar{L}$ (mm)	3,82	3,49	2,74	0,99	0,56			
$\bar{I}$ (%)	-	8,6	28,2	74,0	85,3			
PB								
c (ml/l)	0	20	40	60	80	100	200	300
$\bar{L}$ (mm)	3,60	1,98	1,11	0,58	0,36	0,32	0,10	0,02
$\bar{I}$ (%)	-	45,0	69,1	84,0	89,9	91,0	97,1	99,4
SF-15								
c (ml/l)	0	20	40	60	80	100	200	300
$\bar{L}$ (mm)	3,54	1,87	1,30	0,70	0,40	0,42	0,05	0,00
$\bar{I}$ (%)	-	48,2	64,0	80,8	89,1	87,3	98,5	100,0

Tab. 21. Vyhodnocené výsledky základních testů filtrátů infiltrovaných do půdy Lufa 2.2 pro organismus *S. alba*.

<b>E2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>240</b>
$\bar{L}$ (mm)	3,91	2,45	2,24	1,65	0,95	0,34
$\bar{I}$ (%)	-	36,4	42,5	57,2	75,5	91,0
<b>F2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>240</b>
$\bar{L}$ (mm)	3,91	2,23	2,47	2,46	1,62	0,94
$\bar{I}$ (%)	-	42,0	36,9	36,5	58,5	75,7
<b>M2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>400</b>
$\bar{L}$ (mm)	2,59	2,24	2,22	1,83	0,62	0,34
$\bar{I}$ (%)	-	13,7	13,9	29,4	76,0	86,7
<b>P2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>240</b>
$\bar{L}$ (mm)	3,91	3,12	2,59	2,01	0,89	0,22
$\bar{I}$ (%)	-	24,5	44,4	53,6	80,9	95,0
<b>S2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>
$\bar{L}$ (mm)	3,91	2,70	2,14	1,47	0,39	0,01
$\bar{I}$ (%)	-	29,5	44,9	62,4	89,8	99,8

Tab. 22. Vyhodnocené výsledky základních testů filtrátů infiltrovaných do půdy Lufa 2.3 pro organismus *S. alba*.

<b>E2.3</b>										
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>37,5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>125</b>
$\bar{L}$ (mm)	4,17	3,06	2,18	2,39	1,87	2,13	1,57	1,46	1,09	0,39
$\bar{I}$ (%)	-	26,6	36,4	42,4	45,4	48,9	62,6	57,3	68,1	90,6
<b>F2.3</b>										
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>125</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	
$\bar{L}$ (mm)	2,58	2,34	2,69	2,39	2,10	2,08	0,55	0,20		
$\bar{I}$ (%)	-	28,60	18,28	27,40	38,88	37,26	69,21	90,02		
<b>M2.3</b>										
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>250</b>	<b>300</b>	<b>500</b>	
$\bar{L}$ (mm)	4,17	4,47	3,38	4,24	3,19	2,61	2,05	1,06	0,95	
$\bar{I}$ (%)	-	-7,7	1,0	-1,8	23,4	23,6	50,7	69,0	72,3	
<b>P2.3</b>										
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>125</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	
$\bar{L}$ (mm)	2,36	2,36	2,15	2,29	1,89	1,72	0,36	0,31	0,06	
$\bar{I}$ (%)	-	21,7	28,7	24,2	37,2	43,0	78,8	89,6	98,0	

S2.3									
c (ml/l)	0	15	20	30	40	60	80	100	120
$\bar{L}$ (mm)	3,44	2,54	2,17	1,89	0,84	0,61	0,41	0,30	0,45
$\bar{I}$ (%)	-	25,8	36,8	44,9	75,6	75,6	88,2	91,2	86,9

Z výsledků základních testů byla vypočtena míra procentuální inhibice růstu kořene ve všech koncentracích jednotlivých vzorků. Prostřednictvím nelineární regrese závislosti inhibice na koncentraci vyjádřené v logaritmických hodnotách byly vypočteny hodnoty IC50 pro jednotlivé vzorky. Data byla zpracována v programu MS Excel. Za účelem posouzení statisticky významné odchylky mezi délkami kořínků v jednotlivých opakováních byla využita analýza rozptylu ANOVA. Výsledné hodnoty IC50 byly potom vypočítány s 95% intervalem spolehlivosti pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0. Normalita dat byla ověřena prostřednictvím D'Agostino-Pearson omnibus a Shapiro-Wilkova testu normality.

Hodnota IC50 pro vzorek EF-15 byla stanovena na 31,6 ml/l, pro FF-15 54,2 ml/l, MAF-15 158,8 ml/l, PB 23,1 ml/l a SF-15 22,7 ml/l.

Hodnota IC50 pro vzorek E2.2 byla stanovena na 36,2 ml/l, pro F2.2 64,8 ml/l, M2.2 132,6 ml/l, P2.2 52,6 ml/l a S2.2 33,4 ml/l.

Hodnota IC50 pro vzorek E2.3 byla stanovena na 34,4 ml/l, pro F2.3 95,0 ml/l, M2.3 239,7 ml/l, P2.3 90,6 ml/l a S2.3 27,5 ml/l. Výsledné hodnoty IC50 jsou zřehledněny v Tab. 23.

Tab. 23. Vypočtené hodnoty IC50 pro testovací organismus *S. alba*.

Typ vzorku	Výsledek	Hasební prostředky				
		EF-15	FF-15	MAF-15	PB	SF-15
PR	LogIC50±SE	1,500 ± 0,063	1,734 ± 0,073	2,201 ± 0,018	1,364 ± 0,022	1,356 ± 0,023
	IC50 (ml/l)	31,6	54,2	158,8	23,1	22,7
	95% CI	22,9 – 43,7	38,1 – 77,0	144,6 – 174,4	20,8 – 25,6	20,3 – 25,3
Filtrát 2.2	LogIC50±SE	1,559 ± 0,052	1,811 ± 0,102	2,123 ± 0,039	1,721 ± 0,042	1,524 ± 0,050
	IC50 (ml/l)	36,2	64,8	132,6	52,6	33,4
	95% CI	27,7 – 47,3	38,4 – 109,3	108,8 – 161,8	42,3 – 65,4	25,8 – 43,2
Filtrát 2.3	LogIC50±SE	1,536 ± 0,034	1,978 ± 0,044	2,380 ± 0,037	1,957 ± 0,029	1,439 ± 0,027
	IC50 (ml/l)	34,4	95,0	239,7	90,6	27,5
	95% CI	29,2 – 40,5	77,1 – 117,0	199,4 – 288,3	79,1 – 103,8	24,1 – 31,3

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

#### 4.2.1.2 Test inhibice prodloužení kořenů cibulových sazeček *A. cepa* L.

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita všech připravených vzorků připravených z koncentrátů hasebních pěnidel, a to vzorků pracovních roztoků a filtrátů z infiltračního experimentu s využitím půdy Lufa 2.2 a 2.3 (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.).

Základní testy vzorků pracovních roztoků byly nasazeny s koncentrační řadou 0; 12,5; 25; 50; 75 a 100 ml/l. Výjimkou byl prostředek Moussol-APS F-15, u kterého byla testována navíc koncentrace 200 ml/l. Naopak u prostředku Sthamex F-15 nebyla testována koncentrace 100 ml/l. U vzorků filtrátů byla koncentrační řada zvolena vždy individuálně pro každý vzorek v rozsahu 0 až 300 ml/l. Výsledky základních testů jsou dle typu vzorku postupně uvedeny v Tab. 24, 25 a 26.

Tab. 24. Vyhodnocené výsledky základních testů pracovních roztoků hasebních prostředků pro organismus *A. cepa*.

EF-15							
c (ml/l)	0	12,5	25	50	75	100	
$\bar{L}$ (mm)	5,97	3,19	2,47	0,58	0,18	0,06	
I (%)	-	46,5	58,7	90,2	97,1	99,0	
m <sub>B</sub> (g)	0,1235	0,0675	0,0687	0,0245	0,0054	0,0017	
I <sub>B</sub> (%)	-	45,3	44,4	80,2	95,6	98,6	
FF-15							
c (ml/l)	0	12,5	25	50	75	100	
$\bar{L}$ (mm)	6,03	4,38	2,65	1,13	0,38	0,13	
I (%)	-	27,3	56,1	81,2	93,8	97,8	
m <sub>B</sub> (g)	0,1665	0,1341	0,1117	0,0704	0,0202	0,0066	
I <sub>B</sub> (%)	-	19,5	32,9	57,7	87,9	96,0	
MAF-15							
c (ml/l)	0	12,5	25	50	75	100	200
$\bar{L}$ (mm)	5,97	3,45	3,08	2,65	2,12	1,94	0,68
I (%)	-	42,2	48,3	55,6	64,5	67,5	88,7
m <sub>B</sub> (g)	0,1235	0,0952	0,1034	0,0846	0,0599	0,0542	0,0235
I <sub>B</sub> (%)	-	22,9	16,3	31,5	51,5	56,1	81,0
PB							
c (ml/l)	0	12,5	25	50	75	100	
$\bar{L}$ (mm)	6,03	1,45	0,43	0,18	0,08	0,09	
I (%)	-	76,0	93,0	97,0	98,6	98,5	
m <sub>B</sub> (g)	0,1665	0,0585	0,0166	0,0114	0,0082	0,0087	
I <sub>B</sub> (%)	-	64,9	90,0	93,2	95,1	94,8	
SF-15							
c (ml/l)	0	12,5	25	50	75		
$\bar{L}$ (mm)	6,03	2,94	1,70	0,76	0,23		
I (%)	-	51,2	71,8	87,4	96,1		
m <sub>B</sub> (g)	0,1665	0,1244	0,0972	0,0606	0,0134		
I <sub>B</sub> (%)	-	25,3	41,6	63,6	92,0		

Tab. 25. Vyhodnocené výsledky základních testů filtrátů infiltrovaných do půdy Lufa 2.2 pro organismus *A. cepa*.

<b>E2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	
$\bar{L}$ (mm)	4,57	3,10	1,47	0,94	0,41	
I (%)	-	32,1	67,9	79,4	91,1	
m <sub>B</sub> (g)	0,1980	0,1706	0,0805	0,0516	0,0276	
I <sub>B</sub> (%)	-	13,8	59,3	73,9	86,1	
<b>F2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>
$\bar{L}$ (mm)	5,13	3,13	2,55	1,49	1,43	0,75
I (%)	-	38,9	50,2	70,9	72,0	85,4
m <sub>B</sub> (g)	0,1744	0,1495	0,1009	0,076	0,0666	0,0328
I <sub>B</sub> (%)	-	14,3	42,1	56,4	61,8	81,2
<b>M2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>
$\bar{L}$ (mm)	5,13	3,36	2,23	2,06	1,43	1,04
I (%)	-	34,5	56,6	59,8	72,2	79,7
m <sub>B</sub> (g)	0,1744	0,1201	0,0881	0,0704	0,0623	0,0499
I <sub>B</sub> (%)	-	31,1	49,5	59,6	64,3	71,4
<b>P2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>
$\bar{L}$ (mm)	4,57	3,78	2,23	1,02	0,41	0,23
I (%)	-	17,3	51,3	77,7	91,1	95,1
m <sub>B</sub> (g)	0,198	0,1954	0,1237	0,0778	0,0284	0,0124
I <sub>B</sub> (%)	-	1,31	37,5	60,7	85,7	93,7
<b>S2.2</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>
$\bar{L}$ (mm)	5,13	3,12	1,84	1,08	0,40	0,17
I (%)	-	39,2	64,2	79,0	92,2	96,7
m <sub>B</sub> (g)	0,1744	0,1293	0,0923	0,0549	0,0216	0,0093
I <sub>B</sub> (%)	-	25,9	47,1	68,5	87,6	94,7



Tab. 26. Vyhodnocené výsledky základních testů filtrátů infiltrovaných do půdy Lufa 2.3 pro organismus *A. cepa*.

<b>E2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>		
$\bar{L}$ (mm)	5,38	3,27	1,94	1,20	0,57	0,36		
I (%)	-	39,2	63,9	77,7	89,5	93,3		
$m_B$ (g)	0,1753	0,1289	0,0609	0,0516	0,04	0,016		
$I_B$ (%)	-	26,5	65,3	70,6	77,2	90,9		
<b>F2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>150</b>			
$\bar{L}$ (mm)	5,97	3,06	1,40	0,57	0,25			
I (%)	-	48,7	76,5	90,5	95,8			
$m_B$ (g)	0,1690	0,1066	0,0617	0,0255	0,0148			
$I_B$ (%)	-	36,9	63,5	84,9	91,2			
<b>M2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>			
$\bar{L}$ (mm)	5,38	3,52	2,63	2,03	2,32			
I (%)	-	34,6	51,2	62,3	56,9			
$m_B$ (g)	0,1753	0,0988	0,0979	0,0868	0,0951			
$I_B$ (%)	-	43,6	44,2	50,5	45,8			
<b>P2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>200</b>
$\bar{L}$ (mm)	7,79	3,69	3,19	1,10	0,48	0,27	0,18	0,13
I (%)	-	31,3	59,0	85,9	93,9	96,6	97,6	98,4
$m_B$ (g)	0,2550	0,1331	0,097	0,086	0,0182	0,0149	0,0105	0,0096
$I_B$ (%)	-	47,8	62,0	66,3	92,9	94,2	95,9	96,2
<b>S2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>200</b>	<b>300</b>	
$\bar{L}$ (mm)	5,97	2,62	1,28	0,42	0,24	0,11	0,01	
I (%)	-	56,1	78,6	93,0	95,9	98,2	99,9	
$m_B$ (g)	0,1690	0,0996	0,0613	0,0256	0,0089	0,005	0,001	
$I_B$ (%)	-	41,1	63,7	84,9	94,7	97,0	99,4	

Z výsledků základních testů byla vypočtena míra procentuální inhibice růstu kořene ve všech koncentracích jednotlivých vzorků. Prostřednictvím nelineární regrese závislosti inhibice na koncentraci vyjádřené v logaritmickech hodnotách byly vypočteny hodnoty IC50 pro jednotlivé vzorky. Data byla zpracována v programu MS Excel. Za účelem posouzení normálního rozdělení dat byl použit D'agostino Pearson Omnibus test a Shapirův-Wilkův test normality. Výsledné hodnoty IC50 byly potom vypočítány s 95% intervalem spolehlivosti pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0.

Hodnota **IC50** z hlediska posuzování inhibice růstu kořene pro vzorek **EF-15** byla stanovena na **15,7 ml/l**, pro **FF-15** **21,5 ml/l**, **MAF-15** **29,8 ml/l**, **PB** **7,31 ml/l** a **SF-15** **12,6 ml/l**. Hodnota **IC50** pro vzorek **E2.2** byla stanovena na **18,3 ml/l**, pro **F2.2** **22,4 ml/l**,

**M2.2 26,4 ml/l, P2.2 25,4 ml/l a S2.2 17,6 ml/l.** Hodnota **IC50** pro vzorek **E2.3** byla stanovena na **17,6 ml/l**, pro **F2.3 26,4 ml/l, M2.3 54,4 ml/l, P2.3 20,1 ml/l a S2.3 22,3 ml/l.**

Hodnota **IC50** z hlediska posuzování množství biomasy pro vzorek **EF-15** byla stanovena na **19,2 ml/l**, pro **FF-15 34,8 ml/l, MAF-15 76,5 ml/l, PB 8,77 ml/l a SF-15 28,8 ml/l.** Hodnota **IC50** pro vzorek **E2.2** byla stanovena na **25,0 ml/l**, pro **F2.2 39,9 ml/l, M2.2 36,0 ml/l, P2.2 36,2 ml/l a S2.2 26,2 ml/l.** Hodnota **IC50** pro vzorek **E2.3** byla stanovena na **21,8 ml/l**, pro **F2.3 35,1 ml/l, M2.3 79,6 ml/l, P2.3 15,8 ml/l a S2.3 32,8 ml/l.** Výsledné hodnoty **IC50** jsou zřehledněny v Tab. 27 a 28.

Tab. 27. Vypočtené hodnoty **IC50** z hlediska posuzování inhibice růstu kořene pro testovací organismus *A. cepa*.

Typ vzorku	Výsledek	Hasební prostředky				
		EF-15	FF-15	MAF-15	PB	SF-15
PR	LogIC50±SE	1,197 ± 0,047	1,333 ± 0,011	1,475 ± 0,088	0,8637 ± 0,022	1,099 ± 0,023
	IC50 (ml/l)	15,7	21,5	29,8	7,31	12,6
	95% CI	12,3 – 20,1	20,4 – 22,8	19,2 – 46,5	6,54 – 8,16	11,1 – 14,2
Filtrát 2.2	LogIC50±SE	1,262 ± 0,026	1,350 ± 0,061	1,422 ± 0,092	1,405 ± 0,024	1,245 ± 0,031
	IC50 (ml/l)	18,3	22,4	26,4	25,4	17,6
	95% CI	15,9 – 21,0	16,3 – 30,7	16,5 – 42,4	22,4 – 28,8	15,0 – 20,6
Filtrát 2.3	LogIC50±SE	1,246 ± 0,038	1,421 ± 0,036	1,736 ± 0,084	1,303 ± 0,022	1,348 ± 0,027
	IC50 (ml/l)	17,6	26,4	54,4	20,1	22,3
	95% CI	14,5 – 21,5	21,8 – 31,9	34,8 – 85,2	18,0 – 22,4	19,4 – 25,6

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

Tab. 28. Vypočtené hodnoty **IC50** z hlediska posuzování množství biomasy pro testovací organismus *A. cepa*.

Typ vzorku	Výsledek	Hasební prostředky				
		EF-15	FF-15	MAF-15	PB	SF-15
PR	LogIC50±SE	1,283 ± 0,088	1,541 ± 0,046	1,884 ± 0,052	0,943 ± 0,050	1,460 ± 0,053
	IC50 (ml/l)	19,2	34,8	76,5	8,77	28,8
	95% CI	11,0 – 33,5	25,9 – 46,7	56,3 – 104,0	6,37 – 12,1	19,5 – 42,6
Filtrát 2.2	LogIC50±SE	1,398 ± 0,049	1,601 ± 0,044	1,556 ± 0,076	1,558 ± 0,035	1,418 ± 0,030
	IC50 (ml/l)	25,0	39,9	36,0	36,2	26,2
	95% CI	17,4 – 35,9	30,0 – 52,9	22,2 – 58,3	28,9 – 45,3	21,6 – 31,7

<b>Filtrát 2.3</b>	LogIC50±SE	1,338 ± 0,064	1,545 ± 0,004	1,901 ± 0,151	1,198 ± 0,074	1,515 ± 0,019
	IC50 (ml/l)	21,8	35,1	79,6	15,8	32,8
	95% CI	14,5 – 32,8	34,2 – 36,0	26,3 – 241,3	10,4 – 23,9	29,2 – 36,7

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

#### 4.2.1.3 *Thamnotoxkit F<sup>TM</sup>*

Test využívající organismus *T. platyurus* byl použit pouze pro posouzení vlivu degradace roztoku způsobené fyzikálními vlivy v laboratorním prostředí na míru ekotoxického účinku v čase. K tomuto účelu byl zvolen filtrát prostředku Expyrol F- 15, který byl zachycen po infiltraci do půdní matrice Lufa 2.3 (vzorek E2.3 – specifikace viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.) a byl exponován za laboratorních podmínek po dobu 14 a 30 dní. Protože nebyla známa míra ekotoxického účinku připraveného vzorku filtrátu, byl nejdříve nasazen předběžný test, pro který byla připravena koncentrační řada vzorku o koncentracích 6,25; 10; 12,5; 15; 17,5; 20; 22,5; 25; 50 a 100 ml/l. Výsledky předběžného testu jsou uvedeny v Tab. 29.

Tab. 29. Vyhodnocené výsledky předběžného testu výchozího vzorku E 2.3.

<b>Výchozí roztok E2.3</b>											
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>6,25</b>	<b>10</b>	<b>12,5</b>	<b>15</b>	<b>17,5</b>	<b>20</b>	<b>22,5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>
Počet živých organismů	30	21	6	0	0	0	0	0	0	0	0
Mortalita (%)	0	30	80	100	100	100	100	100	100	100	100

Na základě výsledků předběžného testu byl pro základní test výchozího roztoku zvolen užší rozsah koncentrací, a to 1,0; 2,5; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0; 12,0 ml/l. Pro vzorky degradovaného roztoku již nebyl dělán předběžný test. Na základě předběžného testu výchozího roztoku byly připraveny koncentrační řady pro základní test dvou následujících vzorků. Pro vzorek po čtrnáctidenní degradaci byl zvolen rozsah koncentrací 1,5; 2,5; 5,0; 6,0; 7,5; 8,0; 10,0; 12,5; 15,0; 25,0; 50,0 a 100 ml/l. Pro vzorek po třicetidenní degradaci byl zvolen rozsah koncentrací 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 25,0; 50,0 a 100 ml/l. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 30.

Tab. 30. Výsledky základního testu vzorku E2.3 a jeho degradovaných forem.

<b>Výchozí roztok E2.3</b>											
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2,5</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
Počet živých organismů	30	29	27	28	3	15	3	0	0	0	0
Mortalita (%)	0,0	3,3	10	6,7	90	50	90	100	100	100	100
<b>Roztok po čtrnáctidenní degradaci E2.3 (14)d</b>											
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>1,5</b>	<b>2,5</b>	<b>3,5</b>	<b>5,0</b>	<b>6,0</b>	<b>7,5</b>	<b>8,0</b>	<b>10</b>	<b>12,5</b>	<b>15</b>
Počet živých organismů	30	30	30	30	30	12	8	0	0	0	0
Mortalita (%)	0	0	0	0	0	60	73	100	100	100	100

c (ml/l)	25	50	100							
Počet živých organismů	0	0	0							
Mortalita (%)	100	100	100							
Roztok po třicetidenní degradaci E2.3 30d										
c (ml/l)	0	2,5	5	7,5	10	15	25	50	100	
Počet živých organismů	30	30	29	29	27	2	0	0	0	
Mortalita (%)	0	0	3,	3,3	10	93	100	100	100	

Z výsledků základního testu byla vypočtena míra procentuální mortality. Závislost mortality na koncentraci vyjádřené v logaritmických hodnotách byla graficky znázorněna. Prostřednictvím nelineární regrese křivky dávka-odpověď byla vypočtena hodnota LC50 pro jednotlivé vzorky. Pro výpočet byl program GraphPad Prism 6.0.

Hodnota **LC50** výstupního vzorku **E2.3** byla stanovena na **5,81 ml/l**, pro vzorek ponechaný k degradaci za laboratorních podmínek po dobu 14 dnů **5,85 ml/l** a pro tentýž vzorek ponechaný k degradaci po dobu 30 dnů **12,12 ml/l**. Výsledné hodnoty LC50 jsou zřehledněny v Tab. 31.

Tab. 31. Vypočtené hodnoty 24hLC50 filtrátu a jeho degradovaných forem pro testovací organismus *T. platyurus*.

Prostředek	E2.3	E2.3_14d	E2.3_30d
LogLC50±SE	0,7639 ± 0,025	-1,029 ± 0,010	1,084 ± 0,014
LC50 (ml/l)	5,81	5,85	12,1
95% CI	5,16 – 6,53	5,58 – 6,12	11,4 – 13,0

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

#### 4.2.1.4 Daphtoxkit F<sup>TM</sup>

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků a jejich filtrátů z půdy Lufa 2.3 (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.) Protože toxické účinky hasebních prostředků jsou již relativně známé, byl přímo nasazen základní test vzorku s koncentrační řadou 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 a 10 ml/l. Pracovní roztoky byly testovány na organismech z laboratorního chovu. Výsledky základních testů pracovních roztoků jsou uvedeny v Tab. 32.

Tab. 32. Vyhodnocené výsledky základních testů pracovních roztoků s organismy *D. magna* z laboratorního chovu.

EF-15							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	20	20	16	9	5	3
	48 h	20	20	13	8	4	3
Imobilizace (%)	24 h	0	0	23	55	78	85
	48 h	3	0	38	60	83	85

FF-15							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	20	20	19	12	11	3
	48 h	20	20	20	10	10	1
Imobilizace (%)	24 h	0	0	5	40	45	85
	48 h	0	0	0	50	50	95
MAF-15							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	20	20	20	18	19	20
	48 h	18	20	20	17	19	20
Imobilizace (%)	24 h	0	0	0	10	5	0
	48 h	10	0	0	15	5	0
PB							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	20	20	20	11	11	2
	48 h	20	19	11	7	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	0	2,5	45	48	90
	48 h	0	5	45	68	100	100
SF-15							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	20	20	20	11	11	2
	48 h	20	15	6	3	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	0	3	45	48	90
	48 h	0	28	70	88	100	100

Z výsledků předběžného testu prostředku MAF-15 nebylo možné sestavit reprezentativní křivku dávka-odpověď a nebylo proto možné vypočítat hodnoty 24hEC50 a 48hEC50. Vzorek byl dále testován v rámci základního testu v koncentrační řadě 0; 1,0; 10; 100; 200; 300 a 500 ml/l. Výsledky základního testu uvádí Tab. 33.

Tab. 33. Vyhodnocené výsledky základního testu prostředku MAF-15 s oživenými organismy *D. magna* z kytu.

MAF-15										
c (ml/l)		0	6,25	12,5	25	50	75	100	200	300
Vitální organismy	24 h	20	20	20	19	14	10	4	0	0
	48 h	20	20	19	19	7	4	0	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	0	0	5	30	50	80	100	100
	48 h	0	0	5	5	65	80	100	100	100

Z výsledků testů byla vypočtena procentuální mortalita v každé koncentraci. Prostřednictvím nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byly vypočteny hodnoty 24hEC50 a 48hEC50 pro jednotlivé vzorky.

Hodnota **24hEC50** pro vzorek **EF-15** byla stanovena na **5,70 ml/l**, pro **FF-15** **7,37 ml/l**, **MAF-15** **69,2 ml/l**, **PB** **5,66 ml/l** a pro **SF-15** **4,40 ml/l**.

Hodnota **48hEC50** pro vzorek **EF-15** byla stanovena na **4,34 ml/l**, pro **FF-15** **6,72 ml/l**, **MAF-15** **48,4 ml/l**, **PB** **4,36 ml/l** a **SF-15** **2,91 ml/l**. Výsledné hodnoty 24hEC50, resp. 48hEC50 jsou zřehledněny v Tab. 34.

Tab. 34. Vypočtené hodnoty 24hEC50, resp. 24hEC10, a 48hEC50, resp. 48hEC10, pro testovací organismus *D. magna*.

Vzorek		EF-15	FF-15	MAF-15	PB	SF-15
24h	LogEC50±SE	0,7562 ± 0,011	0,8674 ± 0,023	1,840 ± 0,018	0,7526 ± 0,013	0,6432 ± 0,015
	EC50 (ml/l)	5,70	7,37	69,2	5,66	4,40
	95% CI	5,42 – 5,99	6,59 – 8,24	63,3 – 75,2	5,31 – 6,03	4,09 – 4,72
48h	LogEC50±SE	0,6375 ± 0,023	0,8276 ± 0,021	1,685 ± 0,025	0,6396 ± 0,016	0,4632 ± 0,015
	EC50 (ml/l)	4,34	6,72	48,4	4,36	2,91
	95% CI	3,89 – 4,84	6,07 – 7,44	42,7 – 53,9	4,03 – 4,72	2,70 – 3,12

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

V době testování výluhů přestaly laboratorní chovy poskytovat dostatečný počet organismů pro testování vzorků. Z toho důvodu byly pro testování filtrátů z půdy Lufa 2.3 využity organismy dodávané jako součást sady testu Daphtoxkit F<sup>TM</sup> magna. Filtráty byly v rámci předběžného testu testovány v koncentrační řadě 0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 a 10 ml/l, v případě filtrátu prostředku Moussol-APS F-15 byla připravena koncentrační řada 0; 5,0; 10; 25; 50 a 100 ml/l. Výsledky předběžných testů uvádí Tab. 35.

Tab. 35. Vyhodnocené výsledky předběžných testů filtrátů z půdy Lufa 2.3 s organismy *D. magna* z kitu.

E2.3							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	20	0	0	0	0	0
	48 h	20	0	0	0	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	100	100	100	100	100
	48 h	0	100	100	100	100	100
F2.3							
c (ml/l)		0	2,0	4,0	6,0	8,0	10
Vitální organismy	24 h	18	0	0	0	0	0
	48 h	18	0	0	0	0	0
Imobilizace (%)	24 h	10	100	100	100	100	100
	48 h	10	100	100	100	100	100

<b>M2.3</b>							
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>5,0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>
Vitální organismy	24 h	20	19	20	20	20	18
	48 h	19	19	20	19	19	5
Imobilizace (%)	24 h	0	5	0	0	0	10
	48 h	5	5	0	5	5	75
<b>P2.3</b>							
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>2,0</b>	<b>4,0</b>	<b>6,0</b>	<b>8,0</b>	<b>10</b>
Vitální organismy	24 h	20	19	20	19	14	9
	48 h	20	19	16	10	2	1
Imobilizace (%)	24 h	0	5	0	5	30	55
	48 h	0	5	20	50	90	95
<b>S2.3</b>							
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>2,0</b>	<b>4,0</b>	<b>6,0</b>	<b>8,0</b>	<b>10</b>
Vitální organismy	24 h	19	7	0	0	0	0
	48 h	19	1	0	0	0	0
Imobilizace (%)	24 h	5	65	100	100	100	100
	48 h	5	95	100	100	100	100

Z výsledků předběžných testů infiltrátů E2.3, F2.3, M2.3 a S2.3 nebylo možné sestavit reprezentativní křivku dávka-odpověď a nebylo proto možné vypočítat hodnoty 24hEC50 a 48hEC50 pro dané vzorky. Dané vzorky byly dále testovány v rámci základního testu v koncentrační řadě 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5 a 2,0 ml/l, v případě filtrátu prostředku Moussol-APS F-15 byla připravena koncentrační řada 0; 1,0; 10; 100; 200; 300 a 500 ml/l. Výsledky základních testů uvádí Tab. 36.

Tab. 36. Vyhodnocené výsledky základních testů filtrátů z půdy Lufa 2.3 s oživenými organismy *D. magna* z kitu.

<b>E2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>0,5</b>	<b>0,75</b>	<b>1,0</b>	<b>1,5</b>	<b>2,0</b>	
Vitální organismy	24 h	20	20	9	7	4	2	
	48 h	20	18	6	2	0	0	
Imobilizace (%)	24 h	0	0	55	65	80	90	
	48 h	0	10	70	90	100	100	
<b>F2.3</b>								
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>0,25</b>	<b>0,5</b>	<b>0,75</b>	<b>1,0</b>	<b>1,5</b>	<b>2,0</b>
Vitální organismy	24 h	15	15	15	13	14	9	0
	48 h	15	14	14	13	13	8	0
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	0,0	13,3	6,7	40,0	100
	48 h	0,0	6,7	6,7	13,3	13,3	46,7	100

M2.3								
c (ml/l)		0	1,0	10	100	200	300	500
Vitální organismy	24 h	20	19	20	20	13	3	0
	48 h	20	19	20	20	10	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0	5	0	0	35	85	100
	48 h	0	5	0	0	50	100	100
S2.3								
c (ml/l)		0	0,5	0,75	1,0	1,5	2,0	
Vitální organismy	24 h	20	19	19	13	8	6	
	48 h	19	19	16	10	4	1	
Imobilizace (%)	24 h	0	5	5	35	60	70	
	48 h	5	5	20	50	80	95	

Hodnota 24hEC50 pro vzorek E2.3 byla stanovena na 0,83 ml/l, pro F2.3 1,53 ml/l, M2.3 222,5 ml/l, P2.3 9,56 ml/l a S2.3 1,37 ml/l.

Hodnota 48hEC50 pro vzorek E2.3 byla stanovena na 0,67 ml/l, pro F2.3 1,34 ml/l, M2.3 200,0 ml/l, P2.3 5,70 ml/l, a S2.3 1,03 ml/l. Výsledné hodnoty 24hEC50 a 48hEC50 jsou zřehledněny v Tab. 37.

Tab. 37. Vypočtené hodnoty 24hEC50 a 48hEC50 pro testovací organismus *D. magna*.

Vzorek		E2.3	F2.3	M2.3	P2.3	S2.3
24h	LogEC50±SE	-0,082 ± 0,028	0,1856 ± 0,022	2,347 ± 0,018	0,9804 ± 0,015	0,137 ± 0,032
	EC50 (ml/l)	0,83	1,53	222,5	9,56	1,37
	95% CI	0,72 – 0,95	1,38 – 1,71	204,1 – 242,9	8,88 – 10,3	1,17 – 1,63
48h	LogEC50±SE	-0,173 ± 0,011	0,1282 ± 0,030	2,301 ± 0,003	0,7555 ± 0,028	0,0107 ± 0,0190
	EC50 (ml/l)	0,67	1,34	200,0	5,70	1,03
	95% CI	0,64 – 0,71	1,16 – 1,55	182,9 – 213,5	4,97 – 6,53	0,94 – 1,13

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

#### 4.2.1.5 Test reprodukce žížal (*E. fetida*/*E. andrei*)

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena toxicita vybraných vzorků půd z infiltračního experimentu, a to půdy nasycené prostředky FF-15, MAF-15 a SF-15. V rámci orientačního testu pro výběr vhodných testovacích koncentrací bylo do vzorku půdy z infiltračního experimentu, nasyceného vzorkem SF-15 na 100 % VKP, nasazeno pět organismů. Po dvou dnech čtyři jedinci uhynuli a jeden unikl z matrice na stěnu testovací nádoby. Jednotlivé kontaminované půdy byly z toho důvodu následně testovány v koncentracích 0; 25 a 50 %, což odpovídá množství kontaminované půdní matrice 0; 250 a 500 g/kg. Výsledky testů jsou shrnuty v Tab. 38.



Tab. 38. Vyhodnocené výsledky základních testů pro organismy *E. fetida*.

FF-15						
c (g/kg)	0		250		500	
n <sub>0</sub>	10	10	10	10	10	10
n	10	9	9	9	9	10
n <sub>juvenilní</sub>	0	0	0	0	0	0
m <sub>0</sub> (g)	2,574	2,143	2,618	2,501	2,641	2,805
m (g)	4,061	3,292	2,598	2,741	3,058	3,580
Δm (g)	1,487	1,149	-0,020	0,24	0,417	0,775
M (%)	0,0	10	10	10	10	0,0
I (%)	0,0	0,0	101,3	79,1	72,0	32,6
I <sub>reprodukce</sub> (%)	100	100	100	100	100	100
MAF-15						
c (g/kg)	0		250		500	
n <sub>0</sub>	10	10	10	10	10	10
n	10	9	10	10	10	8
n <sub>juvenilní</sub>	0	0	0	0	0	0
m <sub>0</sub> (g)	2,574	2,143	2,453	2,196	2,536	2,381
m (g)	4,061	3,292	3,682	3,628	3,286	2,715
Δm (g)	1,487	1,149	1,229	1,432	0,750	0,334
M (%)	0	10	0	0	0	20
I (%)	0,0	0,0	17,4	-24,6	49,6	70,9
I <sub>reprodukce</sub> (%)	100	100	100	100	100	100
SF-15						
c (g/kg)	0		250		500	
n <sub>0</sub>	10	10	10	10	10	10
n	10	10	0	0	0	0
n <sub>juvenilní</sub>	0	0	0	0	0	0
m <sub>0</sub> (g)	2,574	2,143	2,191	2,042	2,098	2,244
m (g)	4,061	3,292	0,0	0,0	0,0	0,0
Δm (g)	1,487	1,149	-2,191	-2,042	-2,098	-2,244
M (%)	100	100	100	100	100	100
I (%)	0,0	0,0	100	100	100	100
I <sub>reprodukce</sub> (%)	100	100	100	100	100	100

Z výsledků testů nebyla u vzorků FF-15 a MAF-15 patrná významná míra mortality. Naopak u prostředku SF-15 byla už při dávce 250 g/kg pozorována mortalita 100 %.

Při posuzování vlivu kontaminantu v dávce 500 g/kg na růst organismů, byla u vzorku **FF-15** pozorována průměrná inhibice růstu **52,3 %**, u vzorku **MAF-15** **60,3 %** a u vzorku **SF-15** **100 %**.

Ve všech nasazeních byla pozorována inhibice reprodukce 100 %, a to včetně kontrolních testů.

#### 4.2.1.6 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků a jejich filtrátů z půdy Lufa 2.3 (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.). Protože celkový počet vzorků, které byly posuzovány prostřednictvím tohoto testu (celkem bylo posuzováno 23 vzorků) byl vysoký, byl měřen přímo vliv samotných vzorků na míru zhášení luminiscence testovacích organismů. Výstupní výsledky testu jsou vyjádřeny jako míra inhibice vyjádřená v procentech. Výsledky základních testů pracovních roztoků a filtrátů z půdy Lufa 2.3 jsou uvedeny v Tab. 39.

Tab. 39. Vyhodnocené výsledky základních testů vzorků hasebních prostředků pro organismus *V. fischeri*.

Pracovní roztoky					
Vzorek	EF-15	FF-15	MAF-15	PB	SF-15
Inhibice <sub>15</sub> (%)	98,66	98,75	99,62	95,87	99,28
Inhibice <sub>30</sub> (%)	98,74	98,53	99,64	96,93	99,20
Filtráty Lufa 2.3					
Vzorek	E2.3	F2.3	M2.3	P2.3	S2.3
Inhibice <sub>15</sub> (%)	97,31	94,75	96,66	99,37	98,44
Inhibice <sub>30</sub> (%)	96,90	93,14	97,19	99,43	97,67

Z výsledků testů je patrné, že všechny testované vzorky jsou při koncentraci 100 % toxické pro mořské bakterie *V. fischeri*.

Míra inhibice luminiscence testovacích organismů po 15 minutách expozice byla u vzorku **EF-15** naměřena **98,66 %**, u vzorku **FF-15** **98,75 %**, u **MAF-15** **99,62 %**, u **PB** **95,87 %** a u vzorku **SF-15** **99,28 %**.

Míra inhibice luminiscence testovacích organismů po 30 minutách expozice byla u vzorku **EF-15** naměřena **98,74 %**, u vzorku **FF-15** **98,53 %**, u **MAF-15** **99,64 %**, u **PB** **96,93 %** a u vzorku **SF-15** **99,20 %**.

#### 4.2.2 Čistírny odpadních vod

##### 4.2.2.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

Ekotoxicita vzorků odebraných na různých ČOV (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2.) byla testována základním testem v koncentrační řadě v rozmezí 0; 100; 250; 500; 750 a 1 000 ml/l. Výjimkou byl test se vzorky SVZ, v rámci kterého byla připravena koncentrační řada 0; 2,5; 10; 100; 250; 500 a 1 000 ml/l. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 40.

Tab. 40. Vyhodnocené výsledky základních testů vzorků odpadních vod pro organismus *S. alba*.

<b>ČAO</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	2,07	1,87	2,29	1,90	1,76	1,50	
$\bar{I}$ (%)	-	9,8	-10,5	8,4	15,1	27,5	
<b>ČBO</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	0,51	1,33	1,10	0,92	0,70	0,96	
$\bar{I}$ (%)	-	-169,1	-115,0	-82,1	-37,0	-88,1	
<b>MAO</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	0,51	0,49	0,51	0,58	0,51	0,39	
$\bar{I}$ (%)	-	2,30	-1,76	-12,1	-1,24	24,4	
<b>MBP</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	1,72	2,57	2,36	2,14	2,08	2,00	
$\bar{I}$ (%)	-	-49,8	-37,3	-23,6	-21,3	-16,7	
<b>MBO</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	1,72	1,23	1,43	1,70	1,88	1,68	
$\bar{I}$ (%)	-	28,6	17,6	0,5	-9,8	1,8	
<b>JP</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	1,77	2,29	1,96	1,38	1,17	0,92	
$\bar{I}$ (%)	-	-29,0	-10,9	22,4	33,9	48,4	
<b>JO</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>	
$\bar{L}$ (mm)	1,72	1,28	1,69	0,88	0,72	0,60	
$\bar{I}$ (%)	-	25,1	29,0	48,6	58,2	65,0	
<b>GP</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>2,5</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>1 000</b>
$\bar{L}$ (mm)	1,22	2,38	2,83	2,87	2,14	1,76	1,16
$\bar{I}$ (%)	-	-98,6	-133,1	-136,4	-73,1	-43,7	4,2
<b>GO</b>							
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>2,5</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>1 000</b>
$\bar{L}$ (mm)	1,28	1,52	1,53	1,73	1,84	1,39	0,97
$\bar{I}$ (%)	-	-20,6	-18,7	-35,9	-43,4	-8,4	25,1

Z výsledků základního testu byla vypočtena míra procentuální inhibice růstu kořene. Prostřednictvím nelineární regrese závislosti inhibice na koncentraci vyjádřené v logaritmičeských hodnotách byly vypočteny hodnoty IC50, resp. IC10, pro jednotlivé vzorky. Data byla zpracována v programu MS Excel. Za účelem posouzení statisticky významné

odchyly mezi délkami kořínků v jednotlivých opakováních byla využita analýza rozptylu ANOVA. Výsledné hodnoty IC50, resp. IC10, byly potom vypočítány s 95% intervalem spolehlivosti pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0.

Hodnota **IC50** byla stanovena pouze pro vzorek **JO**, a to na **498,9 ml/l**. Při testování zbývajících vzorků nebylo dosaženo 50% míry inhibice růstu kořene, a proto byly vypočteny i hodnoty IC10. Pro účely porovnání ekotoxikologického působení byly tyto hodnoty vypočteny pro všechny vzorky.

Hodnota **IC10** pro vzorek **ČAO** byla stanovena na **630,9 ml/l**, pro **MAO 801,1 ml/l**, pro **MBO 309,0 ml/l**, pro **JP 416,9 ml/l**, pro **JO 346,7 ml/l** a pro **GO 549,5 ml/l**. Při testování vzorků **MAO**, **MBP** a **GP** nebylo dosaženo ani 10% účinku. Výsledné hodnoty IC<sub>50</sub> a IC<sub>10</sub> jsou zřehledněny v Tab. 41.

Tab. 41. Vypočtené hodnoty IC50, resp. IC10, pro testovací organismus *S. alba*.

Výsledky						
Vzorek	LogIC50 ± SE	IC50 (ml/l)	95% CI	LogIC10 ± SE	IC10 (ml/l)	95% CI
ČAO	n.d.	n.d.	n.d.	2,800 ± 0,055	630,9	555,9 – 716,1
ČBO	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MAO	n.d.	n.d.	n.d.	2,904 ± v.h.	801,1	v.w.
MBP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MBO	n.d.	n.d.	n.d.	2,490 ± 0,345	309,0	139,6 – 683,9
JP	n.d.	n.d.	n.d.	2,620 ± 0,089	416,9	339,6 – 511,7
JO	2,698 ± 0,093	498,9	402,7 – 618,0	2,540 ± 0,093	346,7	279,9 – 429,5
GP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
GO	n.d.	n.d.	n.d.	2,740 ± 0,557	549,5	152,4 – 1 981

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

n.d. – nedetekováno

v.h. – very high; příliš vysoká standardní odchylka

v.w. – very wide; příliš široký rozsah 95% intervalu spolehlivosti

#### 4.2.2.2 Test inhibice růstu okřehku menšího *L. minor*

Ekotoxicita vzorků odebraných na různých ČOV (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2.) byla testována základním testem v koncentrační řadě v rozmezí 0; 100; 250; 500; 750 a 1 000 ml/l. Výjimkou byl test se vzorky G, v rámci kterého byla připravena koncentrační řada 0; 5; 10; 100; 250; 500; 750 a 1 000 ml/l. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 42.

Tab. 42. Vyhodnocené výsledky základních testů vzorků odpadních vod pro organismus *L. minor*.

<b>ČAO</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
N <sub>n</sub>	408	260	303	329	326	453
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0186	0,0159	0,0168	0,0173	0,0172	0,0192
m <sub>B</sub> (g)	0,0151	0,0090	0,0129	0,0107	0,0150	0,0155
I <sub>μi</sub> (%)	-	14,4	9,53	6,90	7,19	-3,35
I <sub>B</sub> (%)	-	40,4	14,6	29,1	0,66	-2,65
<b>ČBO</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
N <sub>n</sub>	418	350	332	206	223	247
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0187	0,0177	0,0173	0,0145	0,0150	0,0156
m <sub>B</sub> (g)	0,0287	0,0266	0,0319	0,0210	0,0171	0,0185
I <sub>μi</sub> (%)	-	5,65	7,32	22,5	20,0	16,7
I <sub>B</sub> (%)	-	7,32	-11,2	26,8	40,4	35,5
<b>MAO</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>
N <sub>n</sub>	408	253	142	159	230	76
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0186	0,0157	0,0123	0,0130	0,0152	0,0086
m <sub>B</sub> (g)	0,0151	0,0029	0,0021	0,0042	0,0040	0,0003
I <sub>μi</sub> (%)	-	15,3	33,8	30,2	18,4	53,9
I <sub>B</sub> (%)	-	80,8	86,1	72,2	73,5	98,0
<b>MBP</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>
N <sub>n</sub>	273	290	255	150	206	173
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0162	0,0165	0,0158	0,0126	0,0145	0,0135
m <sub>B</sub> (g)	0,0175	0,0179	0,0148	0,0112	0,0115	0,0104
I <sub>μi</sub> (%)	-	-2,22	2,51	22,0	10,4	16,8
I <sub>B</sub> (%)	-	-2,29	15,4	36,0	34,3	40,6
<b>MBO</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>
N <sub>n</sub>	273	402	231	519	395	143
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0162	0,0185	0,0152	0,0200	0,0184	0,0123
m <sub>B</sub> (g)	0,0175	0,0200	0,0206	0,0357	0,0281	0,0140
I <sub>μi</sub> (%)	-	-14,2	6,14	-23,6	-13,6	23,8
I <sub>B</sub> (%)	-	-14,3	-17,7	-104,0	-60,6	20,0
<b>JP</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>
N <sub>n</sub>	273	204	172	165	70	43
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0162	0,0145	0,0134	0,0132	0,0081	0,0052
m <sub>B</sub> (g)	0,0175	0,0147	0,0144	0,0151	0,0212	0,0135
I <sub>μi</sub> (%)	-	10,7	17,0	18,5	50,1	68,0
I <sub>B</sub> (%)	-	16,0	17,7	13,7	-21,1	22,9

JO							
c (ml/l)	0	100	250	500	750	1000	
N <sub>n</sub>	273	202	154	188	219	104	
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0162	0,0144	0,0128	0,0140	0,0149	0,0104	
m <sub>B</sub> (g)	0,0175	0,0191	0,0161	0,0166	0,0147	0,0087	
I <sub>μi</sub> (%)	-	11,1	21,1	13,7	8,11	35,5	
I <sub>B</sub> (%)	-	-9,14	8,00	5,14	16,0	50,3	
GP							
c (ml/l)	0	5	10	100	250	500	1 000
N <sub>n</sub>	273	494	423	402	246	105	67
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0162	0,0197	0,0188	0,0185	0,0156	0,0105	0,0078
m <sub>B</sub> (g)	0,0175	0,0780	0,0824	0,0330	0,0086	0,0007	0,0113
I <sub>μi</sub> (%)	-	-21,8	-16,1	-14,2	3,83	35,1	51,7
I <sub>B</sub> (%)	-	-345,7	-370,9	-88,6	50,9	96,0	35,4
GO							
c (ml/l)	0	10	100	250	500	750	1 000
N <sub>n</sub>	273	259	300	349	83	49	36
μ (den <sup>-1</sup> )	0,0162	0,0159	0,0167	0,0176	0,0091	0,0060	0,0041
m <sub>B</sub> (g)	0,0175	0,0232	0,0242	0,0225	0,0089	0,0098	0,0119
I <sub>μi</sub> (%)	-	1,94	-3,47	-9,03	43,8	63,2	74,5
I <sub>B</sub> (%)	-	-32,5	-38,3	-28,6	49,1	44,0	32,0

Z výsledků základního testu byla vypočtena míra procentuální inhibice růstu. Prostřednictvím nelineární regrese závislosti inhibice na koncentraci vyjádřené v logaritmických hodnotách byly vypočteny hodnoty IC<sub>50</sub>, resp. IC<sub>10</sub>, pro jednotlivé vzorky. Za účelem posouzení statisticky významné odchylky byla data podrobena analýze rozptylu ANOVA v programu MS Excel. Výsledné hodnoty IC<sub>50</sub>, resp. IC<sub>10</sub>, potom byly vypočítány s 95% intervalem spolehlivosti pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0.

Hodnota IC<sub>50</sub> počítaná na základě růstové rychlosti byla pro vzorek JP stanovena na 764,3 ml/l, pro GP 874,5 ml/l a GO 618,4 ml/l. Při testování vzorků ČAO, ČBO, MAO, MBP, MBO a JO nebylo dosaženo 50% míry inhibice, proto byly vypočteny i hodnoty IC<sub>10</sub>. Pro srovnání byly tyto hodnoty vypočteny pro všechny vzorky.

Hodnota IC<sub>10</sub> počítaná na základě růstové rychlosti byla pro vzorek ČBO stanovena na 250,0 ml/l, pro MAO 31,6 ml/l, MBP 462,4 ml/l, MBO 977,2 ml/l, JP 295,1 ml/l, JO 83,2 ml/l, GP 278,6 ml/l a GO 295,1 ml/l. Pouze při testování vzorku ČAO nebylo dosaženo ani 10% účinku.

Hodnota IC<sub>50</sub> počítaná na základě porovnání hmotnosti suché biomasy byla pro vzorek MAO stanovena na 30,2 ml/l, pro JO 1 001 ml/l a pro GP 249,8 ml/l. Při testování vzorků ČAO, ČBO, MBP, MBO, JP a GO nebylo dosaženo 50% míry inhibice, proto byly vypočteny i hodnoty IC<sub>10</sub>. Pro srovnání byly tyto hodnoty vypočteny pro všechny vzorky.

Hodnota IC<sub>10</sub> počítaná na základě porovnání hmotnosti suché biomasy byla pro vzorek ČAO stanovena na 671,4 ml/l, pro ČBO 467,7 ml/l, MAO 1,11 ml/l, MBP 151,4 ml/l, JO

668,3 ml/l, GP 239,9 ml/l a GO 331,1 ml/l. Pouze při testování vzorků **MBO** a **JP** nebylo dosaženo ani 10% účinku. Výsledné hodnoty IC50 a IC10 jsou zřehledněny v Tab. 43.

Tab. 43. Vypočtené hodnoty IC50, resp. IC10, pro testovací organismus *L. minor*.

Výsledky						
Vzorek	Růstová rychlost			Hmotnost suché biomasy		
	LogIC50± SE	IC50 (ml/l)	95% CI	LogIC50± SE	IC50 (ml/l)	95% CI
<b>ČAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>ČBO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>MAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	1,479 ± 0,398	30,2	2,36 – 384,6
<b>MBP</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>MBO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>JP</b>	2,883 ± 0,031	764,3	652,0 – 895,9	n.d.	n.d.	n.d.
<b>JO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	3,000 ± 0,020	1 001	881,3 – 1 137
<b>GP</b>	2,942 ± 0,078	874,5	591,2 – 1 294	2,398	249,8	v.w.
<b>GO</b>	2,791 ± 0,026	618,4	543,2 – 703,9	n.d.	n.d.	n.d.
Vzorek	Růstová rychlost			Hmotnost suché biomasy		
	LogIC10± SE	IC10 (ml/l)	95% CI	LogIC10± SE	IC10 (ml/l)	95% CI
<b>ČAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	2,827 ±1,38E+15	671,4	v.w.
<b>ČBO</b>	2,398 ±3,15E+06	250,0	v.w.	2,670 ± 232,2	467,7	v.w.
<b>MAO</b>	1,500 ± 0,316	31,6	15,3 – 65,5	0,0467 ± 0,398	1,11	0,45 – 2,78
<b>MBP</b>	2,665 ± 0,567	462,4	125,3 – 1 706	2,18 ± 0,105	151,4	118,9 – 192,8
<b>MBO</b>	2,99 ±1,34E+14	977,2	v.w.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>JP</b>	2,47 ± 0,031	295,1	274,8 – 317,0	n.d.	n.d.	n.d.
<b>JO</b>	1,920 ± 1,059	83,2	7,26 – 952,8	2,825 ± 0,020	668,3	638,3 – 699,8
<b>GP</b>	2,445 ± 0,078	278,6	232,8 – 333,4	2,380 ±1,33E+11	239,9	v.w.
<b>GO</b>	2,470 ± 0,026	295,1	278,0 – 313,3	2,520 ± 0,257	331,1	183,2 – 598,4

CI – confidence interval; interval spolehlivosti; n.d. – nedetekováno

v.w. – very wide; příliš široký rozsah 95% intervalu spolehlivosti

#### 4.2.2.3 Daphtoxkit F<sup>TM</sup>

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita vzorků odpadních vod v koncentrační řadě 0; 10; 100; 250; 500 a 1 000 ml/l. Odpadní vody byly testovány na organismech z kitu. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 44.

Tab. 44. Vyhodnocené výsledky základních testů pracovních roztoků s organismy *D. magna* z laboratorního chovu.

ČAO							
c (ml/l)		0	100	250	500	750	1 000
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	20	19
	48 h	20	20	20	20	20	19
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0
	48 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0
ČBO							
c (ml/l)		0	100	250	500	750	1 000
Vitální organismy	24 h	20	20	19	20	20	20
	48 h	20	20	19	20	20	20
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0
	48 h	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0
MAO							
c (ml/l)		0	100	250	500	750	1 000
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	20	20
	48 h	20	20	20	20	20	20
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	48 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MBP							
c (ml/l)		0	100	250	500	750	1 000
Vitální organismy	24 h	20	19	19	16	11	7
	48 h	19	18	18	15	11	4
Imobilizace (%)	24 h	0,0	5,0	5,0	20,0	45,0	65,0
	48 h	5,0	10,0	10,0	25,0	45,0	80,0
MBO							
c (ml/l)		0	100	250	500	750	1 000
Vitální organismy	24 h	20	19	20	20	19	20
	48 h	19	18	19	19	18	20
Imobilizace (%)	24 h	0,0	5,0	0,0	0,0	5,0	0,0
	48 h	5,0	10,0	5,0	5,0	10,0	0,0
JP							
c (ml/l)		0	100	250	500	750	1 000
Vitální organismy	24 h	20	19	20	14	1	0
	48 h	20	19	20	14	1	0
Imobilizace (%)	24 h	0,0	5,0	0,0	30,0	95,0	100,0
	48 h	0,0	5,0	0,0	30,0	95,0	100,0



<b>JO</b>							
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	20	20
	48 h	20	20	20	20	20	19
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	48 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0
<b>GP</b>							
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
Vitální organismy	24 h	20	20	4	0	0	0
	48 h	20	18	0	0	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	80,0	100,0	100,0	100,0
	48 h	0,0	10,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>GO</b>							
<b>c (ml/l)</b>		<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
Vitální organismy	24 h	20	13	6	3	3	0
	48 h	20	2	0	0	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0,0	35,0	70,0	85,0	85,0	100,0
	48 h	0,0	90,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Z výsledků základního testu byla vypočtena procentuální mortalita v každé koncentraci. Závislost mortality na koncentraci vyjádřená v logaritmických hodnotách byla vynesena do grafu. Prostřednictvím nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byly vypočteny hodnoty 24hLC50 a 48hLC50 pro jednotlivé vzorky.

Hodnota 24hEC50 pro vzorek **MBP** byla stanovena **805,8 ml/l**, pro **JP 547,3 ml/l**, **GP 238,8 ml/l** a **GO 149,2 ml/l**. U vzorků **ČAO**, **ČBO**, **MAO**, **MBO** a **JO** nebylo dosaženo 50% účinku na organismech, proto byla u všech vzorků vypočtena i hodnota 24hEC10.

Hodnota 48hEC50 pro vzorek **MBP** byla stanovena **727,4 ml/l**, pro **JP 547,3 ml/l**, **GP 108,7 ml/l** a **GO 71,6 ml/l**. U vzorků **ČAO**, **ČBO**, **MAO**, **MBO** a **JO** opět nebylo dosaženo 50% účinku na organismech, proto byla vypočtena i hodnota 48hEC10.

U vzorků **ČAO**, **ČBO**, **MAO**, **MBO** a **JO** nebylo dosaženo ani 10% inhibice pohybu testovacích organismů. Výsledné hodnoty EC50 a EC10 jsou zřehledněny v Tab. 45.

Tab. 45. Vypočtené hodnoty 24hEC50, resp. 24hEC10, a 48hEC50, resp. 48hEC10, pro testovací organismus *D. magna*.

Vzorek	Doba expozice					
	24h			48h		
	LogEC50± SE	EC50 (ml/l)	95% CI	LogEC50± SE	EC50 (ml/l)	95% CI
<b>ČAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>ČBO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>MAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>MBP</b>	2,906 ± 0,024	805,8	718,1 – 904,2	2,862 ± 0,031	727,4	627,3 – 843,5
<b>MBO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>JP</b>	2,738 ± 0,015	547,3	528,4 – 588,2	2,738 ± 0,015	547,3	528,4 – 588,2
<b>JO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>GP</b>	2,378 ± v.h.	238,8	v.w.	2,036 ± v.h.	108,7	v.w.
<b>GO</b>	2,174 ± 0,088	149,2	84,1 – 217,2	1,855 ± 1,913	71,6	v.w.
	LogEC10± SE	EC10 (ml/l)	95% CI	LogEC10± SE	EC10 (ml/l)	95% CI
<b>ČAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>ČBO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>MAO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>MBP</b>	2,594 ± 0,087	392,7	226,7 – 479,7	2,594 ± 0,087	392,7	226,7 – 479,7
<b>MBO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>JP</b>	2,639 ± 0,031	435,5	363,2 – 467,7	2,639 ± 0,031	435,5	363,2 – 467,7
<b>JO</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>GP</b>	2,343 ± v.h.	220,4	v.w.	2,000 ± 0,014	100,0	86,1 – 103,3
<b>GO</b>	1,510 ± 0,347	32,3	0,005 – 103,2	1,710 ± 3,075	51,3	v.w.

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

n.d. – nedetekováno

v.h. – very high; příliš vysoká standardní odchylka

v.w. – very wide; příliš široký rozsah 95% intervalu spolehlivosti

#### 4.2.2.4 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita vzorků odpadních vod (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 3 až 8). Protože celkový počet vzorků, které byly posuzovány prostřednictvím tohoto testu (celkem bylo posuzováno 23 vzorků) byl vysoký, byl měřen přímo vliv samotných vzorků na míru zhášení luminiscence testovacích organismů. Výstupní výsledky testu jsou vyjádřeny jako míra inhibice vyjádřená v procentech. Výsledky základních testů vzorků odpadních vod jsou uvedeny v Tab. 46.

Tab. 46. Vyhodnocené výsledky základních testů vzorků odpadních vod s organismy *V. fischeri*.

Odpadní vody									
Vzorek	ČAO	ČBO	MAO	MBP	MBO	JP	JO	GP	GO
Inhibice <sub>15</sub> (%)	14,40	10,06	18,02	56,11	16,96	58,82	16,15	45,10	31,72
Inhibice <sub>30</sub> (%)	1,61	-4,16	2,67	46,64	4,19	45,63	0,86	32,96	29,70

Míra inhibice luminiscence testovacích organismů po 15 minutách expozice byla u vzorku ČAO naměřena 14,40 %, u vzorku ČBO 10,06 %, u MAO 18,02 %, u MBP 56,11 %, u MBO 16,96 %, u JP 58,82 %, u JO 16,15 %, u GP 45,10 % a u vzorku GO 31,72 %.

Míra inhibice luminiscence testovacích organismů po 30 minutách expozice byla u vzorku ČAO naměřena 1,61 %, u MAO 2,67 %, u MBP 46,64 %, u MBO 4,19 %, u JP 45,63 %, u JO 0,86 %, u GP 32,96 % a u vzorku GO 29,70 %. U vzorku ČBO se po počátečním 10% inhibičním efektu projevil efekt hormeze, protože po dalších 15 minutách expozice byla naopak naměřena stimulace záření -4,16 %.

### 4.2.3 Biochar

#### 4.2.3.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita všech připravených vzorků výluhů z jednotlivých vzorků biocharu (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.).

Byly nasazeny základní testy vzorků s koncentrační řadou v rozmezí 0; 100; 250; 500; 750 a 1 000 ml/l. Výsledky základních testů všech vzorků jsou dle typu vzorku postupně uvedeny v Tab. 47.

Tab. 47. Vyhodnocené výsledky základních testů výluhů vzorků biocharu pro organismus *S. alba*.

BA						
c (ml/l)	0	100	250	500	750	1000
$\bar{L}$ (mm)	2,47	2,22	2,41	2,90	2,46	2,40
$\bar{I}$ (%)	-	9,7	2,7	-17,5	0,9	3,1

BB						
c (ml/l)	0	100	250	500	750	1000
$\bar{L}$ (mm)	2,47	2,61	2,76	2,58	2,65	3,21
$\bar{I}$ (%)	-	-5,0	-11,7	-4,7	-7,3	-30,2
BC						
c (ml/l)	0	100	250	500	750	1000
$\bar{L}$ (mm)	3,15	1,56	0,94	0,57	0,51	0,22
$\bar{I}$ (%)	-	50,4	70,0	81,9	83,6	93,0
SG						
c (ml/l)	0	100	250	500	750	1000
$\bar{L}$ (mm)	3,15	1,10	0,64	0,06	0,00	0,00
$\bar{I}$ (%)	-	65,1	79,7	98,0	99,9	100,0

Z výsledků základních testů byla vypočtena míra procentuální inhibice růstu kořene ve všech koncentracích jednotlivých vzorků. Za účelem posouzení statisticky významné odchylky mezi délkami kořínků v jednotlivých opakováních byla v programu MS Excel testována analýza rozptylu ANOVA. Výsledné hodnoty IC50 byly potom vypočítány s 95% intervalem spolehlivosti pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0.

Hodnota IC50 pro vzorek **BC** byla stanovena na **11,4 ml/l** a pro **SG 7,37 ml/l**. Při testování vzorků **BA** a **BB** nebyla pozorována 50% míra inhibice růstu. Z toho důvodu byly vypočteny i hodnoty IC10.

Hodnota **IC10** pro vzorek **BC** byla stanovena na **1,51 ml/l** a pro **SG 1,82 ml/l**. Při testování vzorků **BA** a **BB** nebylo dosaženo ani 10% efektu. Výsledné hodnoty IC50 a IC10 jsou zřehledněny v Tab. 48.

Tab. 48. Vypočtené hodnoty IC50 pro testovací organismus *S. alba*.

Výsledky						
Vzorek	LogIC50 ± SE	IC50 (ml/l)	95% CI	LogIC10 ± SE	IC10 (ml/l)	95% CI
<b>BA</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>BB</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>BC</b>	1,057 ± 0,051	11,4	8,77 – 14,8	0,180 ± 0,051	1,51	1,35 – 1,70
<b>SG</b>	0,8677 ± 0,043	7,37	5,92 – 9,18	0,260 ± 0,043	1,82	1,65 – 2,01

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

n.d. – nedetekováno

#### 4.2.3.2 Test inhibice růstu okřehku menšího *L. minor*

Ekotoxicita výluhů jednotlivých vzorků biocharu (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2.) byla testována základním testem v koncentrační řadě v rozmezí 0; 100; 250; 500; 750 a 1 000 ml/l. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 49.

Tab. 49. Vyhodnocené výsledky základních testů výluhů jednotlivých vzorků biocharu pro organismus *L. minor*.

<b>BA</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
$N_n$	238	222	260	212	194	81
$\mu$ (den <sup>-1</sup> )	0,0154	0,0150	0,0159	0,0147	0,0142	0,0090
$m_B$ (g)	0,0256	0,0237	0,0297	0,0251	0,0119	0,0112
$I_{\mu i}$ (%)	-	2,70	-3,42	4,48	7,92	41,8
$I_B$ (%)	-	-37,8	-72,7	-45,9	30,8	34,9
<b>BB</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
$N_n$	238	241	229	191	154	83
$\mu$ (den <sup>-1</sup> )	0,0154	0,0154	0,0151	0,0141	0,0128	0,0091
$m_B$ (g)	0,0256	0,0215	0,0245	0,0152	0,0115	0,0140
$I_{\mu i}$ (%)	-	-0,49	1,49	8,52	16,9	40,8
$I_B$ (%)	-	16,0	4,24	40,6	55,1	45,3
<b>BC</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>
$N_n$	259	171	69	23	18	18
$\mu$ (den <sup>-1</sup> )	0,0159	0,0134	0,0080	0,0015	0,0000	0,0000
$m_B$ (g)	0,0149	0,0085	0,0065	0,0036	0,0022	0,0093
$I_{\mu i}$ (%)	-	15,6	49,6	90,8	100,0	100,0
$I_B$ (%)	-	43,0	56,4	75,8	85,2	37,6
<b>SG</b>						
<b>c (ml/l)</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>
$N_n$	259	78	23	18	16	18
$\mu$ (den <sup>-1</sup> )	0,0159	0,0087	0,0015	0,0000	-0,0007	0,0000
$m_B$ (g)	0,0149	0,0116	0,0064	0,0033	0,0051	0,0057
$I_{\mu i}$ (%)	-	45,0	90,8	100,0	104,4	100,0
$I_B$ (%)	-	22,2	57,1	77,9	65,8	61,7

Z výsledků základního testu byla vypočtena míra procentuální inhibice (pozitivní hodnoty  $I_{\mu i}$ ), resp. stimulace (záporné hodnoty  $I_{\mu i}$ ) růstu. Prostřednictvím nelineární regrese závislosti inhibice na koncentraci vyjádřené v logaritmických hodnotách byly vypočteny hodnoty IC50, resp. IC10, pro jednotlivé vzorky. Za účelem posouzení statisticky významné odchylky byla data podrobena analýze rozptylu ANOVA v programu MS Excel. Výsledné hodnoty IC50, resp. IC10, potom byly vypočítány s 95% intervalem spolehlivosti pomocí nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0.

Hodnota **IC50** počítaná na základě růstové rychlosti byla pro vzorek **BC** stanovena na **239,2 ml/l** a pro **SG 108,6 ml/l**. Při testování vzorků **BA** a **BB** nebylo dosaženo 50% míry inhibice, proto byly vypočteny i hodnoty IC10. Pro srovnání byly tyto hodnoty vypočteny pro všechny vzorky.

Hodnota **IC10** počítaná na základě růstové rychlosti byla pro vzorek **BA** stanovena na **776,2 ml/l**, pro **BB 602,6 ml/l**, **BC 1,82 ml/l** a **SG 51,3 ml/l**.

Hodnota **IC50** počítaná na základě porovnání hmotnosti suché biomasy byla pro vzorek **BB** stanovena na **870,4 ml/l**, pro **BC** **171,7 ml/l** a pro **SG** **259,6 ml/l**. Při testování vzorku **BA** nebylo dosaženo 50% míry inhibice, proto byla vypočtena i hodnota IC10. Pro srovnání byla tato hodnota vypočtena pro všechny vzorky.

Hodnota **IC10** počítaná na základě porovnání hmotnosti suché biomasy byla pro vzorek **BA** stanovena na **724,4 ml/l**, pro **BB** **138 ml/l**, **BC** **112,2 ml/l** a **SG** **17,0 ml/l**. Výsledné hodnoty IC50 a IC10 jsou zřehledněny v Tab. 50.

Tab. 50. Vypočtené hodnoty IC50, resp. IC10, pro testovací organismus *L. minor*.

Výsledky						
Vzorek	Růstová rychlost			Hmotnost suché biomasy		
	LogIC50± SE	IC50 (ml/l)	95% CI	LogIC50± SE	IC50 (ml/l)	95% CI
<b>BA</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>BB</b>	n.d.	n.d.	n.d.	2,940 ± 0,108	870,4	495,5 – 1 116,9
<b>BC</b>	2,379 ± 0,034	239,2	193,6 – 284,5	2,235 ± 0,393	171,7	v.w.
<b>SG</b>	2,032 ± 0,015	108,6	100,4 – 117,2	2,414 ± 0,141	259,6	62,0 – 678,6
Vzorek	Růstová rychlost			Hmotnost suché biomasy		
	LogIC10± SE	IC10 (ml/l)	95% CI	LogIC10± SE	IC10 (ml/l)	95% CI
<b>BA</b>	2,890 ± 0,010	776,2	758,6 – 794,3	2,860 ± 0,259	724,4	399,0 – 1 315,2
<b>BB</b>	2,780 ± 0,030	602,6	562,3 – 645,7	2,140 ± 0,108	138,0	107,6 – 177,0
<b>BC</b>	0,260 ± 0,034	1,82	1,68 – 1,97	2,050 ± 0,393	112,2	45,4 – 277,3
<b>SG</b>	1,710 ± 0,051	51,3	45,6 – 57,7	1,230 ± 0,194	17,0	10,9 – 26,5

CI – confidence interval; interval spolehlivosti

n.d. – nedetekováno

v.w. – very wide; příliš široký rozsah 95% intervalu spolehlivosti

#### 4.2.3.3 *Daphtoxkit F<sup>TM</sup>*

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita výluhů připravených z jednotlivých vzorků biocharu (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 2.) Základní testy vzorků byly nasazeny s koncentrační řadou 0; 10; 100; 250; 500 a 1 000 ml/l. Výluhy byly testovány na oživených organismech z kytu. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 51.

Tab. 51. Vyhodnocené výsledky základních testů pracovních roztoků s oživenými organismy *D. magna* z kitu.

BA										
c (ml/l)		0	10	100	250	500	1 000			
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	20	20	14		
	48 h	20	20	20	19	20	14			
Imobilizace (%)	24 h	0	0	0	0	0	0	30		
	48 h	0	0	0	5	0	30			
BB										
c (ml/l)		0	10	100	250	500	1 000			
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	20	20	13		
	48 h	20	20	20	20	19	2			
Imobilizace (%)	24 h	0	0	0	0	0	0	35		
	48 h	0	0	0	0	5	90			
BC										
c (ml/l)		0	1	10	50	100	175	250	500	1 000
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	20	20	9	0	0
	48 h	20	20	20	20	19	20	9	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	55	100	100
	48 h	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	55	100	100
SG										
c (ml/l)		0	1	10	50	100	175	250	500	1 000
Vitální organismy	24 h	20	20	20	20	18	18	14	0	0
	48 h	20	20	20	19	18	18	10	0	0
Imobilizace (%)	24 h	0,0	0,0	0,0	0,0	10	10	30	100	100
	48 h	0,0	0,0	0,0	5,0	10	10	50	100	100

Z výsledků základního testu byla vypočtena procentuální mortalita v každé koncentraci. Závislost mortality na koncentraci vyjádřená v logaritmických hodnotách byla vynesena do grafu. Prostřednictvím nelineární regrese křivky dávka-odpověď v programu GraphPad Prism 6.0 byly vypočteny hodnoty 24hLC50 a 48hLC50 pro jednotlivé vzorky.

Hodnota **24hEC50** pro vzorek **BC** byla stanovena na **248,8 ml/l** a pro **SG 285,7 ml/l**. Při testování vzorků **BA** a **BB** nebylo dosaženo 50% míry imobilizace testovacích organismů.

Hodnota **48hEC50** pro vzorek **BB** byla stanovena na **743,6 ml/l**, pro **BC 248,8 ml/l** a **SG 249,9 ml/l**. Při testování vzorku **BA** nebyl pozorován 50% efekt ani po 48 hodinové expozici. Z toho důvodu byly vypočítány hodnoty 24hEC10 a 48hEC10. Pro srovnání byly tyto hodnoty vypočteny i pro ostatní vzorky.

Hodnota **24hEC10** pro vzorek **BB** byla stanovena na **562,3 ml/l**, pro **BC 237,1 ml/l** a pro **SG 202,0 ml/l**. Při testování vzorku **BA** nebyla pozorována ani 10% imobilizace testovacích organismů.

Hodnota **48hEC10** pro vzorek **BA** byla stanovena na **354,8 ml/l**, pro **BB 887,2 ml/l**, **BC 237,1 ml/l** a **SG 185,6 ml/l**. Výsledné hodnoty jsou zřehledněny v Tab. 52.

Tab. 52. Vypočtené hodnoty 24hEC50, resp. 24hEC10, a 48hEC50, resp. 48hEC10, pro testovací organismus *D. magna*.

Vzorek	Doba expozice					
	24h			48h		
	LogEC50 ± SE	EC50 (ml/l)	95% CI	LogEC50 ± SE	EC50 (ml/l)	95% CI
<b>BA</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>BB</b>	n.d.	n.d.	n.d.	2,871 ± 0,027	743,6	654,8 - 844,5
<b>BC</b>	2,396 ± 34,76	248,8	v.w.	2,396 ± 34,76	248,8	v.w.
<b>SG</b>	2,456 ± 0,024	285,7	270,4 – 316,9	2,398 ± 0,012	249,9	237,5 – 266,2
Vzorek	LogEC10 ± SE	EC10 (ml/l)	95% CI	LogEC10 ± SE	EC10 (ml/l)	95% CI
<b>BA</b>	n.d.	n.d.	n.d.	2,550 ± 0,895	354,8	45,2 - 2 786
<b>BB</b>	2,75 ± 0,316	562,3	271,6 - 1 164	2,948 ± 0,027	887,2	833,7 - 944,1
<b>BC</b>	2,375 ± 34,76	237,1	v.w.	2,375 ± 34,76	237,1	v.w.
<b>SG</b>	2,305 ± 0,041	202,0	162,3 – 221,8	2,269 ± 0,036	185,6	154,6 – 201,8

CI – confidence interval; interval spolehlivosti; n.d. – nedetekováno

v.w. – very wide; příliš široký rozsah 95% intervalu spolehlivosti

#### 4.2.3.4 Test únikového chování žížal

V rámci testu únikového chování žížal byl screenigově ověřen přímý vliv testovaných materiálů na zástupce půdních organismů. Protože vzorků BA a BB nebyl dostatek ani pro přípravu řádného výluhu, nezbyly ani na kontaktní testování. Z toho důvodu byly testovány pouze vzorky BC a SG. Ekotoxicita jednotlivých vzorků (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2.) byla orientačně testována screeningovým testem únikového chování žížal v koncentrační řadě v rozmezí 0; 25; 50; 75 a 100 %, což odpovídá koncentracím 0; 250; 500; 750 a 1 000 mg/kg. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 53.

Tab. 53. Průměrné výsledky screenigových testů vzorků BC a SG pro organismus *E. fetida*.

BC					
c (mg/kg)	0,0	250	500	750	1 000
N <sub>K</sub>	5,5	8,5	10	10	10
N <sub>T</sub>	4,5	1,5	0,0	0,0	0,0
SG					
c (mg/kg)	0,0	250	500	750	1 000
N <sub>K</sub>	5,5	10	10	10	10
N <sub>T</sub>	4,5	0,0	0,0	0,0	0,0



Z výsledků testu byla porovnáním počtu jedinců v kontrolní matici  $N_K$  s počtem jedinců v matici testované  $N_T$  vypočtena míra procentuální únikovosti organismů A.

U vzorku **BC** byla pozorována **100%** únikovost od dávky 500 mg/kg, což odpovídá dávce 1 300 t/ha. U vzorku **SG** byla pozorována únikovost **100 %** už při dávce 250 mg/kg, což odpovídá dávce 650 t/ha. Výsledné hodnoty únikovosti A pro všechny testované dávky jsou zřehledněny v Tab. 54.

Tab. 54. Vypočtená míra únikovosti testovacího organismu *E. fetida*.

<b>BC</b>					
<b>c (mg/kg)</b>	<b>0,0</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
<b>c (t/ha)</b>	<b>0,0</b>	<b>650</b>	<b>1 300</b>	<b>1 950</b>	<b>2 600</b>
A (%)	10,0	70,0	100	100	100
<b>SG</b>					
<b>c (mg/kg)</b>	<b>0,0</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
<b>c (t/ha)</b>	<b>0,0</b>	<b>650</b>	<b>1 300</b>	<b>1 950</b>	<b>2 600</b>
A (%)	10,0	100	100	100	100

#### 4.2.3.5 Test únikového chování chvostoků

V rámci testu únikového chování chvostoků byl screenigově ověřen přímý vliv testovaných materiálů na dalšího zástupce půdních organismů. Protože vzorků BA a BB nebyl dostatek ani pro přípravu řádného výluhu, nezbyly ani na kontaktní testování. Z toho důvodu byly testovány pouze vzorky BC a SG. Ekotoxicita jednotlivých vzorků (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2.) byla orientačně testována screeningovým testem únikového chování chvostoků v koncentrační řadě v rozmezí 0; 25; 50; 75 a 100 %, což odpovídá koncentracím 0; 250; 500; 750 a 1 000 mg/kg. Výsledky základních testů jsou uvedeny v Tab. 55.

Tab. 55. Průměrné výsledky screenigových testů vzorků BC a SG pro organismus *F. candida*.

<b>BC</b>					
<b>c (mg/kg)</b>	<b>0,0</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
$N_K$	5,0	8,0	9,0	8,0	9,0
$N_T$	5,0	2,0	1,0	2,0	1,0
$N_M$	0,0	2,0	1,0	1,0	4,0
<b>SG</b>					
<b>c (mg/kg)</b>	<b>0,0</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
$N_K$	5,0	7,5	10	9,5	10
$N_T$	5,0	2,5	0,0	0,5	0,0
$N_M$	0,0	0,0	0,0	1,0	2,0

Z výsledků testu byla porovnáním počtu jedinců v kontrolní matici  $N_K$  s počtem jedinců v matici testované  $N_T$  vypočtena míra procentuální únikovosti organismů A. Dále je uveden celkový počet uhynulých jedinců  $N_M$ , ze kterého byla vypočtena celková mortalita organismů v jednotlivých testovaných koncentracích.

U vzorku **BC** byla pozorována **100%** únikovost od dávky 500 mg/kg, což odpovídá 1 300 t/ha. U vzorku **SG** byla pozorována nejvyšší únikovost **80 %**, a to při dávce 500 a 1 000 mg/kg, což odpovídá 1 300, resp. 2 600 t/ha. Nejvyšší mortalita byla naopak pozorována u vzorku **SG**, a to **20 %** u dávky 1 000 mg/kg, což odpovídá 2 600 t/ha. U vzorku **BC** byla pozorována nejvyšší mortalita **10 %** u dávky 1 000 mg/kg, což odpovídá 2 600 t/ha. Výsledné hodnoty únikovosti *A* a mortality *M* pro všechny testované dávky jsou zřehledněny v Tab. 56.

Tab. 56. Vypočtená míra únikovosti testovacího organismu *F. candida*.

<b>BC</b>					
<b>c (mg/kg)</b>	<b>0,0</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
<b>c (t/ha)</b>	<b>0,0</b>	<b>650</b>	<b>1 300</b>	<b>1 950</b>	<b>2 600</b>
A (%)	0,0	50	100	90	100
M (%)	0,0	0,0	0,0	5,0	10
<b>SG</b>					
<b>c (mg/kg)</b>	<b>0,0</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1 000</b>
<b>c (t/ha)</b>	<b>0,0</b>	<b>650</b>	<b>1 300</b>	<b>1 950</b>	<b>2 600</b>
A (%)	0,0	60	80	60	80
M (%)	0,0	10	5,0	5,0	20

#### 4.2.3.6 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

Prostřednictvím tohoto testu byla hodnocena ekotoxicita výluhů jednotlivých vzorků biocharu (specifikace vzorků viz Kap. 3.1.1.2. Tab. 10). Protože celkový počet vzorků, které byly posuzovány prostřednictvím tohoto testu (celkem bylo posuzováno 23 vzorků) byl vysoký, byl měřen přímo vliv samotných vzorků na míru zhášení luminiscence testovacích organismů. Výstupní výsledky testu jsou vyjádřeny jako míra inhibice vyjádřená v procentech. Výsledky základních testů výluhů jednotlivých vzorků biocharu jsou uvedeny v Tab. 57.

Tab. 57. Vyhodnocené výsledky základních testů výluhů jednotlivých vzorků biocharu s organismy *V. fischeri*.

<b>Vzorky biocharu</b>				
<b>Vzorek</b>	<b>BA</b>	<b>BB</b>	<b>BC</b>	<b>SG</b>
Inhibice <sub>15</sub> (%)	-5,830	3,880	88,65	81,95
Inhibice <sub>30</sub> (%)	-8,750	-11,65	87,97	82,03

Míra inhibice luminiscence testovacích organismů po 15 minutách expozice byla u vzorku **BB** naměřena **3,88 %**, u **BC** **88,65 %** a u vzorku **SG** **81,95 %**. U vzorku **BA** byl naopak pozorován efekt stimulace, př kterém byl naměřen nárůst intenzity luminiscence o **5,83 %**.

Míra inhibice luminiscence testovacích organismů po 30 minutách expozice byla u vzorku **BC** naměřena **87,97 %** a u vzorku **SG** **82,03 %**. U vzorků **BA** došlo ke zvýšení míry stimulace záření, přičemž byl naměřen nárůst o **8,75 %**. U vzorku **BB** byl po dalších 15 minutách expozice pozorován efekt hormeze, při kterém byla naměřena stimulace luminiscence **-11,65 %**.

## 5 DISKUZE

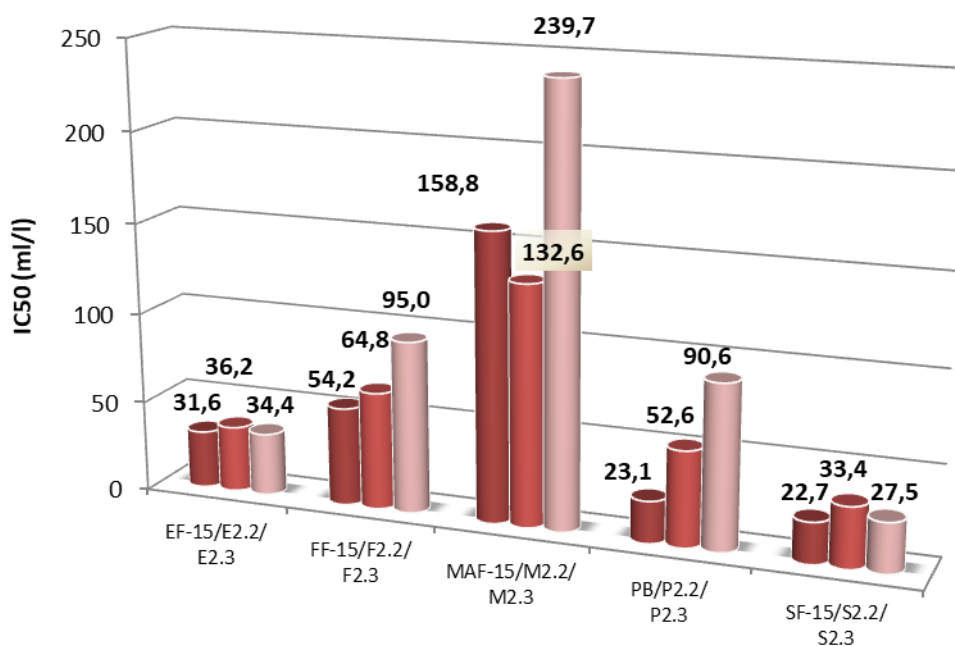
Výsledky baterií testů zvolených pro jednotlivé typy bodových zdrojů znečištění poskytují informace o jejich účincích na organismy různých trofických úrovní ekosystémů. Jedná se o producenty, konzumenty a destruenty. Podle charakteru bodového zdroje znečištění, skupenství vzorku a cílového ekosystému byly voleny jak vodní, tak půdní organismy.

### 5.1 Pěnové hasební prostředky

Pro posouzení míry nebezpečnosti pěnových hasebních prostředků byla zvolena baterie testů, která zahrnuje zástupce vodních korýšů *T. platyurus* a *D. magna*, dále zástupce půdních rostlin *S. alba* a *A. cepa* L. a půdních bezobratlých *E. fetida* a zástupce destruentů, bakterii *V. fischeri*.

#### 5.1.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

Pro rostlinu *S. alba* se jako nejvíce toxický projevil prostředek Sthamex F-15, pro který byla stanovena hodnota IC<sub>50</sub> 22,7 ml/l, včetně obou svých filtrátů (viz Graf 6). Obdobně na tom je prostředek Pyrocool B, pro který vyšla hodnota IC<sub>50</sub> 23,1 ml/l. Jako nejméně toxický se opět projevil Moussol-APS F-15, pro který byla vypočtena hodnota IC<sub>50</sub> 158,8 ml/l. Rostoucí toxický účinek byl u pracovních roztoků pozorován v řadě MAF-15 < FF-15 < EF-15 < PB < SF-15, u obou filtrátů pak MAF-15 < FF-15 < PB < EF-15 < SF-15.



Graf 6. Porovnání výsledných hodnot IC<sub>50</sub> jednotlivých vzorků pro organismus *S. alba* po 72 hodinové expozici.

Toxicita filtrátů je ve všech případech, s výjimkou vzorku M2.2, nižší než toxicita pracovních prostředků. U prostředků Expyrol F-15 a Sthamex F-15 jsou rozdíly mezi hodnotami IC<sub>50</sub> jednotlivých vzorků v řádu jednotek. U prostředků Finiflam F-15 a Pyrocool B už jsou rozdíly v řádu desítek. V případě prostředku Moussol-ASP F-15 byla u vzorku M2.3 hodnota IC<sub>50</sub> vyšší v řádu stovek, zatímco u vzorku M2.2 byla nižší, avšak

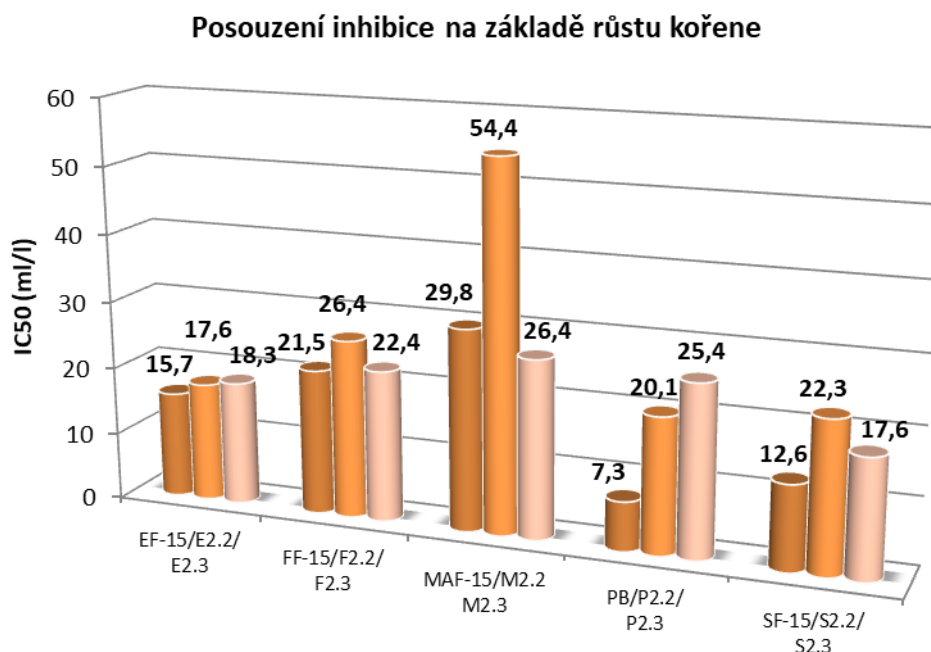
o pouhých 26,2 ml/l. Přestože tento rozdíl už není tak nepatrný jako rozdíl v řádu jednotek, mohla by se na tomto výsledku podílet standardní odchylka a standardní chyba stanovení, která u ekotoxikologie bývá větší než například u instrumentální analýzy.

Konkrétně u testu inhibice růstu kořene hořčice bílé získáváme výsledná data v širokém rozsahu. To je ovlivněno především uspořádáním testu, kdy jsou semínka nasazena na filtrační papír ovlhčený vzorkem. Při tomto uspořádání testu nejsme schopni zajistit rovnoměrné rozložení vzorku a je proto možné, že koncentrace nebude ve všech místech testovací nádoby stejná. Dalším faktorem je také použití filtračního papíru, na který se mohou některé části vzorku sorbovat a mohou tak být nedostupné pro testovací organismus (Kočí a Mocová, 2009). Přes všechny zmíněné nevýhody je tento test stále často využíván především proto, že je snadno proveditelný, rychlý a finančně nenáročný. Vysoký počet dat je také dobře statisticky zpracovatelný a lze tak získat reprezentativní výsledky.

### 5.1.2 Test inhibice prodloužení kořenů cibulových sazeček *A. cepa* L.

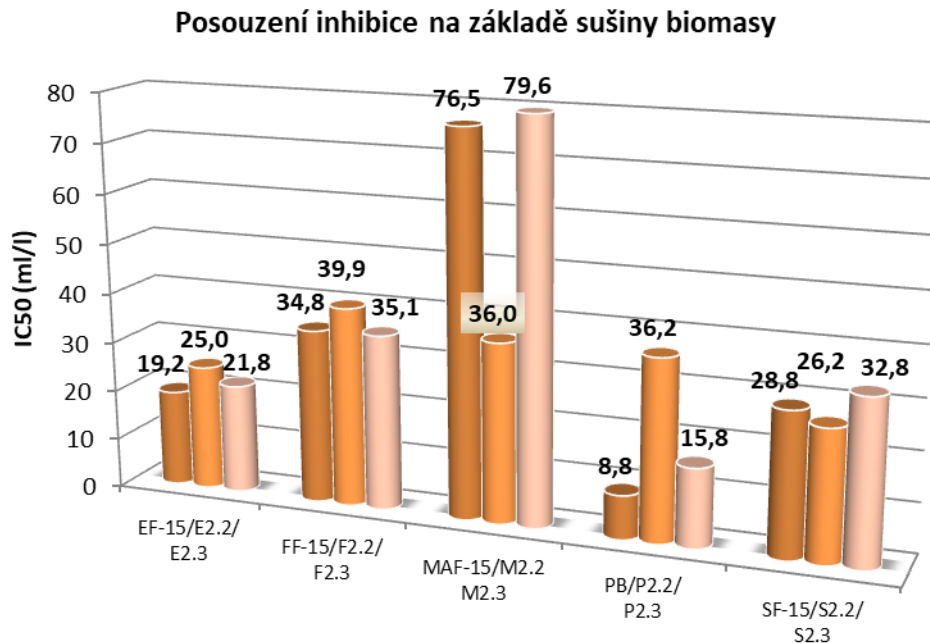
Pro rostlinu *A. cepa* L. se jako nejvíce toxický z hlediska posuzování inhibice délky kořene projevil prostředek Pyrocool B, pro který byla vypočtena hodnota IC<sub>50</sub> 7,3 ml/l (viz Graf 7). V případě filtrátu z půdy Lufa 2.2 se jako nejtoxičtější projevil prostředek Expyrol F-15, pro který vychází hodnota IC<sub>50</sub> 17,6 ml/l. U filtrátů z půdy Lufa 2.3 to byl naopak Sthamex F-15, u kterého byla hodnota IC<sub>50</sub> stanovena na 17,6 ml/l. Prostředky Expyrol F-15 a Sthamex F-15 vykazují obdobnou toxicitu, jejich IC<sub>50</sub> se vzájemně liší pouze o několik jednotek. U všech typů vzorků se jako nejméně toxický projevil prostředek Moussol-APS F-15.

Toxický účinek pracovních roztoků roste v řadě MAF-15 < FF-15 < EF-15 < SF-15 < PB. Toxicita filtrátů z půdy Lufa 2.2 roste v řadě MAF-15 < FF-15 < SF-15 < PB < EF-15. Naopak u filtrátů z půdy Lufa 2.3 roste v řadě MAF-15 < PB < FF-15 < EF-15 < SF-15.



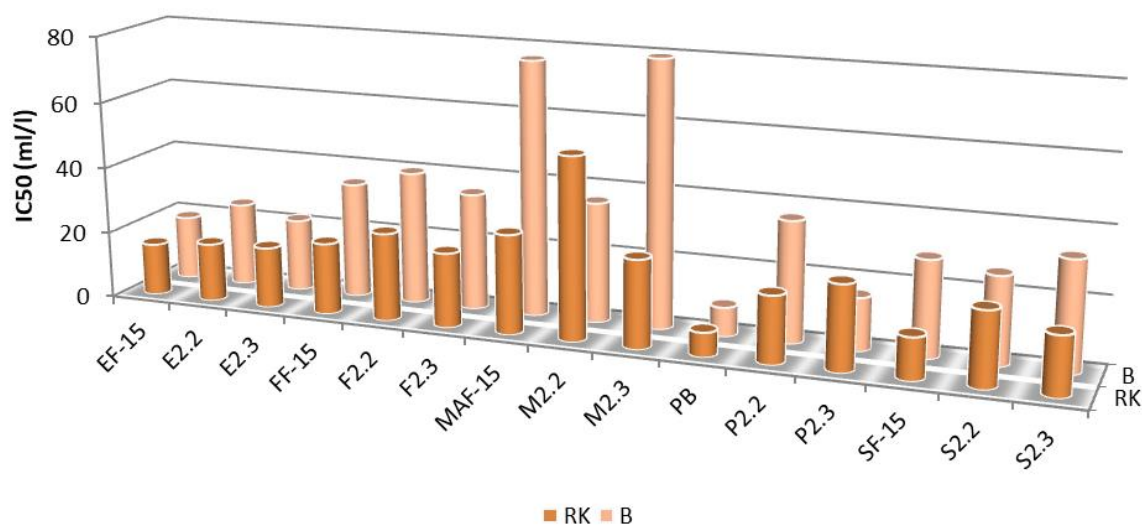
Graf 7. Porovnání výsledných hodnot IC<sub>50</sub>, vypočtených na základě inhibice růstu kořene, jednotlivých vzorků pro organismus *A. cepa* L. po 168 hodinové expozici.

I z hlediska posuzování sušiny biomasy se jako nejvíce toxický projevil prostředek Pyrocool B, pro který v tomto případě vyšla hodnota IC50 8,8 ml/l (viz Graf 8). Mezi filtráty z půdy Lufa 2.2 byl nejtoxičtější prostředek Expyrol F-15 s IC50 25,0 ml/l a mezi filtráty z půdy Lufa 2.3 to byl naopak Pyrocool B s IC50 15,8 ml/l. Jako nejméně toxický se opět projevil prostředek Moussol-APS F-15, ovšem mezi filtráty z půdy Lufa 2.2 to byl překvapivě prostředek Finiflam F-15.



*Graf 8. Porovnání výsledných hodnot IC50, vypočtených na základě posouzení sušiny biomasy, jednotlivých vzorků pro organismus *A. cepa* L. po 168 hodinové expozici.*

Výsledné hodnoty IC50 vypočtené na základě hodnocení různých endpointů se ve většině případů liší. U prostředků Expyrol F-15 a Finiflam F-15 vykazují stejný trend, přičemž hodnoty IC50 vypočtené z hlediska sušiny biomasy jsou v řádu jednotek vyšší. U prostředku Sthamex F-15 jsou také vyšší hodnoty IC50, vypočtené z hlediska sušiny biomasy, ovšem trend v rozdílech toxicity mezi pracovním roztokem a filtráty je opačný. Zatímco z hlediska růstu kořene je více toxický filtrát S2.2, z hlediska sušiny biomasy je to filtrát S2.3. U prostředků Moussol-APS F-15 a Pyrocool B jsou obdobné rozdíly v trendu jako u prostředku Sthamex F-15. Ovšem u těchto dvou prostředků byla toxicita z hlediska sušiny biomasy u vzorků M2.2 a P2.3 nižší, než toxicita z hlediska růstu kořene. Toto lze vysvětlit velkou chybou stanovení sušiny biomasy, která je v tomto případě často způsobena nekonzistentní maticí inhibovaných kořínků a rovněž manipulací se vzorkem. Celkové porovnání výsledků získaných na základě hodnocení různých endpointů graficky znázorňuje Graf 9.

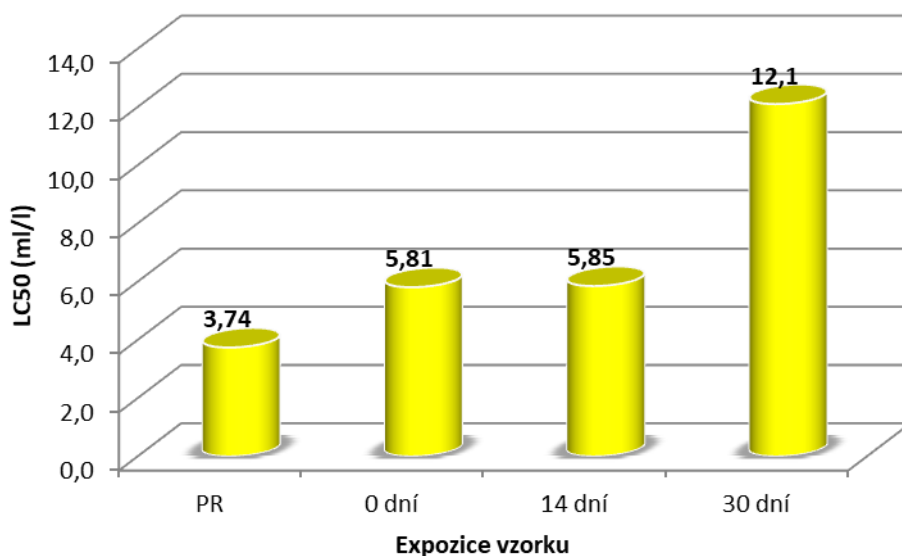


Graf 9. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *A. cepa* L., kde RK je hledisko růstu kořene a B je hledisko sušiny biomasy.

### 5.1.3 Thamnotoxkit F<sup>TM</sup>

Pěnové hasební prostředky jsou v praxi často aplikovány ve venkovním prostředí při požárech přírodních útvarů, jako jsou například lesy, nebo při požárech antropologických objektů, jako jsou budovy. Protože při aplikaci prostředku zpravidla dochází ke splachům a odtokům do přírodních ekosystémů, ve kterých setrvává dle jejich charakteru různě dlouhou dobu, byl pomocí testu Thamnotoxkit F<sup>TM</sup> ověřen vliv fyzikální degradace na míru jeho ekotoxického účinku. Tento test byl zvolen vzhledem k jeho jednoduchému konceptu a krátké expoziční době. Pro testování byl vybrán vzorek filtrátu E2.3, protože vzorky hasebního prostředku Expyrol F-15 vykazují v různých testech vyšší ekotoxikologický účinek.

Z výsledků testu vyplývá, že ekotoxicita vzorku E2.3, ponechaného k degradaci za standardních laboratorních podmínek, klesá (viz Graf 10). Významný pokles toxického účinku byl pozorován až po expozici 30 dní. Lze tedy předpokládat, že roztok uvolněný do životního prostředí vlivem nejen fyzikálních vlivů degraduje, což má za následek pokles jeho toxického účinku pro vodní bezobratlé organismy. Ekotoxicita daného prostředku před aplikací na půdní matrici byla v roce 2013 v rámci diplomové práce stanovena na 3,74 ml/l (Doležalová, 2013). Z toho je patrné, že ekotoxický účinek roztoku klesá už při pouhém průchodu půdní matricí, avšak na úkor její kvality. K dalšímu snížení ekotoxického účinku potom dochází vlivem fyzikálních, fyzikálně-chemických a biologických vlivů.



Graf 10. Porovnání výsledných hodnot LC50 vzorku prostředku Epxyrol F-15 a jeho filtrátu získaného z půdy Lufa 2.3 pro organismus *T. platyurus* v čase.

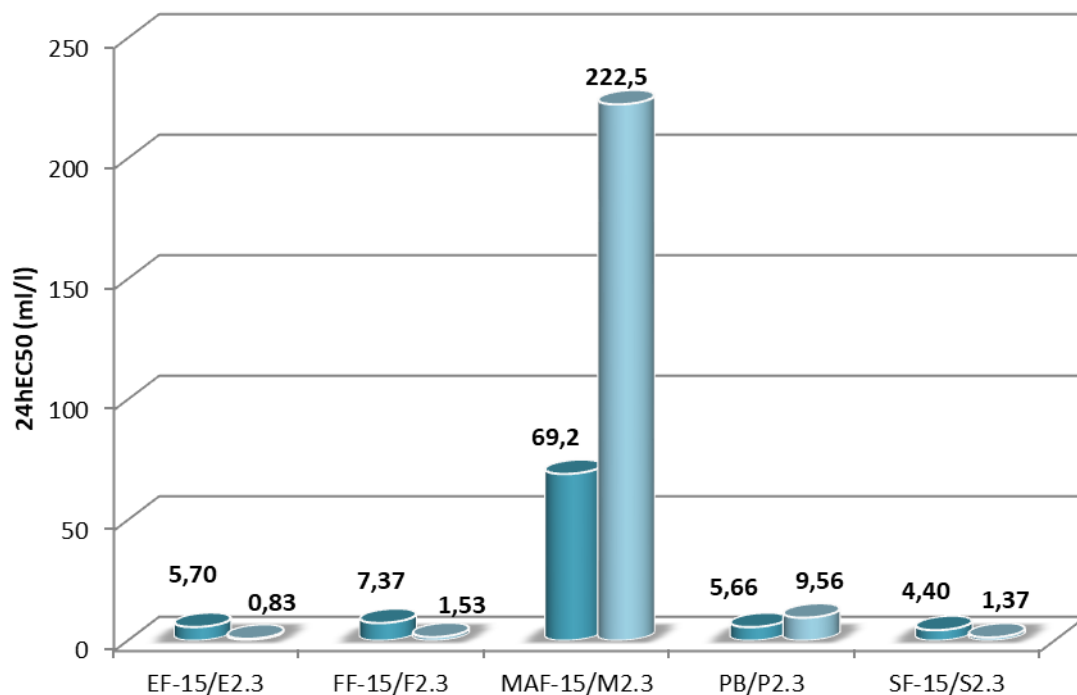
Protože výskyt organismu *T. platyurus* není v našich klimatických podmínkách běžný, není jeho využití v rámci tohoto testu zcela reprezentativní a dále s ním již v práci nebylo pracováno. V našich podmínkách se hojně vyskytuje zástupce korýšů *D. magna*, který byl využit pro další testování.

#### 5.1.4 Daphtoxkit F<sup>TM</sup>

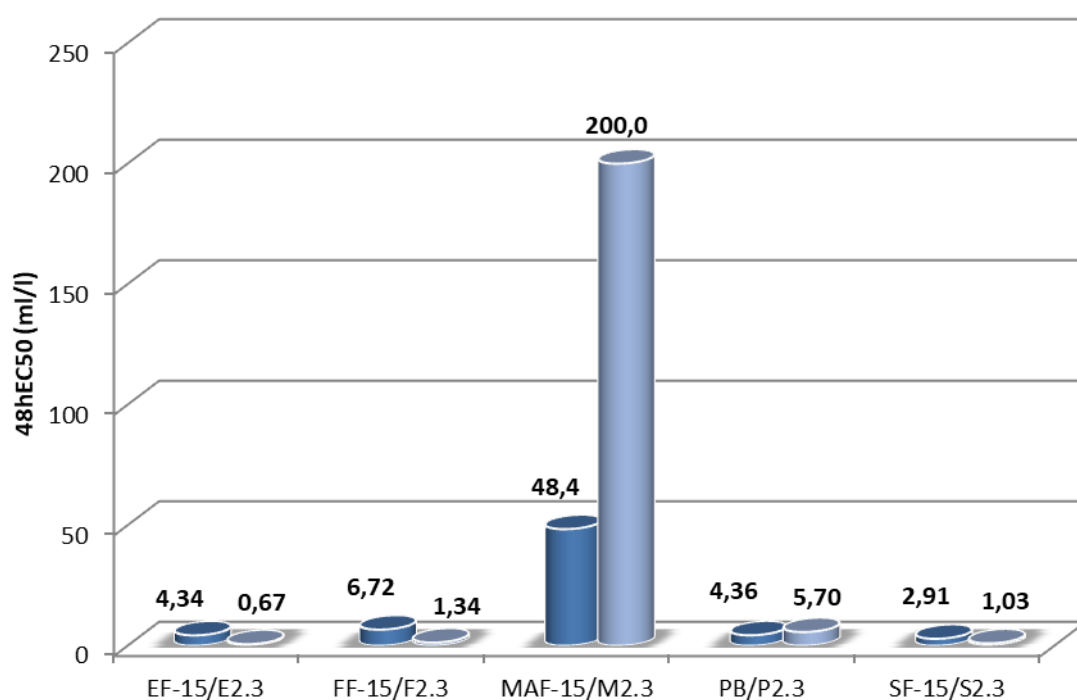
Výsledky testů na rostlinných organismech potvrzují velmi malý rozdíl mezi vlivem půdních matric Lufa 2.2 a Lufa 2.3 na změnu toxického účinku vzorků. Z tohoto důvodu již byly pro další testování zvoleny pouze filtráty Lufa 2.3. Při výběru byl zohledněn i fakt, že půda Lufa 2.3 je častěji používána jako standardní matrice při ekotoxikologickém testování.

Z pracovních roztoků hasebních prostředků se jako nejtoxičtější pro organismus *D. magna* projevil prostředek Sthamex F-15, u kterého byla vypočtena hodnota EC50 po 24 a 48 hodinové expozici 4,40 ml/l, resp. 2,91 ml/l (viz Graf 11 a 12). Prostředky Pyrocool B, Epxyrol F-15 a Finiflam F-15 vykazují obdobnou toxicitu. Jako nejméně toxický byl určen prostředek Moussol-APS F-15. Rostoucí toxicita byla pozorována v řadě MAF-15 < FF-15 < EF-15 < PB < SF-15.

Naopak z roztoků filtrátů získaných z půdy Lufa 2.3 vykazuje nejvyšší toxicitu prostředek Epxyrol F-15, pro který byla vypočtena hodnota EC50 po 24 a 48 hodinové expozici 0,83 ml/l, resp. 0,67 ml/l. O jeden řád vyšší toxicitu potom vykazují prostředky Sthamex F-15, Finiflam F-15 a Pyrocool B. I v tomto případě se jako nejméně toxický projevil prostředek Moussol-APS F-15. U filtrátů byla rostoucí toxicita pozorována v řadě MAF-15 < PB < FF-15 < SF-15 < EF-15.



Graf 11. Porovnání výsledných hodnot EC50 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 24 hodinové expozici.

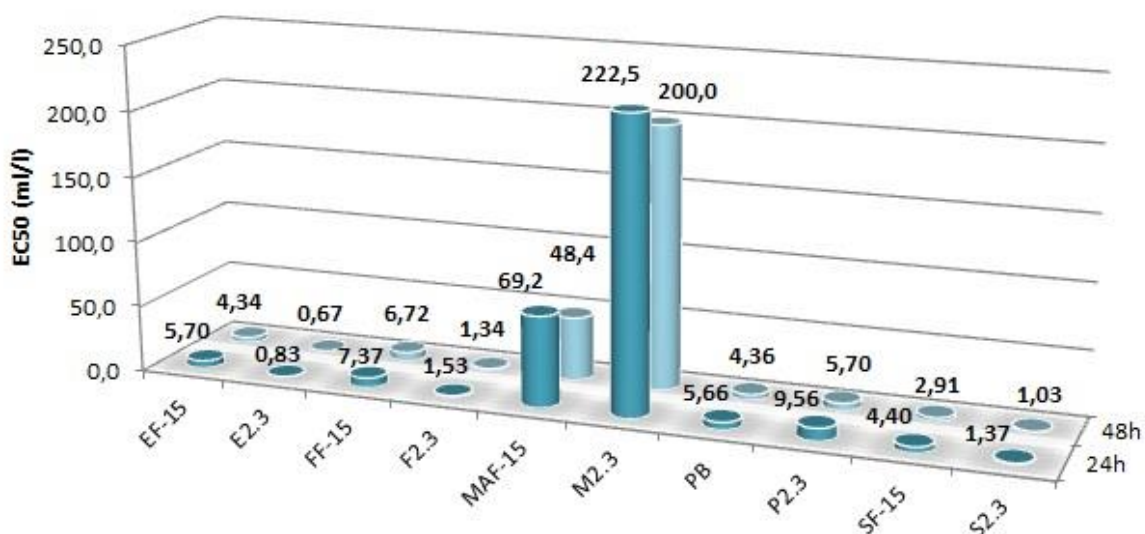


Graf 12. Porovnání výsledných hodnot EC50 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 48 hodinové expozici.

Základním předpokladem experimentu byla hypotéza, že při průsaku pracovního roztoku půdou dojde, vlivem sorpčních vlastností půdy, k poklesu ekotoxického účinku daného roztoku. Paradoxně se tato hypotéza potvrdila pouze u dvou vzorků, a to u prostředku



Moussol-APS F-15 a Pyrocool B. U prostředků Expyrol F-15, Finiflam F-15 a Sthamex F-15 došlo k opačnému efektu a naopak byla pozorována vyšší toxicita filtrátů oproti pracovním roztokům.



Graf 13. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *D. magna*.

Vyšší toxicita filtrátů může být způsobena kratší dobou zdržení roztoku v půdním loži. V rámci experimentu došlo ke komplikacím při infiltraci vzorku MAF-15 a PB, v důsledku kterých byly tyto vzorky ponechány k infiltraci přes noc a doba zdržení roztoků byla proto delší, než u zbývajících prostředků. V důsledku delšího působení půdního sorpčního komplexu to tedy může mít za následek nižší toxicitu vzorků M2.3 a PB (viz celkové porovnání na Graf 14). Lze konstatovat, že po průchodu testovaných roztoků půdním sorpčním komplexem dochází k poklesu jejich toxicity, avšak na úkor kvality půdní matrice, jejíž toxicita naopak roste (Doležalová, 2013).

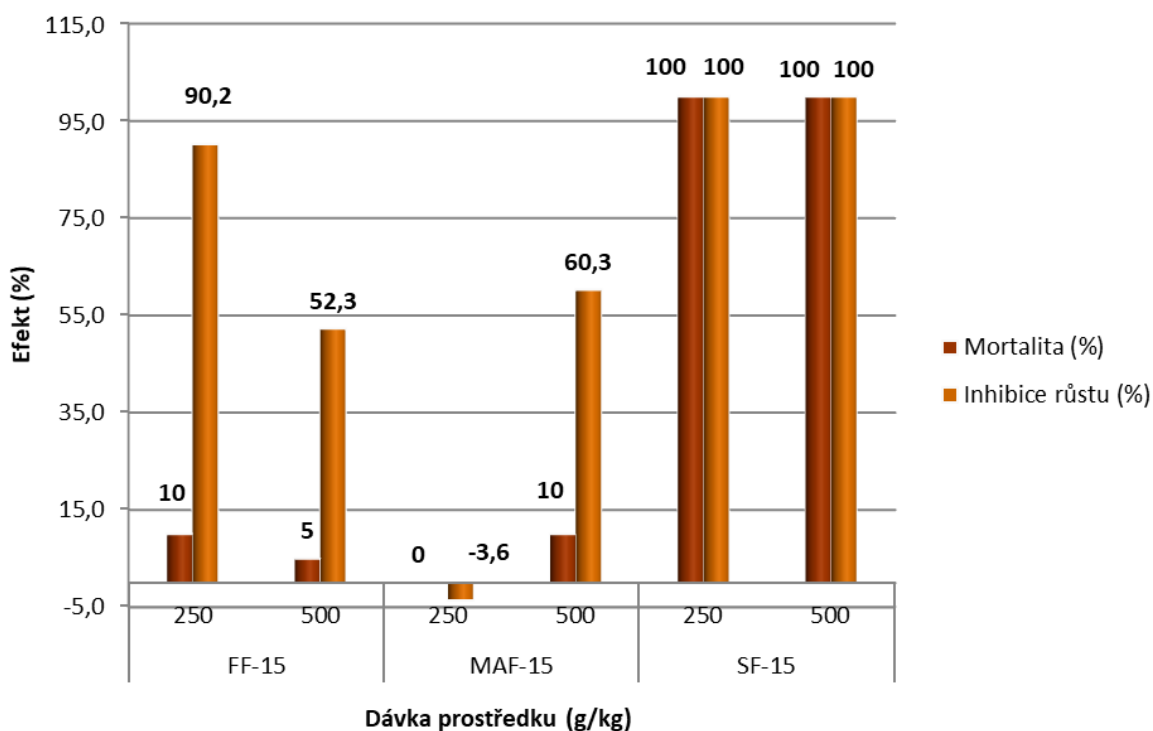
Jiné testy ovšem vykazují opačný trend a toxicita filtrátů je oproti pracovním prostředkům nižší. To spíše poukazuje na vyšší citlivost organismů z kytu. Pracovní roztoky byly testovány na organismech z laboratorního chovu, zatímco filtráty byly z důvodu následného nedostatku reprezentativních organismů z chovu testovány na organismech z kytu. Z výsledků vyplývá, že porovnání výsledků pro stejný organismus jiného původu není zcela objektivní a poskytuje zkreslené informace.

### 5.1.5 Test reprodukce žížal (*E. fetida*/*E. andrei*)

V rámci orientačního screeningového testu se jako nejtoxičtější pro organismus *E. fetida* projevil prostředek Sthamex F-15, u kterého byla jak při dávce 250 g/kg, tak při dávce 500 g/kg pozorována 100% úmrtnost a tedy i 100% inhibice růstu (viz Graf 14).

U prostředku Finiflam F-15 byla pozorována mortalita pouze 10 % pro dávku 250 g/kg a 5 % pro dávku 500 g/kg. Inhibice růstu však byla pozorována 90,2 % pro dávku 250 g/kg, resp. 52,3 % pro dávku 500 g/kg. Kontaminace prostředkem sice nezpůsobila úhyn organismu, nicméně způsobila jeho stres, který se projevil inhibovaným růstem oproti organismům z kontroly.

U prostředku Moussol-APS F-15 nebyl u dávky 250 g/kg pozorován úhyn žádného organismu, u dávky 500 g/kg byla pozorována úmrtnost pouze 10 %. Co se týče růstu organismů, u dávky 250 g/kg byla naopak pozorována jeho stimulace, a to 3,6 % oproti kontrole. U dávky 500 g/kg už byla pozorována inhibice růstu 60,3 %.

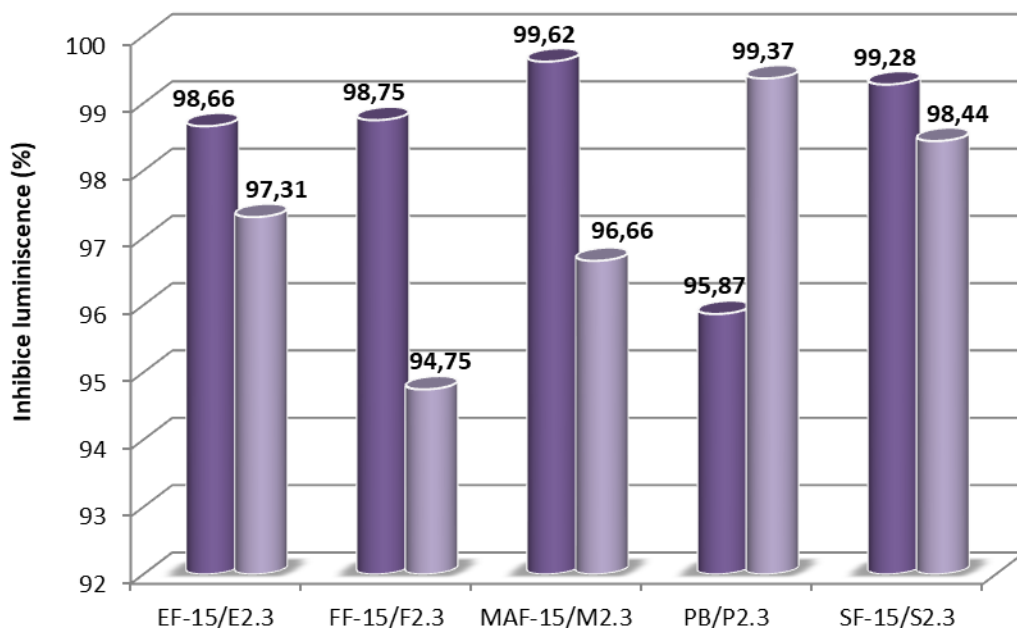


Graf 14. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *E. fetida*.

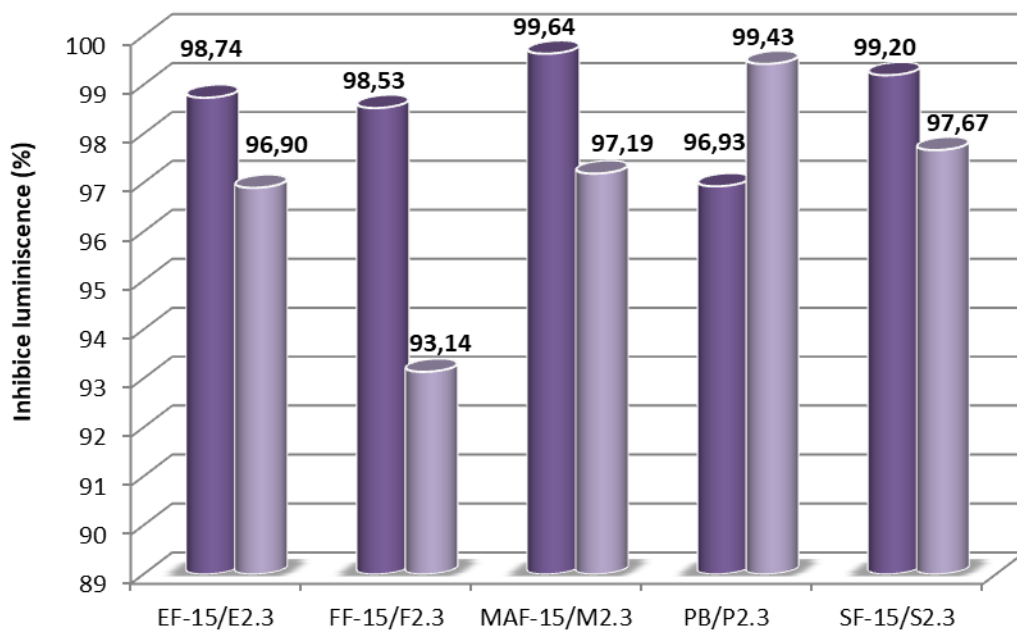
### 5.1.6 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

Ze vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků se jako nejtoxičtější pro organismus *V. fischeri* projevila prostředek Moussol-APS F-15, pro který byla naměřena hodnota inhibice luminiscence po 15 a 30 minutové expozici 99,62 %, resp. 99,64 % (viz Graf 15 a 16). Jako nejméně toxický v řadě se potom projevila Pyrocool B, pro který byla naměřena inhibice luminiscence po 15 a 30 minutách expozice 95,87 %, resp. 96,93 %. U pracovních roztoků hasebních prostředků byla rostoucí toxicita pozorována v řadě PB < EF-15 < FF-15 < SF-15 < MAF-15.

Ze vzorků filtrátů z půdy Lufa 2.3 se jako nejtoxičtější pro organismus *V. fischeri* projevila prostředek Pyrocool B, pro který byla naměřena hodnota inhibice luminiscence po 15 a 30 minutové expozici 99,37 %, resp. 99,43 %. Jako nejméně toxický v řadě se potom projevila Finiflam F-15, pro který byla naměřena inhibice luminiscence po 15 a 30 minutách expozice 94,75 %, resp. 93,14 %. U filtrátů byla rostoucí toxicita pozorována v řadě F2.3 < M2.3 < E2.3 < S2.3 < P2.3.



Graf 15. Souhrnné grafické znázornění výsledků inhibice luminiscence organismu *V. fischeri* po 15 minutách expozice testovanému vzorku.

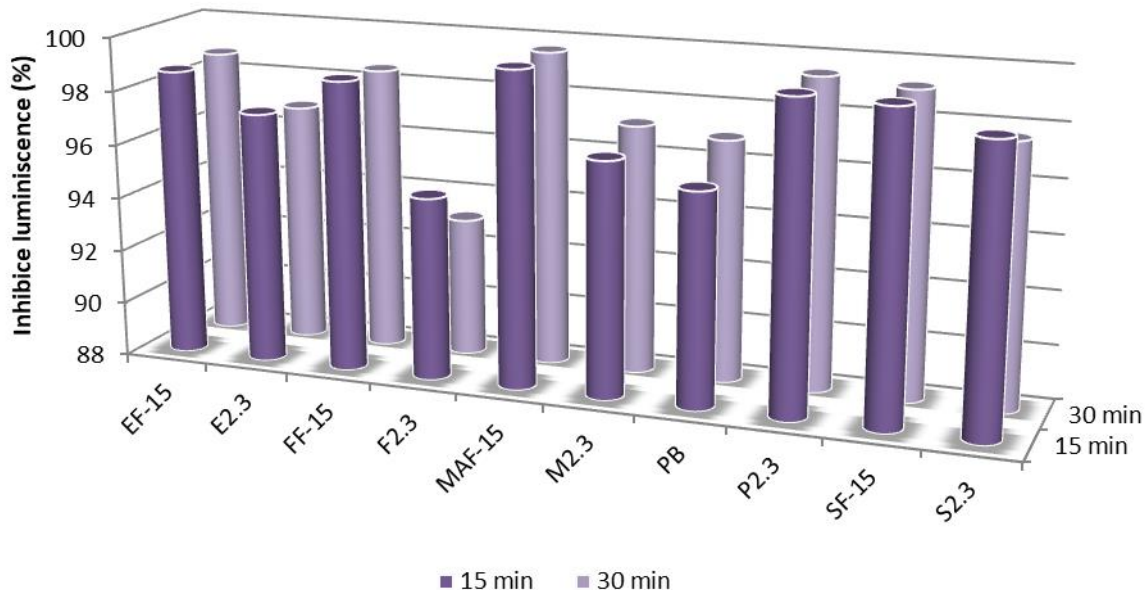


Graf 16. Souhrnné grafické znázornění výsledků inhibice luminiscence organismu *V. fischeri* po 30 minutách expozice testovanému vzorku.

Z Grafu 15 a 16 je patrné, že inhibice naměřená po 30 minutách expozice je nepatrně nižší, než inhibice naměřená po prvních 15 minutách. Znamená to, že postupem času došlo k poklesu inhibice luminiscence. Výjimkou je zde prostředek Pyrocool B, u kterého došlo po dalších 15 minutách expozice naopak ke zvýšení inhibičního efektu. Rozdíly mezi výsledky inhibice po 15 a po 30 minutách jsou v řádu jednotek a jsou proto zanedbatelné.

S přihlédnutím k chybě, která vzniká při manipulaci se vzorkem a při samotném měření, lze říci, že výsledky jsou téměř totožné.

Totéž lze konstatovat při posuzování toxicity všech vzorků a při rozhodování, který vzorek způsobuje nejvyšší inhibiční efekt. V případě testu inhibice luminiscence bakterií *V. fischeri* jsou výsledky testů velmi podobné. Inhibiční účinky vzorků se pohybují v rozmezí 93 až téměř 100 %. Všechny vzorky vykazují významně vysokou toxicitu pro daný testovací organismus. Celkové porovnání zobrazuje Graf 17.



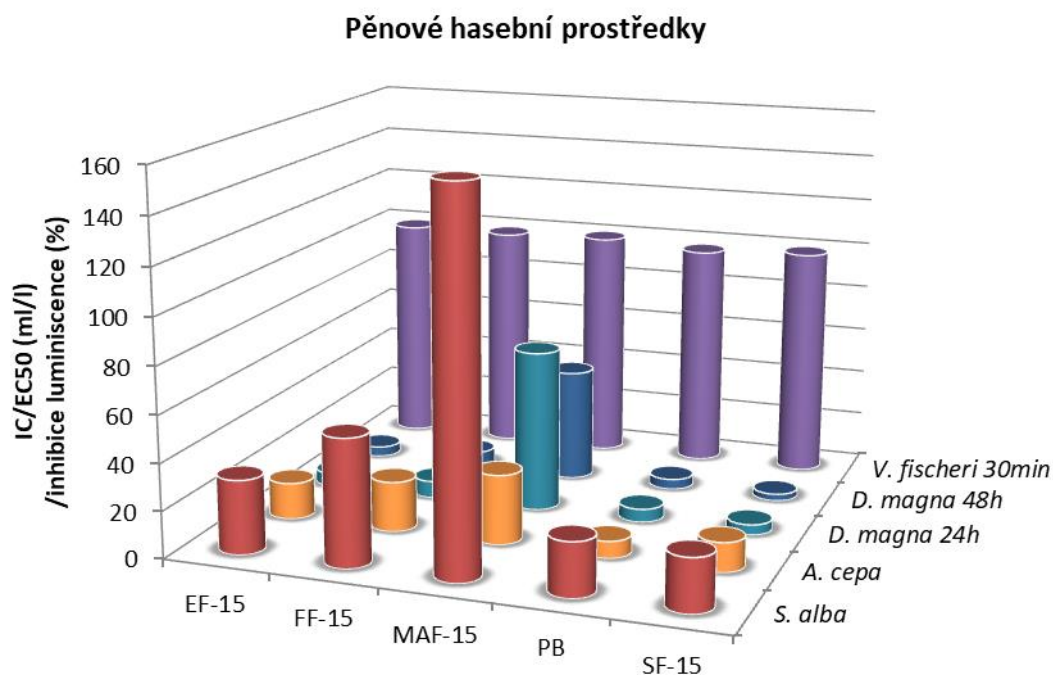
Graf 17. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *V. fischeri*.

### 5.1.7 Shrnutí

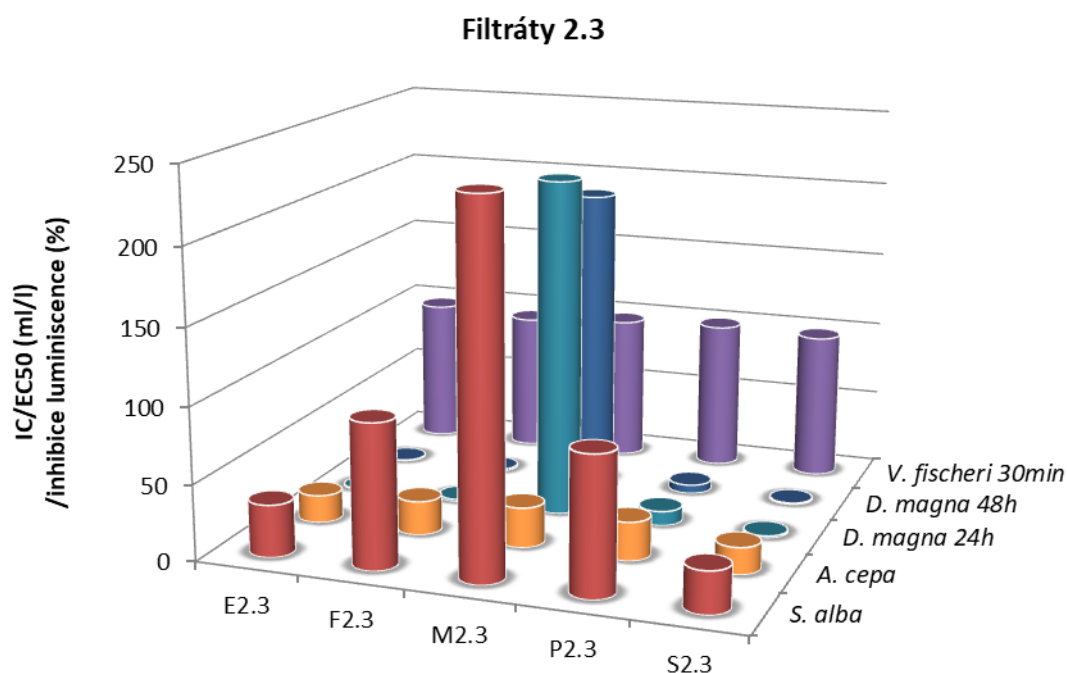
Z Grafu 18 je patrné, že pěnové hasební prostředky jsou nejvíce zátěžové pro vodní organismy *D. magna* a bakterie *V. fischeri*. Tyto organismy v rámci testování vykazovaly nejvyšší citlivost vůči testovaným látkám. Nepatrně vyšší citlivost vykazují sazečky půdní rostliny *A. cepa* L. Naopak nejméně citlivé byly v porovnání s ostatními organismy semena terestrické rostliny *S. alba*.

Graf 19 znázorňuje shrnutí výsledků testování filtrátů z půdy Lufa 2.3. I zde nejvyšší citlivost vykazují vodní korýši a bakterie. Nepatrně nižší citlivost vykazují sazečky cibule. Zajímavé jsou výsledky pro filtrát prostředku Moussol-APS F-15, který je pro perloočky výrazně méně toxický, než ostatní filtráty. Nejnižší citlivost opět vykazují semena hořčice bílé.

To může být způsobeno tím, že test inhibice klíčení a růstu kořene nevystihuje vlivy testovaných látek na celou rostlinu, protože stav rostliny je posuzován ještě ve stádiu, ve kterém nemá vyvinuté základní části, a to kořen, stonk a listy. Výsledky tedy vypovídají spíše o rhizotoxicitě látek, než o toxicitě pro celou rostlinu (Kočí a Mocová, 2009).



Graf 18. Celkové shrnutí všech výsledků testování pracovních roztoků pěnových hasebních prostředků.



Graf 19. Celkové shrnutí všech výsledků testování filtrátů pěnových hasebních prostředků z půdy Lufa 2.3.

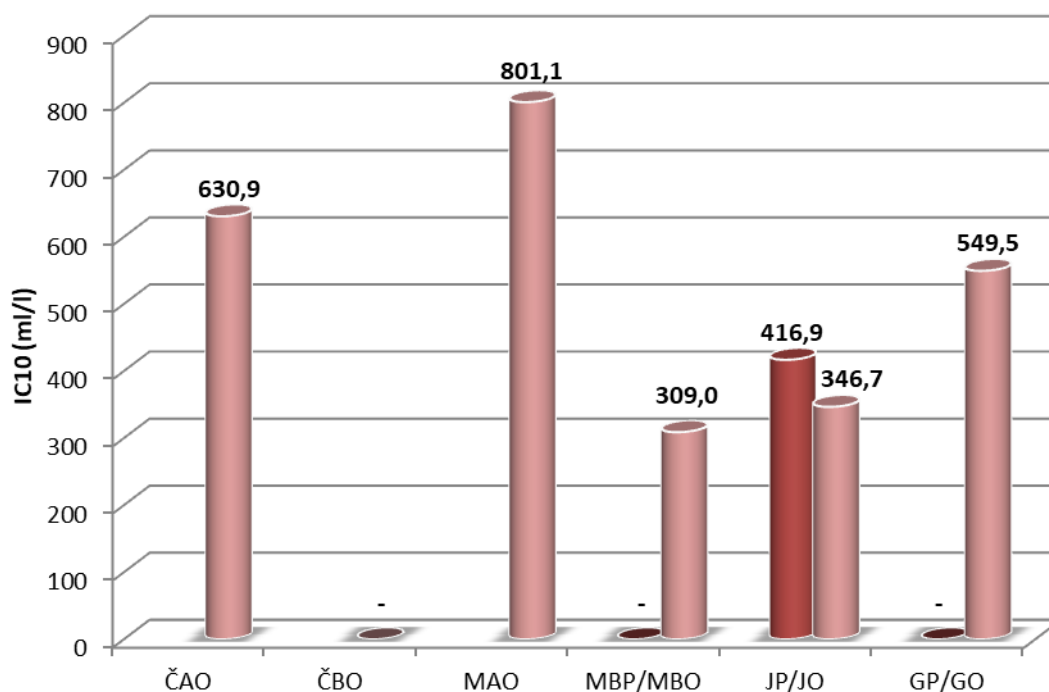
## 5.2 Odpadní vody

Pro posouzení míry nebezpečnosti odpadních vod byla zvolena baterie testů, která zahrnuje zástupce vodních korýšů *D. magna*, dále zástupce půdních rostlin *S. alba*, zástupce vodních rostlin *L. minor* a zástupce destruentů, bakterii *V. fischeri*.

### 5.2.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

Pro rostlinu *S. alba* vykazovala měřitelný toxický účinek pouze vyčištěná odpadní voda z jatek, vzorek JO, pro kterou byla vypočtena hodnota IC<sub>50</sub> 498,9 ml/l. Při takové dávce lze vzorek klasifikovat jako relativně netoxický. Při testování zbývajících vzorků nebylo dosaženo 50% inhibice růstu kořene hořčice bílé. Ostatní vzorky proto nevykazují toxické účinky pro daný testovací organismus.

Protože 50% efekt byl pozorován pouze u jednoho vzorku z devíti, byla pro všechny vzorky vypočtena i hodnota IC<sub>10</sub>, tj. koncentrace, která způsobí 10% inhibici růstu kořínků. Pouze u vzorků ČBO, MBP a GP nebylo dosaženo ani 10% efektu. Vzorek MBO, který vykazuje nejvyšší toxicitu pro organismus *S. alba*, způsobuje 10% inhibici růstu až v koncentraci 309,0 ml/l (viz Graf 20). Jako nejméně toxický z hlediska hodnot IC<sub>10</sub> se jeví vzorek MAO, pro který byla tato hodnota vypočtena na 801,1 ml/l. Z hlediska hodnot IC<sub>10</sub> roste toxicita v řadě MBP < GP < ČBO < MAO < ČAO < GO < JP < JO < MBO.

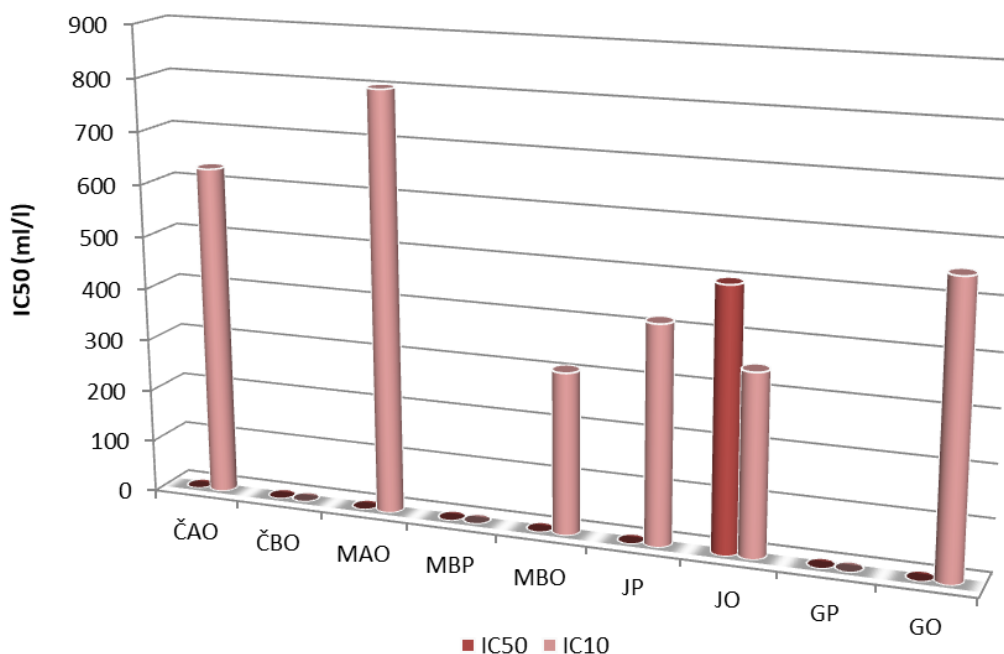


Graf 20. Porovnání výsledných hodnot IC<sub>10</sub> jednotlivých vzorků pro organismus *S. alba* po 72 hodinové expozici.

Základním předpokladem experimentu byla hypotéza, že vyčištěné odpadní vody nebudou pro rostlinné organismy vůbec toxické a ze surových odpadních vod budou toxické pouze ty průmyslové. Z toho důvodu nebyl u biologických ČOV odebrán vzorek odpadní vody na přítoku ČOV.

Paradoxně pro organismus *S. alba* vykazují v případě mlékárny (MB) a jatek (J) vyčištěné odpadní vody vyšší toxický účinek než odpadní vody surové. Přestože pro testování nebyly k dispozici vzorky surových odpadních vod z ČOV ČA a MA, lze obdobný jev očekávat i zde. S výjimkou jatek (J), byla u surových odpadních vod naopak pozorována stimulace růstu kořínků, což je pravděpodobně zapříčiněno vysokým obsahem makroprvků a nutrientů, které terestrické rostliny potřebují ke svému růstu. Odpadní vody tak sehrály roli hnojiva

a namísto očekávané inhibice růstu způsobily jeho stimulaci a kořínky v testu byly výrazně delší, než v kontrolním nasazení. Celkové porovnání výsledků zobrazuje Graf 21.



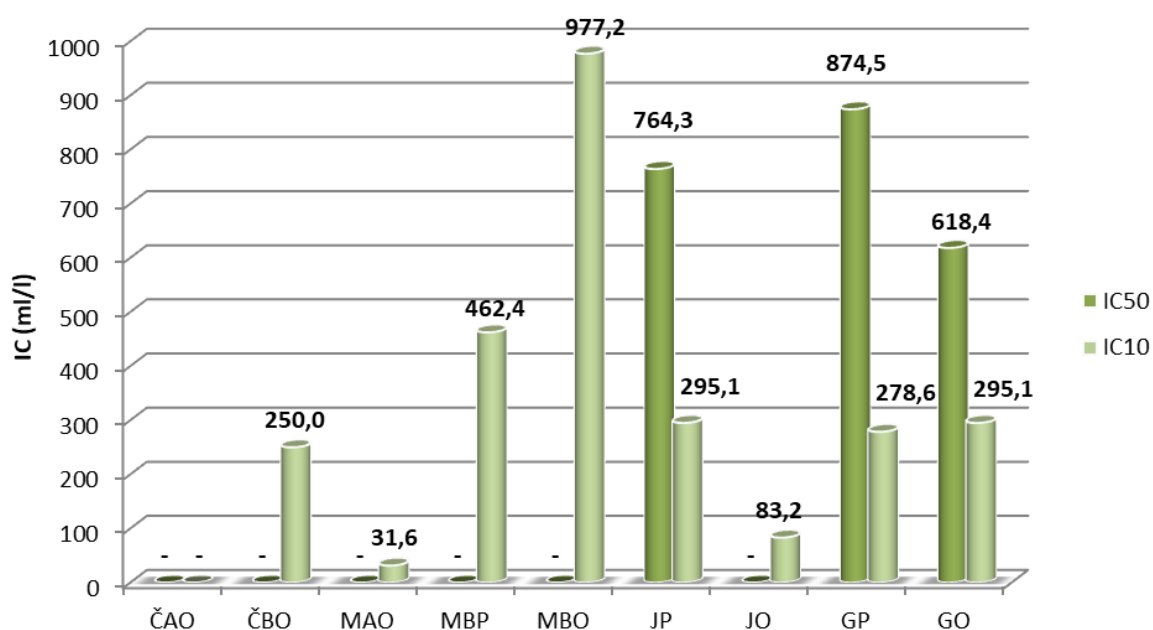
Graf 21. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *S. alba*.

### 5.2.2 Test inhibice růstu okřehku menšího *L. minor*

Z hlediska posuzování inhibice délky kořene se pro rostlinu *L. minor* jako nejvíce toxická projevila chemicky předčištěná odpadní voda z galvanovny, vzorek GO, pro kterou byla stanovena hodnota IC50 až na 618,4 ml/l (viz Graf 22). Míry inhibice růstu 50 % bylo dále dosaženo při testování vzorků JP a GP. U dalších vzorků nebylo dosaženo 50% efektu.

Z toho důvodu byla pro všechny vzorky vypočtena i hodnota IC10, tedy koncentrace, při které je pozorovatelná 10% inhibice růstu. Porovnáním hodnot IC10 se jako nejvíce toxická projevila vyčištěná odpadní voda z mlékárny, vzorek MAO, pro kterou byla tato hodnota stanovena už na 31,6 ml/l. Seřazením dle hodnot IC50 roste toxicita vzorků v řadě ČAO ≤ MBO ≤ MBP ≤ ČBO ≤ JO ≤ MAO < GO < JP < GP. Dle IC10 však roste v řadě ČAO < MBO < MBP < GO = JP < GP < ČBO < JO < MAO.

### Posouzení inhibice na základě růstové rychlosti

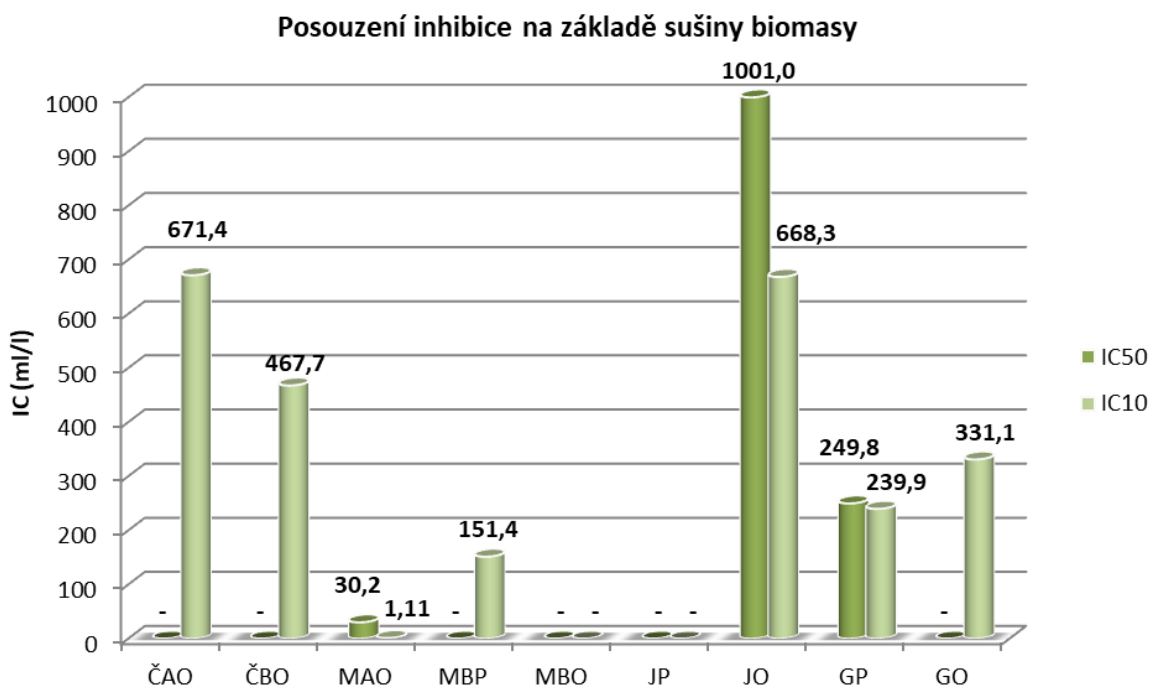


Graf 22. Porovnání výsledných hodnot IC50 a IC10, vypočtených na základě inhibice růstu kořene, jednotlivých vzorků pro organismus *L. minor* po 168 hodinové expozici.

I z hlediska posuzování úbytku množství suché biomasy se jako nejvíce toxická projevila vyčištěná odpadní voda z mlékárny, vzorek MAO, pro kterou byla vypočtena hodnota IC50 30,2 ml/l (viz Graf 23). Míra inhibice 50 % byla dále pozorována u vzorků GP a JO. U dalších vzorků nebylo dosaženo 50% sledovaného efektu.

Z toho důvodu byla pro všechny vzorky vypočtena i hodnota IC10, tedy koncentrace, při které je pozorovatelná 10% inhibice růstu. Podle hodnot IC10 se jako nejvíce toxická také projevila vyčištěná odpadní voda z mlékárny, vzorek MAO, pro kterou byla tato hodnota stanovena už na 1,11 ml/l. Podle IC50 roste toxicita vzorků v řadě  $MBO \leq JP \leq \check{C}AO \leq \check{C}BO \leq MBP \leq GO < JO < GP < MAO$ . Dle IC10 však roste v řadě  $MBO < JP < \check{C}AO < JO < \check{C}BO < GO < GP < MBP < MAO$ .



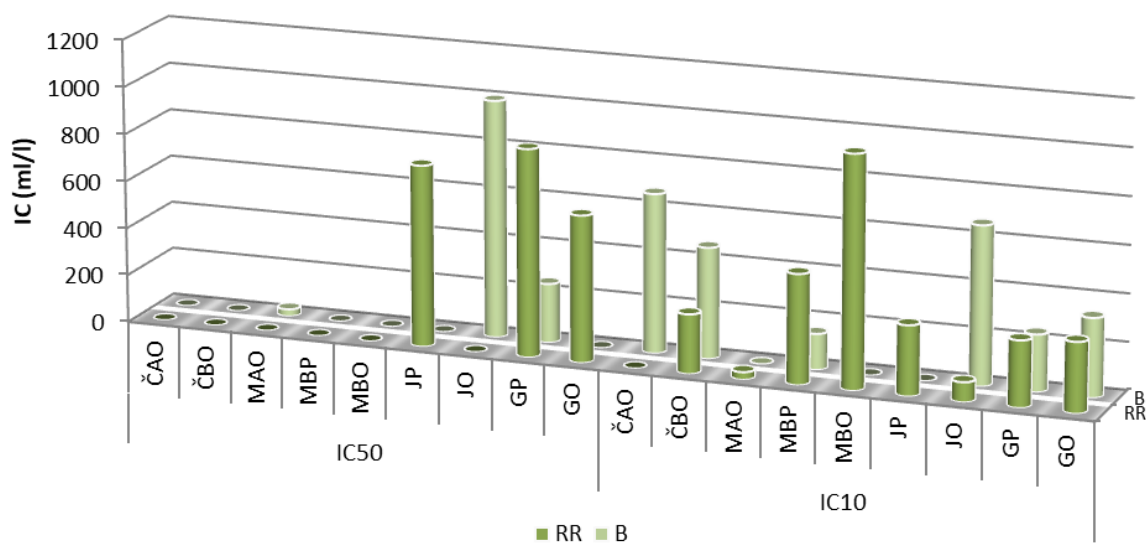


Graf 23. Porovnání výsledných hodnot IC50 a IC10, vypočtených na základě hodnocení sušiny biomasy, jednotlivých vzorků pro organismus *L. minor* po 168 hodinové expozici.

Výsledné hodnoty IC50 vypočtené na základě různých endpointů se u více než poloviny vzorků liší. U vzorků ČAO, ČBO, MBP a MBO nebyl ani u jednoho endpointu pozorován 50% sledovaný efekt. U vzorků MAO a JO nebyla hodnota IC50 stanovena z hlediska růstové rychlosti, přičemž u vzorku JO byl pozorován diametrální rozdíl ve výsledcích získaných na základě obou posuzovaných endpointů, tj. počtu lístků a sušiny biomasy. Naopak u vzorků JP a GO nebyla hodnota IC50 stanovena z hlediska sušiny biomasy a opět byly mezi výsledky pozorovány významné rozdíly. Pouze u vzorku GP bylo možné stanovit hodnotu IC50 z obou hledisek, přičemž obě hodnoty se od sebe opět velmi liší.

Výsledné hodnoty IC10 vypočtené na základě různých endpointů se také velmi liší. Pouze u vzorku ČAO nebyla hodnota IC10 stanovena z hlediska růstové rychlosti, naopak u vzorků MBO a JP nebyla tato hodnota stanovena z hlediska hmotnosti sušiny biomasy. Pouze u vzorků MAO, GP a GO vychází výsledky z obou hledisek obdobně. V ostatních případech se opět diametrálně liší. Souhrnné výsledky graficky znázorňuje Graf 24.

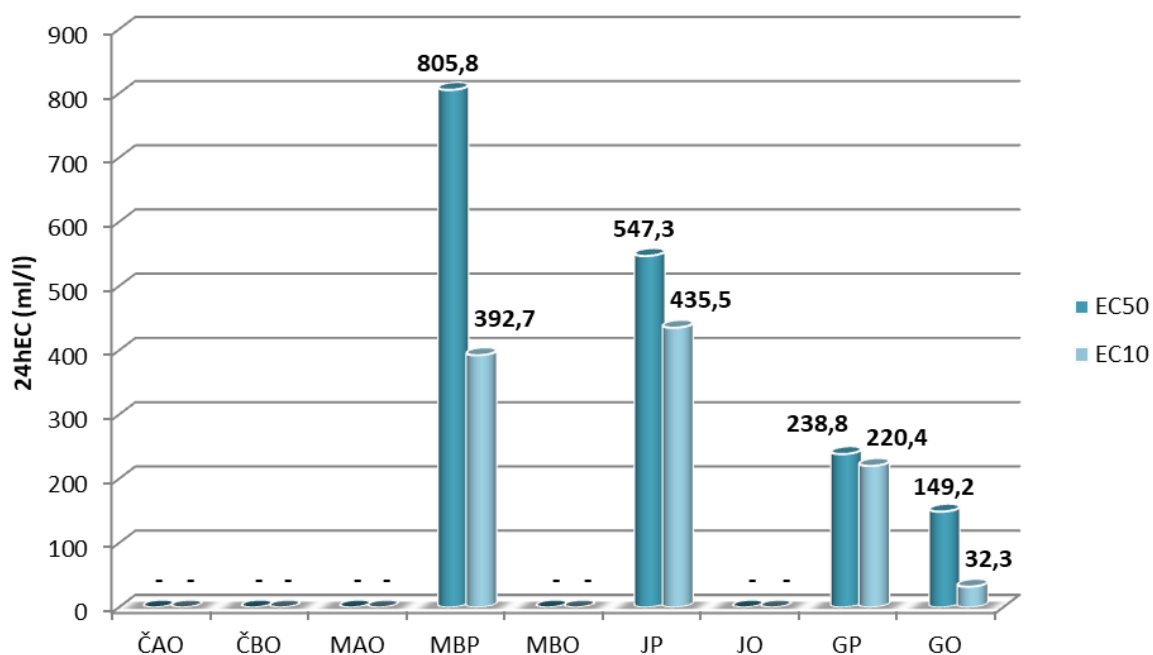
Obrovské rozdíly mezi výsledky vyhodnocenými na základě hodnocení různých endpointů vypovídají o nepřesnosti stanovení jednoho z nich. Logicky by mělo být přesnější stanovení sušiny biomasy. Ovšem v tomto případě je tolik proměnných parametrů, že se toto stanovení stává mnohem nepřesnějším a méně vypovídajícím, než hodnocení růstové rychlosti. Při stanovení sušiny biomasy není přihlíženo k zvláštní konzistenci biologické matrice, kterou tvoří chlorotické listy ve vysokých koncentracích vzorku. Tak, i když jsou patrné listy, které vyrostly a následně podlely chloróze, při stanovení sušiny v podstatě téměř vymizí a jejich hmotnost je nepatrná. Dalším rizikem při tomto stanovení je vliv lidského faktoru při převodu biomasy z testovací nádoby na sítko, a při proplachu a následnému převodu na předem vysušený a zvážený filtrační papír. Lépe vypovídající se ze zkušenosti jeví hodnocení z hlediska posouzení růstové rychlosti.



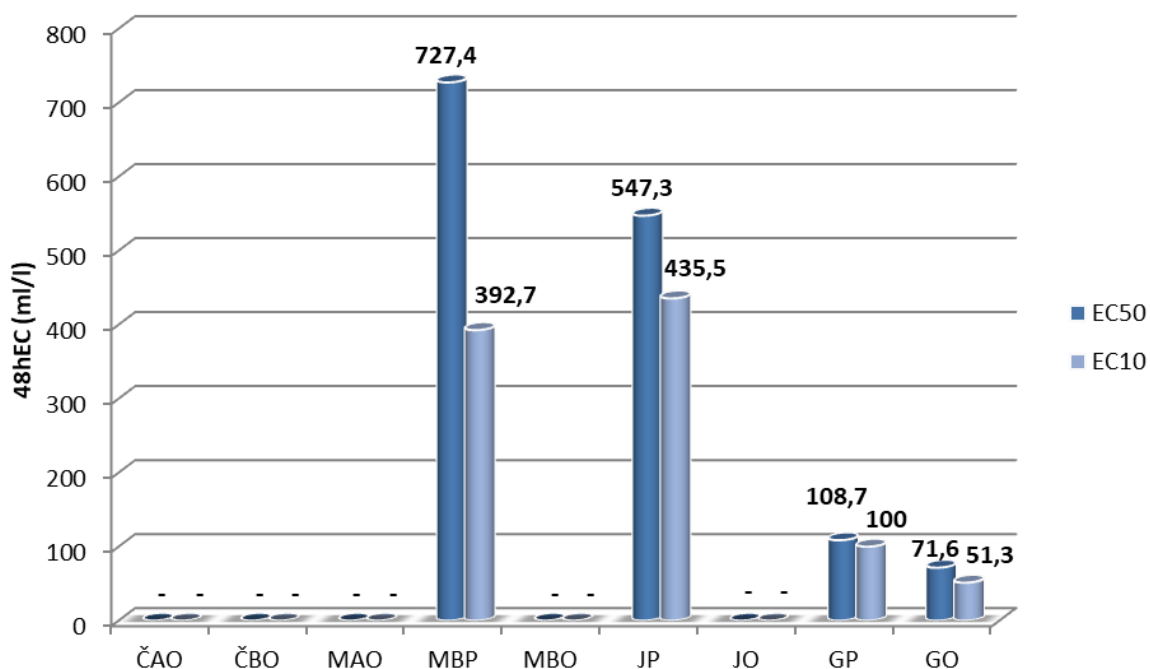
Graf 24. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *L. minor*, kde RR je hledisko růstové rychlosti a B je hledisko hmotnosti sušiny biomasy.

### 5.2.3 Daphtoxkit F™

Z odpadních vod se jako nejtoxičtější pro organismus *D. magna* projevil vzorek vyčištěné odpadní vody z galvanovny GO, pro který byla vypočtena hodnota EC50 po 24 a 48 hodinové expozici 149,2 ml/l, resp. 71,6 ml/l (viz Graf 25 a 26). Surová odpadní voda z galvanovny GP vykazuje mírně nižší toxicitu. Jako nejméně toxické se projevíly odpadní vody z biologických ČOV (vzorky ČAO, ČBO, MAO) a vyčištěná odpadní voda ze sýrárny MBO. Rostoucí toxicita byla pozorována v řadě MAO < ČBO < MBO < ČAO < JO < MBP < JP < GP < GO.



Graf 25. Porovnání výsledných hodnot EC50 a EC10 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 24 hodinové expozici.



Graf 26. Porovnání výsledných hodnot EC50 a EC10 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 48 hodinové expozici.

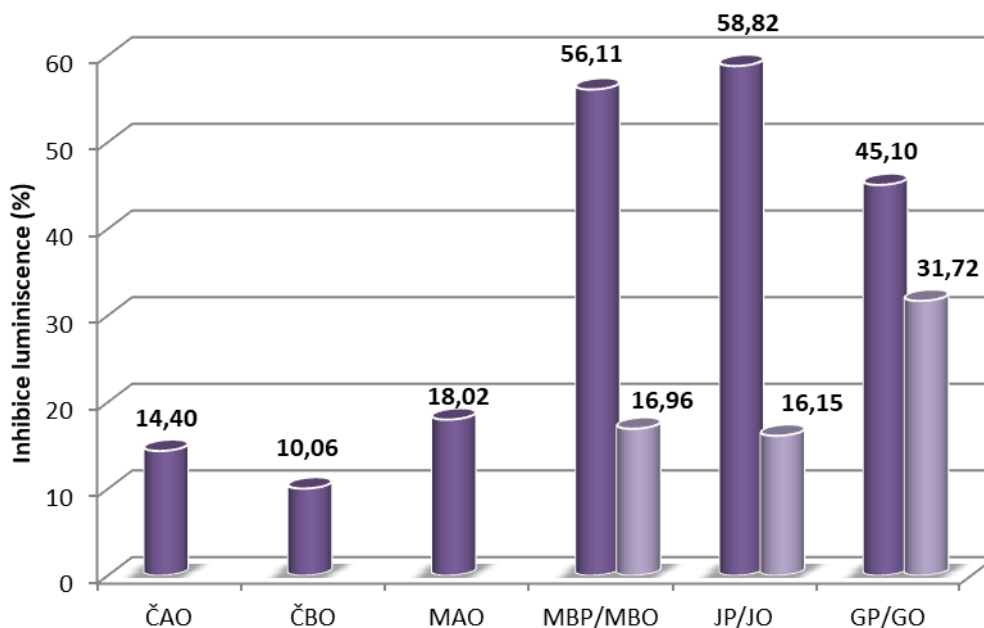
Základním předpokladem experimentu byla hypotéza, že vyčištěné odpadní vody nebudou pro vodní organismy vůbec toxické a ze surových odpadních vod budou toxické pouze ty průmyslové. Z toho důvodu nebyl u biologických ČOV odebrán vzorek odpadní vody na přítoku ČOV.

Tato hypotéza byla potvrzena u vzorků ČAO, ČBO, MAO, MBP, MBO, JP a JO, u kterých nebylo dosaženo ani 10% imobilizace organismů. Opačný jev pozorujeme u vzorků z galvanovny, kdy je paradoxně vyšší toxicita předčištěné odpadní vody oproti surové odpadní vodě. To může být způsobeno chemismem čištění odpadních vod, při kterém vlivem dávkování neutralizačních činidel a koagulantů dochází ve výstupní vodě ke zvyšování salinity (parametr RAS), která může být těžko snášena daným testovacím organismem. Také to může být způsobeno čištěním těchto odpadních vod v takové míře, aby byly splněny limity kanalizačního řádu města, ve kterém společnost působí. Protože předčištěné odpadní vody odtékají kanalizací k dočištění na městskou ČOV, neměly by tyto vody způsobit žádnou újmu organismům přírodních ekosystémů.

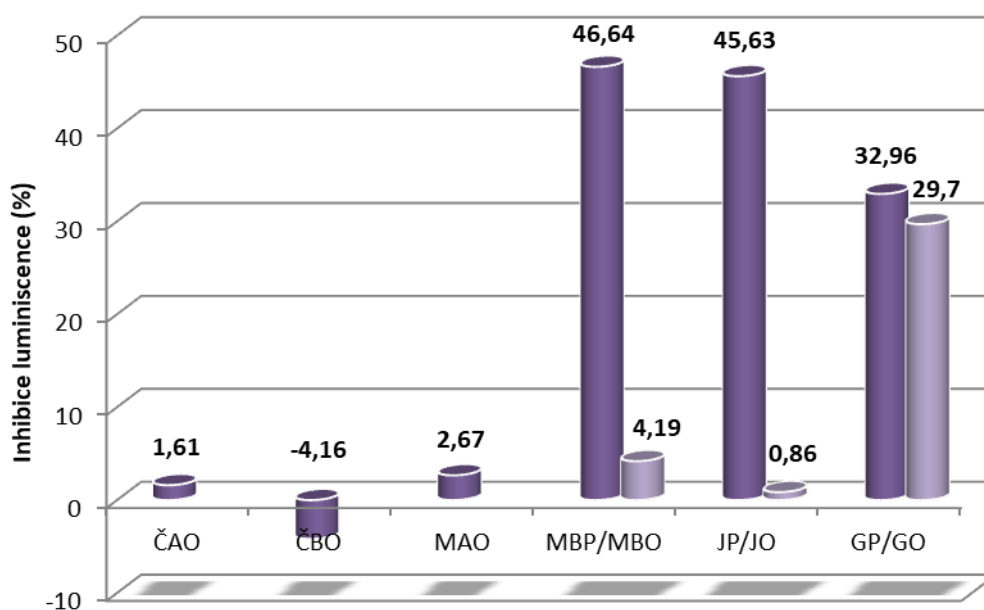
#### 5.2.4 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

Ze vzorků odpadních vod se jako nejtoxičtější pro organismus *V. fischeri* projevil vzorek JP, pro který byla naměřena hodnota inhibice luminiscence po 15 a 30 minutové expozici 58,82 %, resp. 45,63 % (viz Graf 27 a 28). Jako nejméně toxický v řadě se potom projevil vzorek ČBO, pro který byla naměřena inhibice luminiscence pouze po 15 minutách expozice, a to 10,06 %. Po dalších 15 minutách expozice se u tohoto vzorku projevil proces hormeze, při kterém byla pozorována stimulace záření o 4,16 % (naměřená hodnota byla záporná). U odpadních vod byla rostoucí toxicita po 15 minutách expozice pozorována v řadě ČBO < ČAO < JO < MBO < MAO < GO < GP < MBP < JP. Po 30 minutách expozice se pořadí

vzorků nepatrně mění a rostoucí toxicita je pozorována v řadě ČBO < JO < ČAO < MAO < MBO < GO < GP < JP < MBP.



Graf 27. Souhrnné grafické znázornění výsledků inhibice luminiscence organismu *V. fischeri* po 15 minutách expozice testované látky.



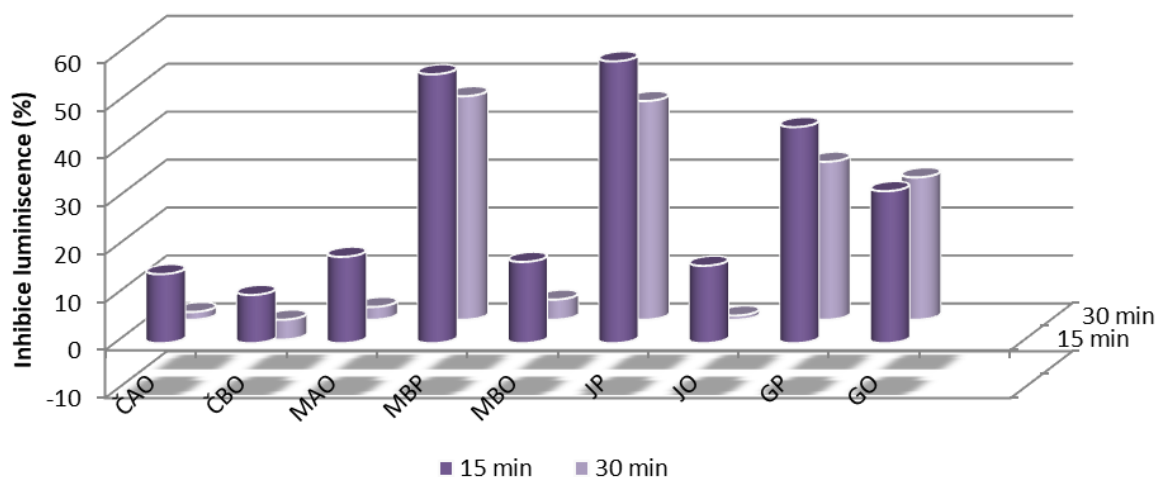
Graf 28. Souhrnné grafické znázornění výsledků inhibice luminiscence organismu *V. fischeri* po 30 minutách expozice testované látky.

Z grafů je patrné, že inhibice naměřená po 30 minutách expozice je nepatrně nižší, než inhibice naměřená po prvních 15 minutách. Znamená to, že postupem času dochází k poklesu inhibice luminiscence a bakterie začínají emitovat více záření.

Při posuzování toxicity všech vzorků je patrný rozdíl mezi toxickým účinkem surových odpadních vod vstupujících na ČOV a následně vystupujících vyčištěných vod na odtoku. Byl potvrzen předpoklad, že odpadní vody na vstupu budou výrazně toxické v porovnání s vodami na odtoku. Hodnocení toxicity odpadních vod na ČOV MB a J potvrdilo účinnost čistícího procesu. Voda odtékající z ČOV vykazuje několikanásobně nižší inhibiční efekt, než voda přitékající.

Pouze v případě odpadních vod z galvanovny došlo k nízkému poklesu toxicity vlivem čistícího procesu ČOV. Je to zapříčiněno částečně charakterem vod a především způsobem jejich čištění. Protože tyto vody jsou odváděny do městské kanalizace k dočištění na biologické ČOV, není kladen takový důraz na jejich čištění, jako je tomu v případě vypouštění do přírodní vodoteče. O dočištění se postará právě ona městská ČOV, která společně vyčistí vody od několika stovek tisíc EO.

Hodnoty inhibice vzorků vod z odtoků ČOV ČA, ČB a MA kopírují výsledky odtoků ostatních ČOV, s výjimkou ČOV G. Souhrnné výsledky graficky znázorňuje Graf 29.



Graf 29. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *V. fischeri*.

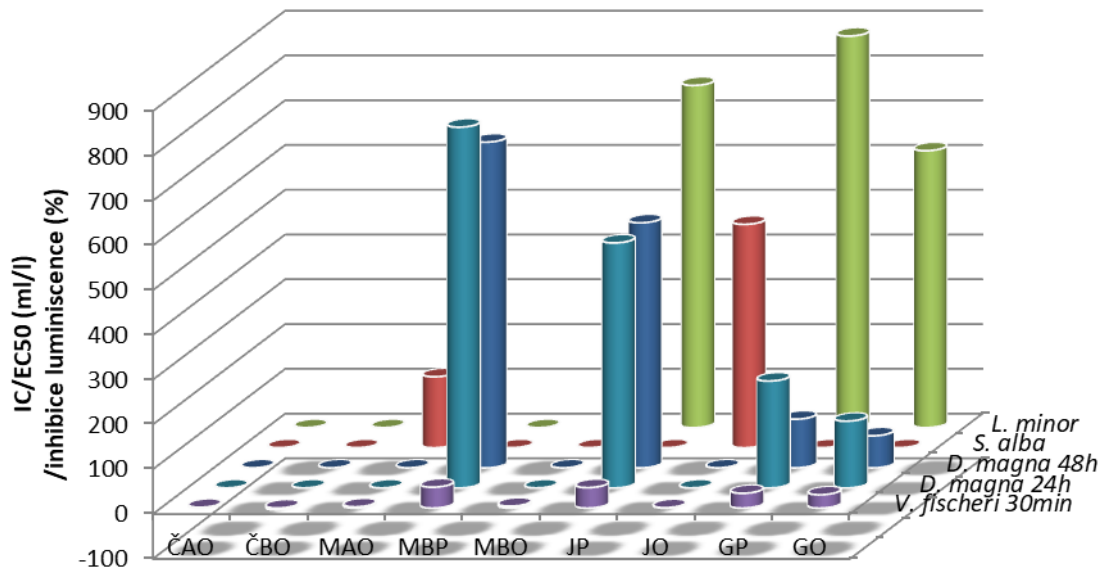
### 5.2.5 Shrnutí

U odpadních vod už není zcela jednoduché určit, které organismy jsou více či méně citlivé. Stále však lze říci, že vyšší citlivost vůči testovaným vzorkům vykazují bakterie *V. fischeri* a perloočky *D. magna*. Nižší citlivost potom vykazují zástupce vodních rostlin *L. minor*. V případě testování odpadních vod projevila semena suchozemské rostliny *S. alba* vyšší citlivost, než rostlina vodní. Může to být zapříčiněno typem rostliny, jak již bylo uvedeno. Hořčice je rostlina terestrická, nikoliv akvatická, jako je okřehek menší.

Zástupce terestrických rostlin byl do testování zahrnut pro účely ověření vlivů havárií, při kterých dochází k rozliti odpadních vod do okolí, ať už při transportu nebo při havárii ČOV. Rostlinné organismy potom vypovídají o negativních dopadech havárií, při kterých dochází k únikům odpadních vod do přírodních vodotečí (při odstávce ČOV, poruchy systému měření a regulace, tzv. MaR, apod.).

Obecně jsou průmyslové odpadní vody toxičtější na vstupu do ČOV, než vyčištěné vody na výstupu. To je velmi pozitivní, protože se tak potvrzuje účinnost čistícího procesu

i z hlediska přímého vlivu na organismy. V praxi je účinnost ověřována pouze analytickými rozbory v rozsahu ukazatelů stanovených vodoprávním rozhodnutím. Souhrn výsledků graficky znázorňuje Graf 30.



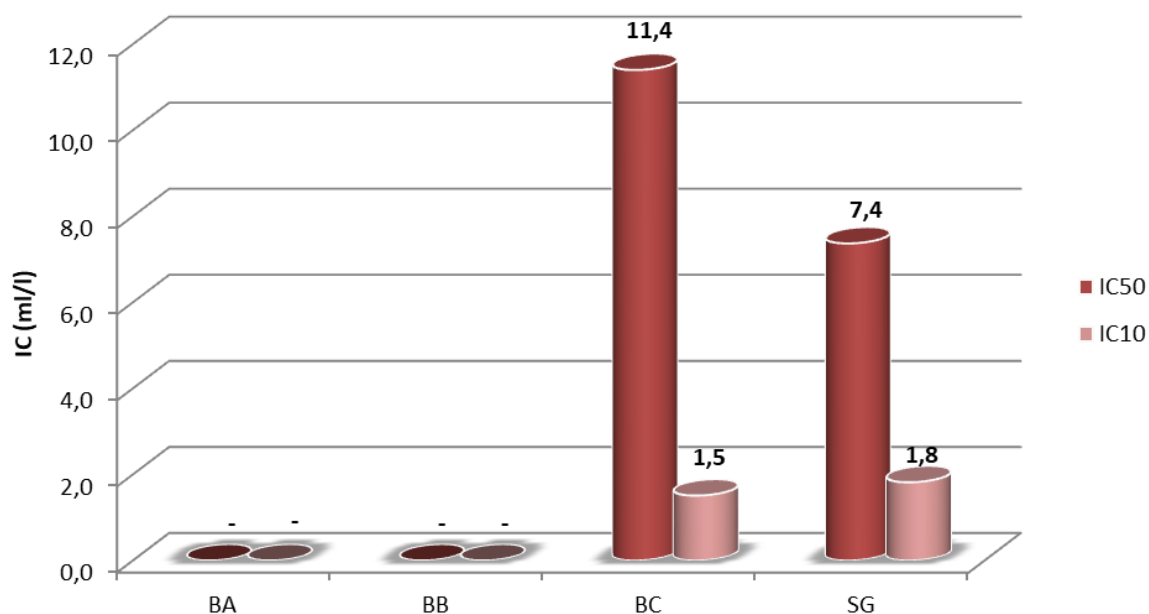
Graf 30. Celkové shrnutí všech výsledků testování odpadních vod.

### 5.3 Biochar

Pro posouzení míry nebezpečnosti různých druhů biocharu byla zvolena baterie testů, která zahrnuje zástupce vodních korýšů *D. magna*, dále zástupce půdních rostlin *S. alba*, zástupce vodních rostlin *L. minor* a zástupce destruentů, bakterii *V. fischeri*.

#### 5.3.1 Test inhibice růstu kořene hořčice bílé *S. alba*

Pro rostlinu *S. alba* se jako nejvíce toxický projevilo výluh vysušeného kalu, vzorek SG, pro který byla stanovena hodnota IC<sub>50</sub> 7,4 ml/l (viz Graf 31). Obdobnou toxicitu však vykazuje i výluh biocharu vyrobeného z vysušeného kalu, vzorek BC, pro který byla vypočtena hodnota IC<sub>50</sub> 11,4 ml/l. Jako nejméně toxické byly prokázány výluhy z biocharů BA a BB, pro které nebylo možné vypočítat ani hodnotu IC<sub>10</sub>, protože v rámci testování nebyla pozorována ani 10% inhibice růstu kořínků. Rostoucí toxicita byla pozorována v řadě BA = BB < BC < SG.

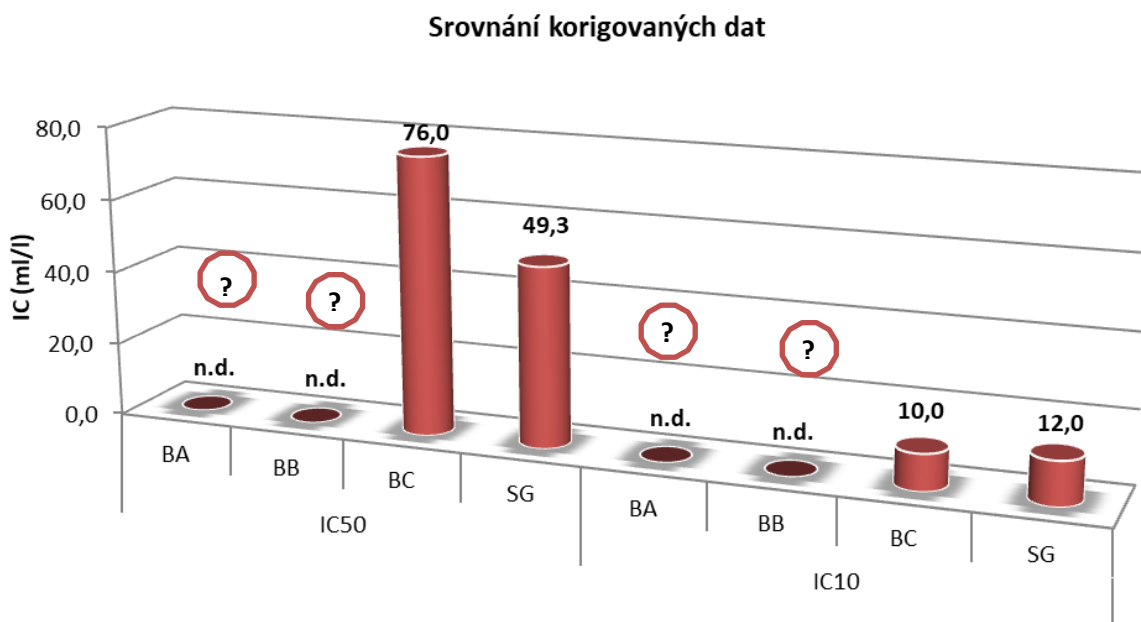


Graf 31. Porovnání výsledných hodnot IC50 jednotlivých vzorků pro organismus *S. alba* po 72 hodinové expozici.

Základní ideou experimentu byl předpoklad, že vzorek biocharu BC bude výrazně méně toxický, než vzorek vstupního materiálu SG, ze kterého byl vyroben. Tento předpoklad nebyl zcela naplněn, protože pro organismus *S. alba* vykazují oba vzorky obdobnou toxicitu, o které nelze říci, že by byla nízká.

Naopak vzorky BA a BB překvapily, a to hned ze dvou důvodů. Nezapáchaly po popelu a jejich výluhy nebyly vůbec zabarvené. Při přípravě výluhu dokonce materiál působil velmi nesmáčivě, což nelze říci o vzorku BC. Výluh vzorku BC byl velmi silně zabarvený a byl cítit popelem. Dále i dle měření konduktivity bylo patrné, že došlo k velmi nízkému přestupu iontů a látek ze vzorků BA a BB do vodného výluhu, což bylo následně potvrzeno i výsledky toxikologického testování.

Je však možné, že výsledky pro vzorky BA a BB jsou zkreslené, protože kvůli nedostatku vzorku nebylo možné připravit výluh podle standardní metodiky ze 100 g sušiny vzorku. Od každého vzorku jsme získali celkové množství 15 g, výluhy proto byly připravené zředěné. Výluhy BA a BB tedy byly téměř 7x zředěné oproti výluhům BC a SG. Pro srovnatelnost zobrazuje Graf 32. porovnání korigovaných výsledků. Protože v případě vzorků BA a BB nebyl pozorován žádný negativní efekt, byly výsledné hodnoty vzorků BC a SG navýšeny v poměru 20:3, tedy toxický účinek vzorků byl téměř 7x snížen.



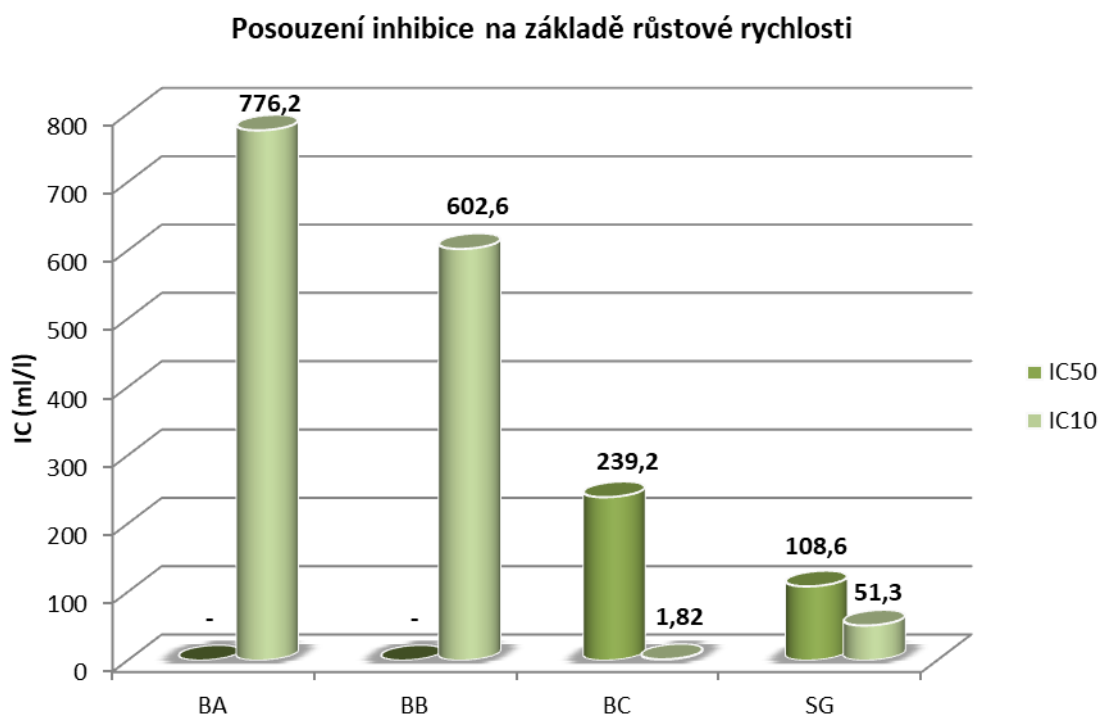
Graf 32. Porovnání korigovaných hodnot IC<sub>50</sub> jednotlivých vzorků pro organismus *S. alba* po 72 hodinové expozici – snížení toxicity vzorků BC a SG v poměru 20:3.

### 5.3.2 Test inhibice růstu okřehku menšího *L. minor*

Z hlediska posuzování inhibice délky kořene se pro rostlinu *L. minor* jako nejvíce toxický projevilo výluh vysušeného kalu, vzorek SG, pro který byla stanovena hodnota IC<sub>50</sub> 108,6 ml/l (viz Graf 33). Míry inhibice růstu 50 % bylo dosaženo i při testování vzorku BC, pro který byla vypočtena hodnota IC<sub>50</sub> 239,2 ml/l. U vzorků BA a BB nebylo 50% efektu dosaženo.

Z toho důvodu byla pro všechny vzorky vypočtena i hodnota IC<sub>10</sub>, tedy koncentrace, při které je pozorovatelná 10% inhibice růstu. Podle hodnot IC<sub>10</sub> se jako nejvíce toxický projevilo naopak vzorek BC, pro který byla tato hodnota stanovena na 1,82 ml/l. Podle IC<sub>50</sub> roste toxicita vzorků v řadě BA = BB < BC < SG. Dle IC<sub>10</sub> však roste v řadě BA = BB < SG < BC.



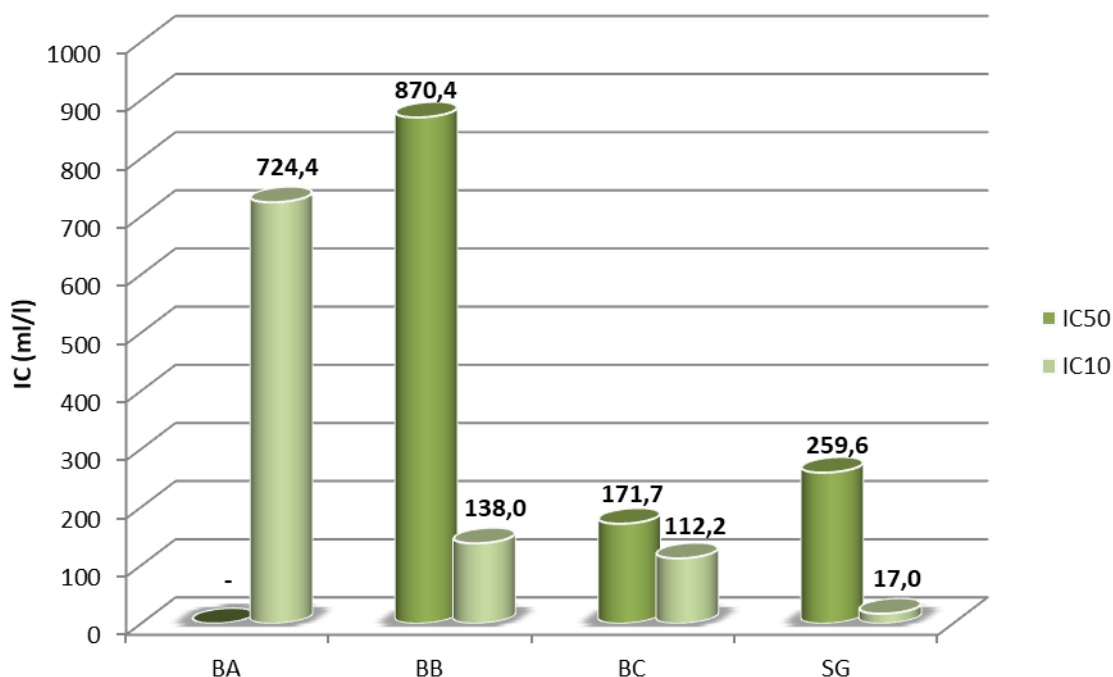


*Graf 33. Porovnání výsledných hodnot IC50 a IC10, vypočtených na základě růstové rychlosti, jednotlivých vzorků pro organismus *L. minor* po 168 hodinové expozici.*

Z hlediska posuzování hmotnosti sušiny biomasy se jako nejvíce toxický projevil výluh biocharu z vysušeného čistírenského kalu, vzorek BC, pro který byla vypočtena hodnota IC50 171,7 ml/l (viz Graf 34). Míra inhibice 50 % byla dále pozorována u vzorků SG a BB. U vzorku BA nebylo dosaženo 50% sledovaného efektu.

Z toho důvodu byla pro všechny vzorky vypočtena i hodnota IC10, tj. koncentrace, při které je pozorovatelná 10% inhibice růstu. Podle hodnot IC10 se naopak jako nejvíce toxický projevil vzorek SG, pro který byla tato hodnota stanovena na 17,0 ml/l. Podle IC50 roste toxicita vzorků v řadě BA < BB < SG < BC. Podle IC10 však roste v řadě BA < BB < BC < SG.

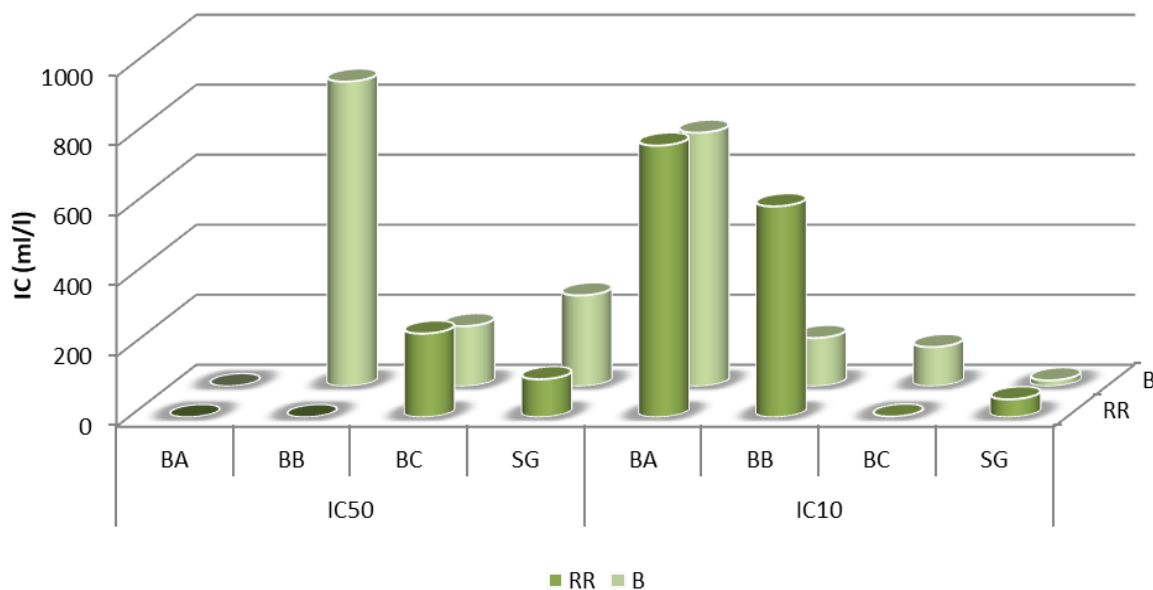
### Posouzení inhibice na základě sušiny biomasy



Graf 34. Porovnání výsledných hodnot IC50 a IC10, vypočtených na základě posouzení množství suché biomasy, jednotlivých vzorků pro organismus *L. minor* po 168 hodinové expozici.

Výsledné hodnoty IC50 vypočtené na základě hodnocení různých endpointů se povětšinou liší. Pouze u vzorku BA nebyla ani z jednoho hlediska vyhodnocena 50% inhibice růstu. U vzorku BB nebyla hodnota IC50 stanovena pouze při posuzování z hlediska růstové rychlosti. U vzorků BC a SG bylo možné stanovit hodnotu IC50 z obou hledisek, přičemž obě hodnoty se od sebe mírně liší v řádu stovek.

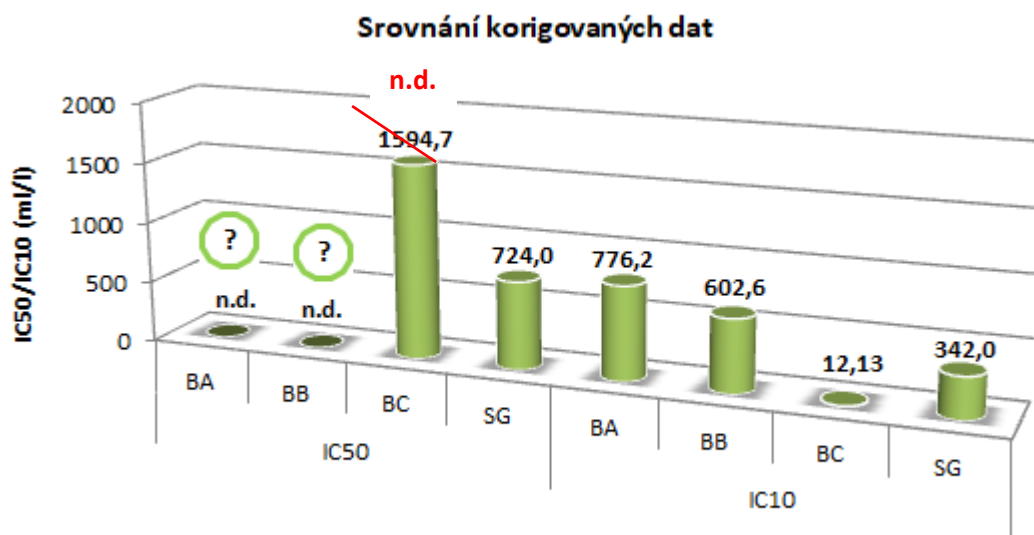
Výsledné hodnoty IC10 vypočtené na základě hodnocení různých endpointů se velmi liší u vzorku BB, BC a SG. Pouze u vzorku BA vychází výsledky u obou endpointů obdobně. V ostatních případech se diametrálně liší. Souhrnné výsledky graficky znázorňuje Graf 35.



Graf 35. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků pro organismus *L. minor*, kde RR je hledisko růstové rychlosti a B je hledisko sušiny biomasy.

Výrazné rozdíly mezi výsledky vyhodnocenými na základě hodnocení různých endpointů vypovídají o nepřesnosti stanovení jednoho z nich. Logicky by mělo být přesnější stanovení sušiny biomasy. Ovšem zde vstupuje tolik proměnných parametrů, že se toto stanovení stává mnohem nepřesnějším a méně vypovídajícím, než hodnocení růstové rychlosti. Při stanovení sušiny biomasy není přihlíženo k zvláštní konzistenci biologické matrice, kterou tvoří chlorotické listy z vysokých koncentrací vzorku. Tak, i když jsou patrné listy, které vyrostly a následně podlely chloróze, při stanovení sušiny v podstatě téměř vymizí a jejich hmotnost je nepatrná. Dalším rizikem při tomto stanovení je vliv lidského faktoru při manipulaci se vzorkem. Lépe vypovídající se ze zkušenosti jeví hodnocení na základě posouzení růstové rychlosti.

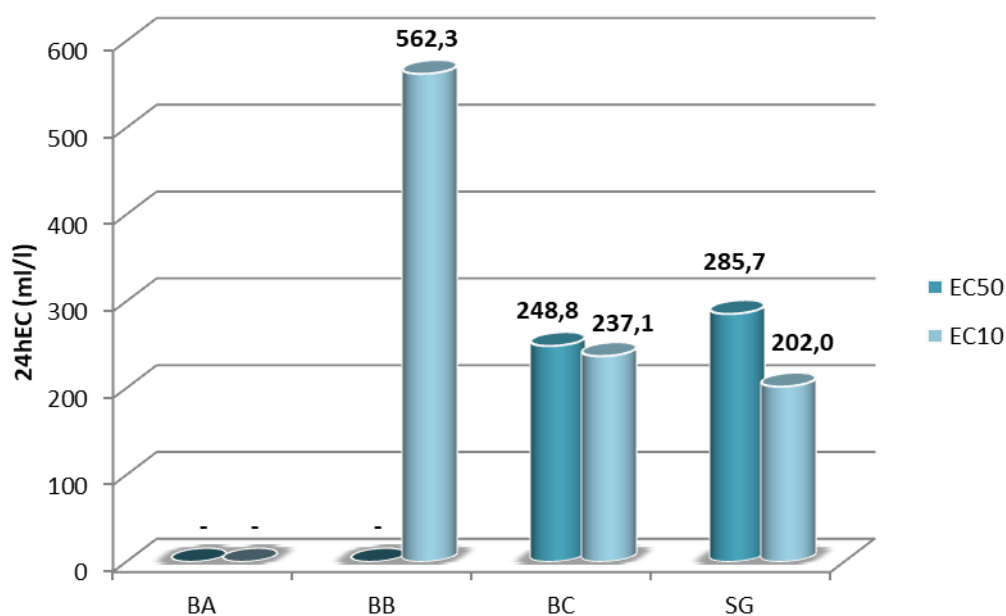
I v případě tohoto testu jsou v podstatě výsledky pro vzorky BA a BB zkreslené, a to z důvodu nedostatku vzorku pro přípravu výluhu dle standardní metodiky ze 100 g sušiny vzorku. Pro srovnatelnost zobrazuje Graf 36. porovnání korigovaných výsledků vyhodnocených z hlediska růstové rychlosti. Protože v případě vzorků BA a BB nebyl pozorován 50% inhibiční účinek, byly výsledné hodnoty vzorků BC a SG navýšeny v poměru 20:3, proto byl toxický účinek vzorků téměř 7x snížen.



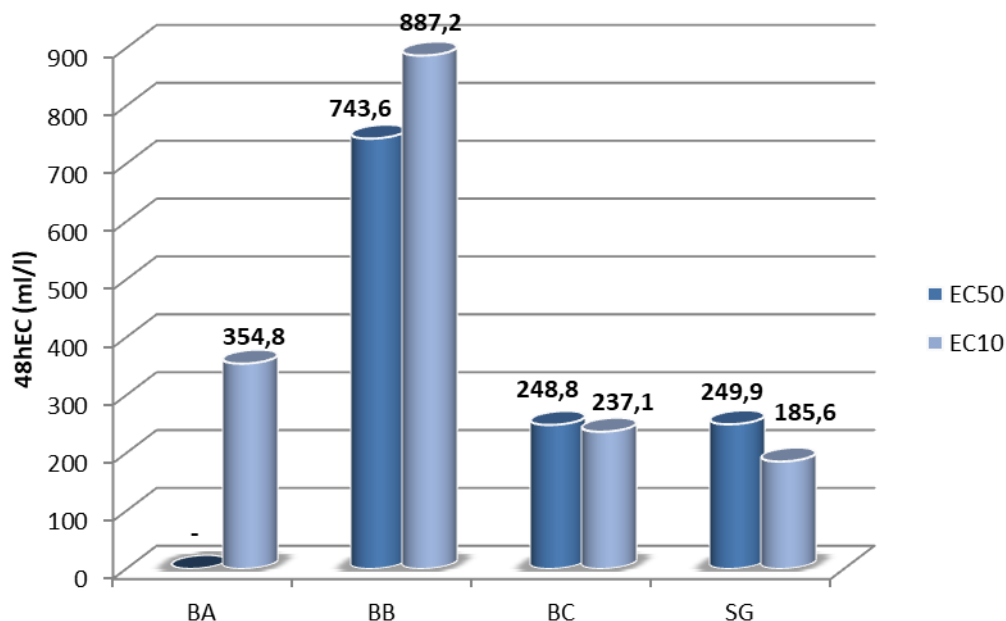
Graf 36. Porovnání korigovaných hodnot IC50 a IC10, vypočtených na základě posouzení hmotnosti sušiny biomasy, jednotlivých vzorků pro organismus *L. minor* po 168 hodinové expozici - snížení toxicity vzorků BC a SG v poměru 20:3.

### 5.3.3 Daphtoxkit F<sup>TM</sup>

Z výluhů připravených z jednotlivých vzorků se jako nejtoxičtější pro organismus *D. magna* projevil vzorek vysušeného kalu SG, pro který byla vypočtena hodnota EC50 po 24 a 48 hodinové expozici 285,7 ml/l, resp. 202,0 ml/l (viz Graf 37 a 38). Obdobnou toxicitu vykazuje biochar vyrobený z vysušeného kalu, vzorek BC, pro který byla hodnota EC50 po 24 a 48 hodinové expozici stanovena na 248,8 ml/l, resp. 237,1 ml/l. Jako nejméně toxický se projevil vzorek biocharu BA, u kterého nebylo možné po 24 hodinové expozici vypočítat ani hodnotu EC10. Rostoucí toxicita byla pozorována v řadě BA < BB < BC < SG.

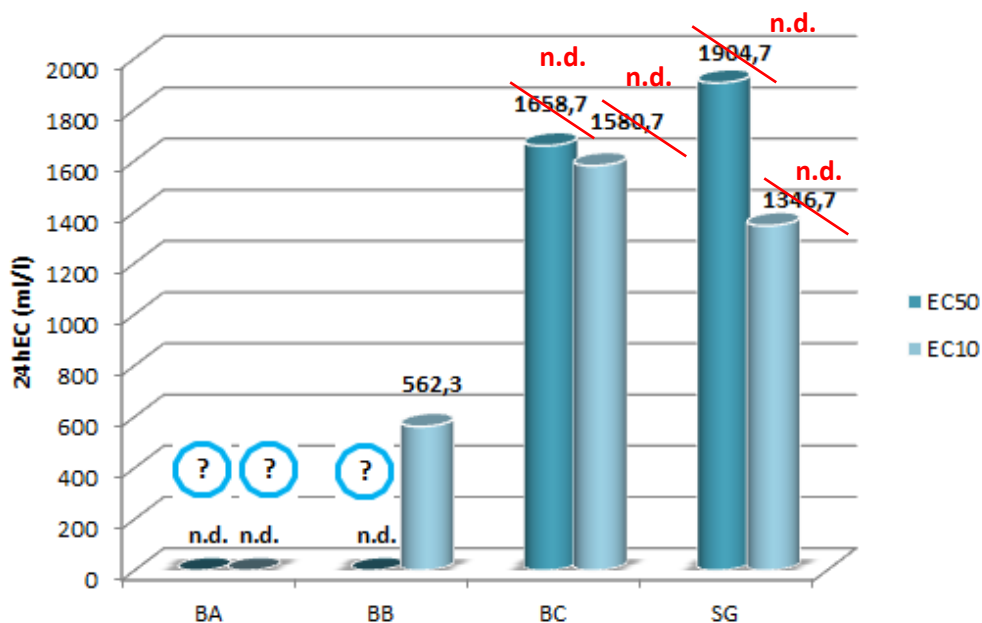


Graf 37. Porovnání výsledných hodnot EC50 a EC10 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 24 hodinové expozici.

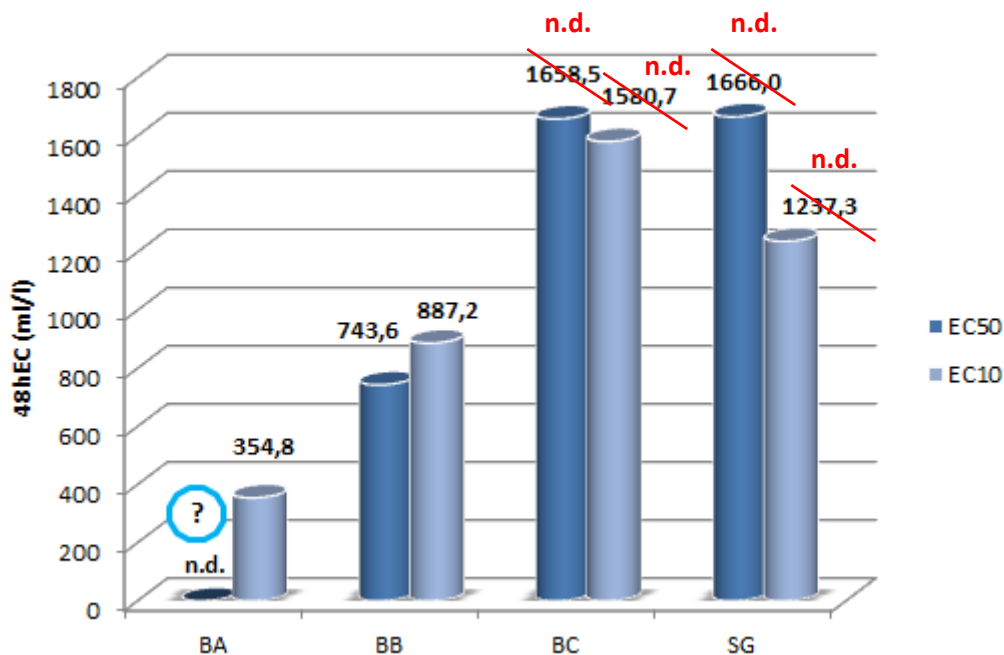


Graf 38. Porovnání výsledných hodnot EC50 a EC10 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 48 hodinové expozici.

Výsledky testování toxicity vzorků pro organismus *D. magna* vykazují stejný trend jako výsledky pro rostliny *S. alba* a *L. minor*. Vzorek BA je téměř netoxický a vzorek BB vykazuje velmi slabou toxicitu a naopak vzorky BC a SG, které pocházejí z čistírenského přebytečného kalu, jsou velmi toxické. Zde hraje opět roli zkreslení výsledků v důsledku nedostatku vzorku. Pro srovnatelnost zobrazuje Graf 39 a 40 porovnání korigovaných výsledků. Protože v některých případech nebyl u vzorků BA a BB pozorován 50% inhibiční účinek, byly výsledné hodnoty vzorků BC a SG navýšeny v poměru 20:3, proto byl toxický účinek vzorků téměř 7x snížen.



Graf 39. Porovnání korigovaných hodnot EC50 a EC10 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 24 hodinové expozici - snížení toxicity vzorků BC a SG v poměru 20:3.



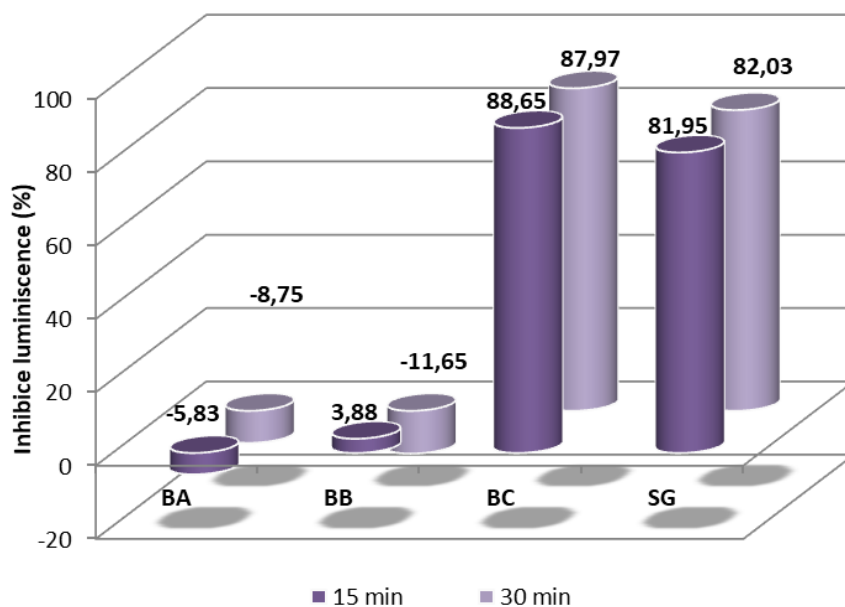
Graf 40. Porovnání korigovaných hodnot EC50 a EC10 jednotlivých vzorků pro organismus *D. magna* po 48 hodinové expozici - snížení toxicity vzorků BC a SG v poměru 20:3.

#### 5.3.4 Bakteriální bioluminiscenční test toxicity

Z výluhů jednotlivých vzorků biocharu se jako nejtoxičtější pro organismus *V. fischeri* projevil vzorek BC, pro který byla naměřena hodnota inhibice luminiscence po 15 a 30 minutové expozici 88,65 %, resp. 87,97 % (viz Graf 41). Jako nejméně toxický v řadě se potom projevil vzorek BA, u kterého byla naopak pozorována stimulace luminiscence, a to po 15 expozice o 5,83 % a po a 30 minutách expozice o 8,75 %. U výluhů jednotlivých vzorků biocharu byla rostoucí toxicita po 15 minutách expozice pozorována v řadě BA < BB < SG < BC. Po 30 minutách expozice se pořadí vzorků nepatrně mění a rostoucí toxicita je pozorována v řadě BB < BA < SG < BC.

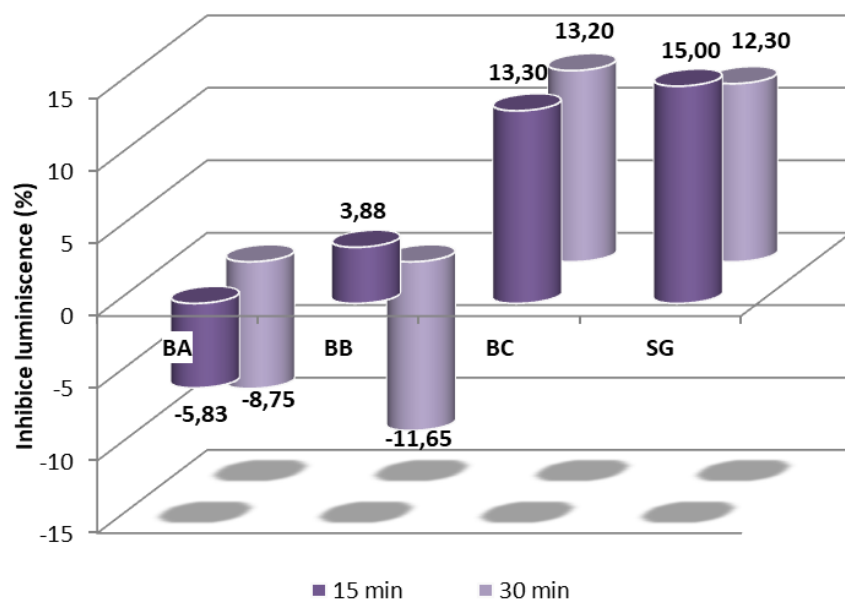
U vzorků BA a BB byla na místo inhibice luminiscence pozorován opačný jev, a to stimulace. Bakterie po expozici danému vzorku proto emitovaly více světelného záření, než bakterie neexponované.

S výjimkou vzorku SG opět došlo k nepatrnému poklesu inhibičního účinku po dalších 15 minutách expozice. Tento jev může být zapříčiněn schopností bakterií se do jisté míry adaptovat na dané prostředí. Otázkou zůstává, jak by bakterie reagovaly po delší době expozice.



Graf 41. Souhrnné grafické znázornění všech výsledků inhibice luminiscence organismu *V. fischeri*.

Zkreslení výsledků v důsledku nedostatku vzorku se projevuje ve výsledcích všech testů. I v případě testu s bakteriemi *V. fischeri* zobrazuje Graf 42. porovnání korigovaných výsledků. Protože v některých případech nebyl u vzorků BA a BB pozorován 50% inhibiční účinek, byly výsledné hodnoty vzorků BC a SG navýšeny v poměru 20:3; toxický účinek vzorků byl téměř 7x snížen.



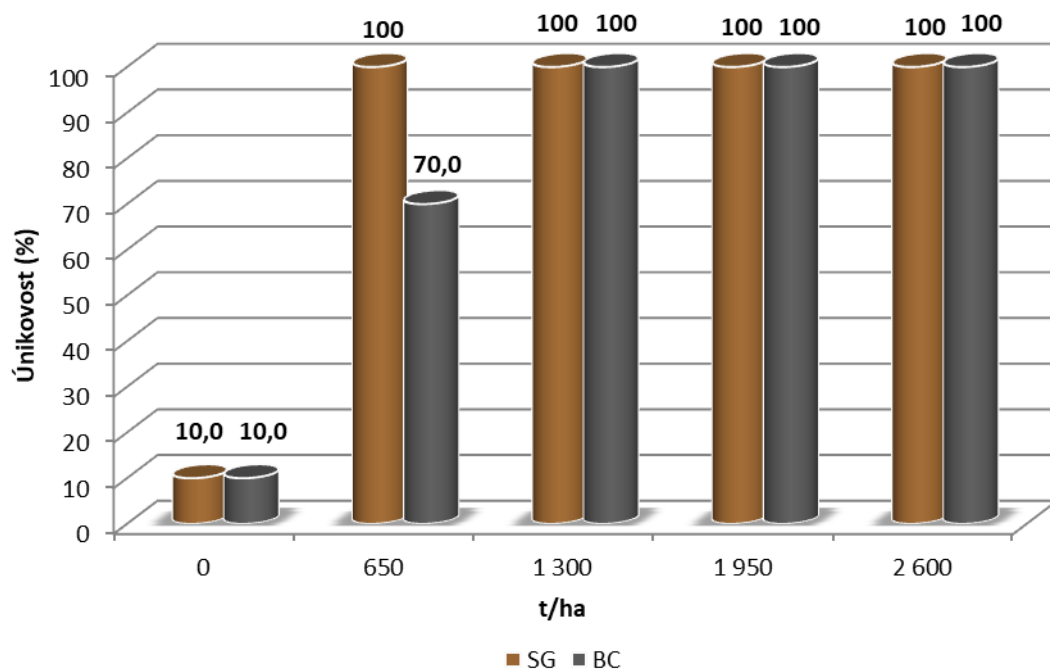
Graf 42. Grafické znázornění korigovaných výsledků inhibice luminiscence organismu *V. fischeri* - snížení toxicity vzorků BC a SG v poměru 20:3.

Při pohledu na výsledné porovnání s korekcemi (viz Graf 42) je otázkou, jak by výsledky reálně vypadaly, pokud bychom měli k dispozici dostatek vzorku. Zde vzniká velmi mnoho prostoru k dalšímu výzkumu, který by dokázal vypovědět o tom, zda je opravdu více zátěžový biochar vyrobený z čistírenského přebytečného kalu, než biochar vyrobený z dřevní biomasy, resp. ostatní biomasy. Pro některé organismy se dle korigovaných výsledků projevuje jako více zátěžový biochar z čistírenského kalu, zatímco pro jiné je více stresující biochar z dřevní biomasy. Korigované hodnoty jsou v podstatě odhadem, protože není jasné, zda je závislost lineární, či nikoliv. Obecně jsou závislosti v toxikologii sigmoidní, tedy nelineární.

### 5.3.5 Test únikového chování žížal

Z důvodu nedostatku vzorků BA a BB byl pomocí tohoto screeningového testu orientačně ověřován potenciální negativní vliv na zástupce organismů půdního prostředí pouze u vzorků BC a SG.

Pro organismus *E. fetida* se jako více rizikový projevil vysušený kal, vzorek SG, u kterého byla pozorována 100% únikovost už při dávce 650 t/ha, což odpovídá koncentraci 250 g/kg. U vzorku BC byla 100% únikovost pozorována při dávce 1 300 t/ha, což odpovídá koncentraci 500 g/kg (viz Graf 43). Nicméně testované dávky v rámci screeningového testu jsou vyšší, než dávky aplikované do půdy v jiných výzkumech. Dle dostupné literatury byly do půdy aplikovány dávky deseti až stonásobně menší (Liesch et al., 2010; Sohi et al., 2010).



Graf 43. Porovnání výsledných hodnot únikovosti A pro vzorky SG a BC.

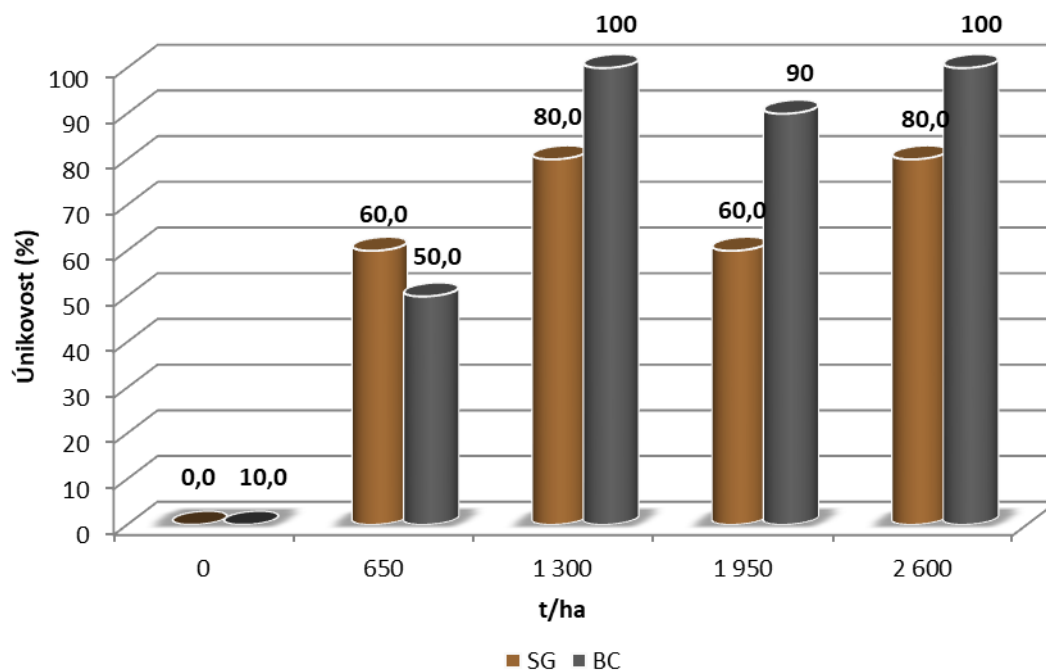
Výsledky testování vlivů daných vzorků pro organismus *E. fetida* vykazují obdobný trend jako výsledky ostatních testů. Vzorek vysušeného čistírenského kalu před termickou úpravou je více toxický pro organismy přírodních ekosystémů, než vzorek téhož materiálu po termické přeměně, vzniklý biochar.



### 5.3.6 Test únikového chování chvostokoků

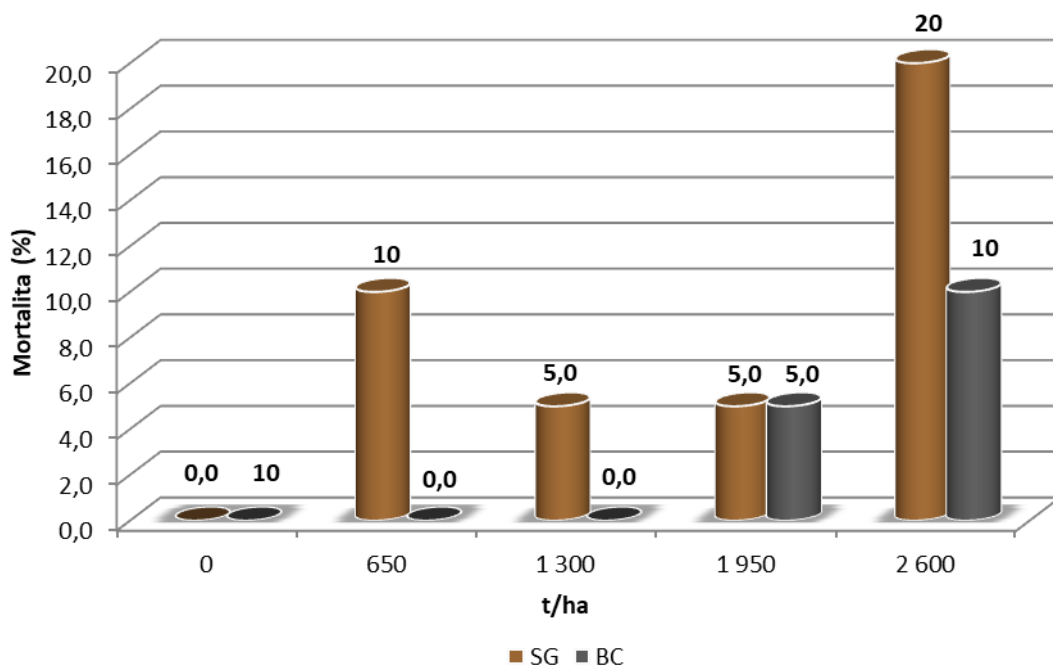
Z důvodu nedostatku vzorků BA a BB byl pomocí tohoto screeningového testu orientačně ověřován potenciální negativní vliv na dalšího zástupce organismů půdního prostředí opět pouze u vzorků BC a SG.

Pro organismus *F. candida* se jako více rizikový projevil výstupní biochar, vzorek BC, u kterého byla pozorována 100% únikovost už při dávce 1 300 t/ha, což odpovídá koncentraci 500 g/kg. U vzorku SG byla pozorována nejvyšší únikovost 80 %, a to při dávce 1 300 t/ha, což odpovídá koncentraci 500 g/kg; 100% únikovost nebyla u tohoto vzorku pozorována (viz Graf 44).



Graf 44. Porovnání výsledných hodnot únikovosti A organismu *F. candida* pro vzorky SG a BC.

Nicméně u vzorku SG bylo nalezeno více uhynulých jedinců, než u vzorku BC. Počet uhynulých a rozložených jedinců potom ovlivňuje výsledky testování. Byť se zdá míra únikovosti nižší, mortalita organismů v testovaných koncentracích je vyšší. Mortalitu organismů v jednotlivých nasazeních znázorňuje Graf 45.



Graf 45. Porovnání výsledných hodnot mortality *M* organismu *F. candida* pro vzorky SG a BC.

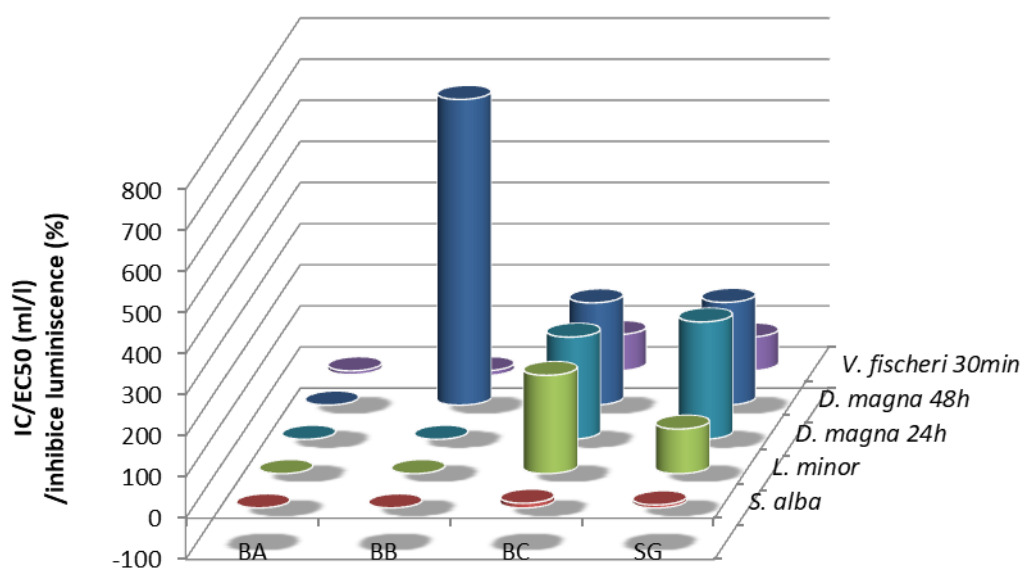
Výsledky testování vlivů daných vzorků pro organismus *F. candida* vykazují obdobný trend jako výsledky ostatních testů. Vzorek vysušeného čistírenského kalu před termickou úpravou je ve své podstatě více toxický pro organismy přírodních ekosystémů, než vzorek téhož materiálu po termické přeměně, vzniklý biochar.

### 5.3.7 Shrnutí

Nejvyšší citlivost opět vykazují bakterie *V. fischeri*. Zástupci vodních organismů perloočky *D. magna* a okřehek *L. minor* vykazují citlivost nižší, než bakterie. V případě testování vodních výluhů biocharů vykazuje půdní rostlina *S. alba* vysokou citlivost analogicky s testy odpadních vod.

Pokud při celkovém porovnání nepřihlédneme k možnému zkreslení výsledků v důsledku jiného ředění při přípravě výluhů vzorků BA a BB, mohlo by se zdát, že nejvíce zátěžové pro organismy přírodních ekosystémů jsou vzorky vysušeného přebytečného kalu (SG) a produktu jeho termického zpracování (BC). Takový přístup ale není objektivní a neposkytuje reprezentativní výstupy. Tento přístup graficky znázorňuje Graf 46.

### Shrnutí výsledků

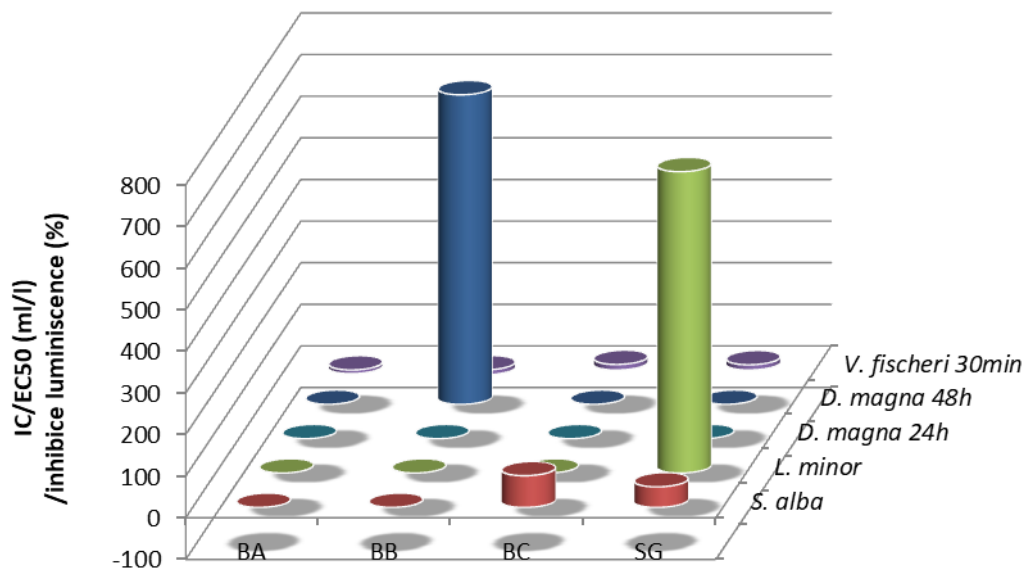


Graf 46. Celkové shrnutí výsledků testování vodných výluhů vzorků biocharu.

Pro objektivní posouzení nebezpečnosti pro testovací organismy je nutné zahrnout korigované hodnoty, které berou v úvahu různé poměry ředění při přípravě výluhů vzorků biocharu z dřevní štěpky a vzorků kalu a biocharu z komunální ČOV. Tento přístup graficky znázorňuje Graf 47.

Toto zcela mění situaci. U bakterií *V. fischeri* najednou není pozorována tak vysoká inhibice luminiscence, jako v případě neuvážení faktoru ředění. Stejně tak je tomu u hrotnatek *D. magna* a u okřehku menšího *L. minor*. Lze proto říci, že pro bakterie, vodní korýše a vodní rostlinu nejsou tyto vzorky toxické a nepředstavují pro ně nijak významné riziko. Pouze u semen terestrické rostliny *S. alba* by pozorován 50% sledovaný efekt při relativně nízkých koncentracích pod 100 ml/l. Analogicky podle klasifikace dle Knighta (viz Příloha 1) jsou však takové látky řazené mezi látky mírně toxické vodním organismům (Knight and Thomas, 2003).

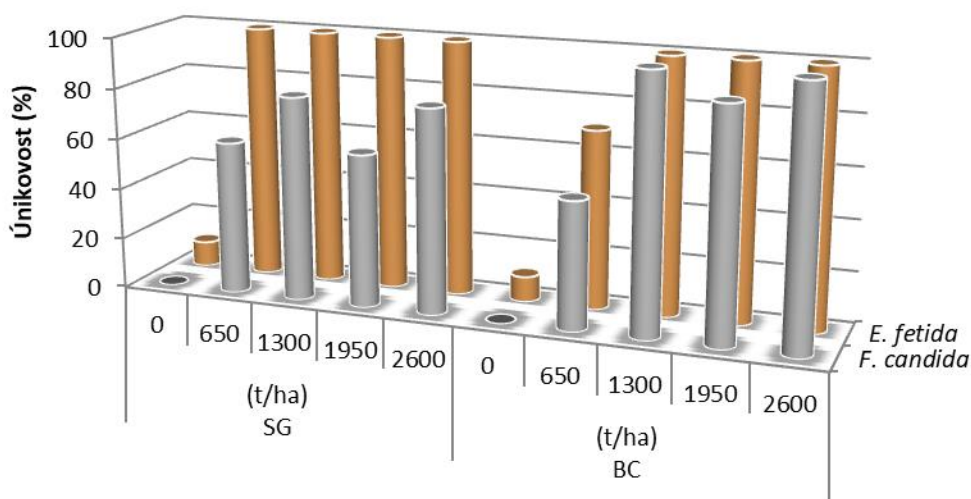
### Shrnutí korigovaných výsledků



Graf 47. Celkové shrnutí výsledků testování vodných výluhů vzorků biocharu se zahrnutím korigovaných výsledků pro vzorky BC a SG.

Vzorky vysušeného kalu SG a produktu jeho termické přeměny BC byly dále testovány kontaktně s využitím dvou různých testovacích organismů, chvostoskoka *F. candida* a žížaly *E. fetida*. Ze vzájemného porovnání výsledků těchto testů (viz Graf 48) je patrná vyšší citlivost žížal oproti chvostoskokům. O jejich vyšší citlivosti vypovídá vyšší míra únikovosti.

### Porovnání únikových testů

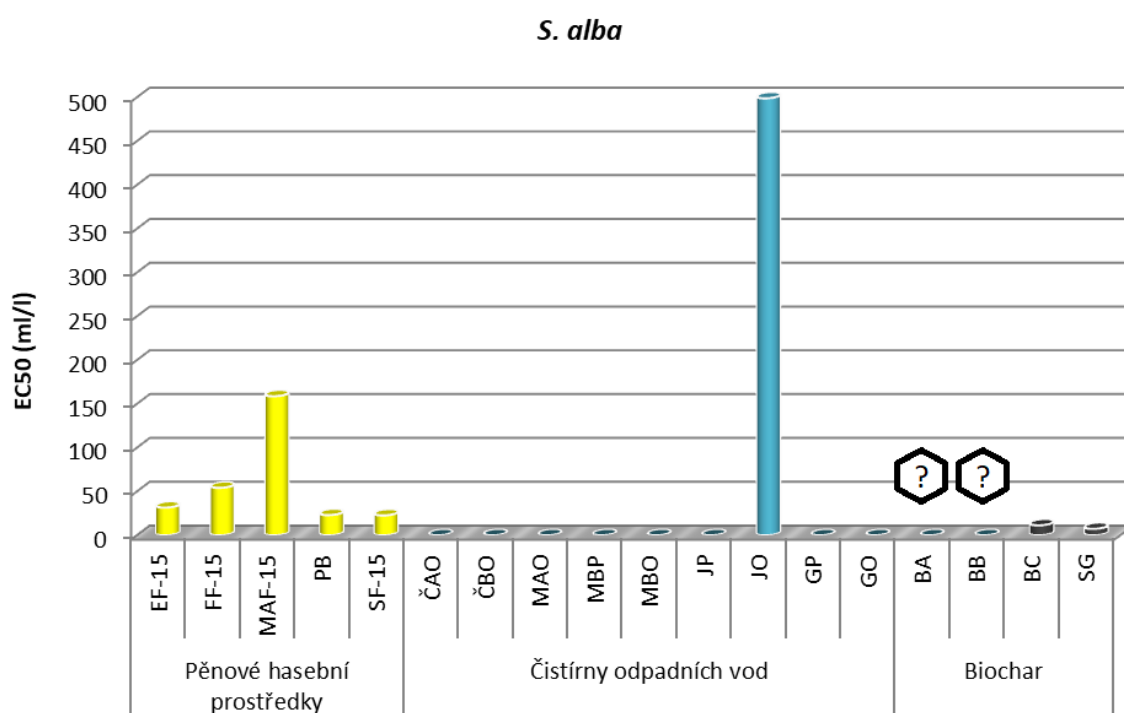


Graf 48. Celkové shrnutí výsledků kontaktního testování vzorků BC a SG.

Zajímavé je, že podle výsledků testu se žížalami se jako více rizikový jeví vzorek SG, zatímco podle výsledků testu s chvostoskoky je tomu přesně naopak. To je zapříčiněno druhem testovacího organismu. U chvostoskoka dochází pouze k dermální expozici. Žížala v půdě jednak žije a jednak při svém pohybu půdním ložem půdu požírá, čímž se podílí na její bonitě. U žížaly tak dochází k dermální i orální expozici. Z toho důvodu bude žížala citlivější vůči testovaným látkám.

#### 5.4 Celkové srovnání vybraných bodových zdrojů znečištění

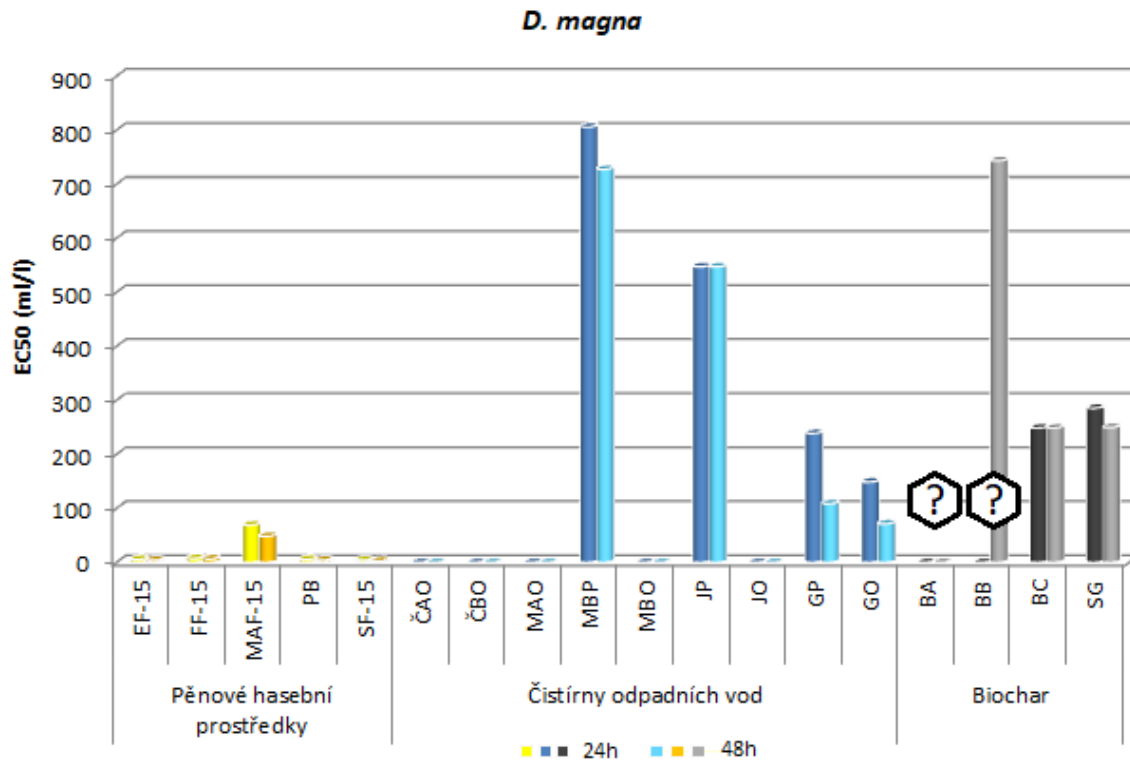
Celkově lze toxicitu jednotlivých bodových zdrojů znečištění porovnat na základě výsledků testů, které byly využity pro testování všech vzorků. Negativní účinky jednotlivých skupin vzorků lze vzájemně hodnotit pro organismus *S. alba*, *D. magna* a *V. fischeri*. Finálně tak lze posoudit míru nebezpečnosti pro organismy všech trofických úrovní, a to producenty, konzumenty a destruenty.



Graf 49. Celkové porovnání výsledných hodnot EC50 pro organismus *S. alba* po 168 hodinové expozici.

Pro organismus *S. alba* se jako nejvíce toxické prokázaly vzorky vysušeného čistírenského kalu SG a produktu jeho termického zpracování BC (viz Graf 49). Obdobnou, avšak mírně nižší, toxicitu vykazují pěnové hasební prostředky. Naopak odpadní vody na vstupu do vybraných ČOV a vody na jejich výstupu nevykazují žádné, anebo nijak významné, toxické účinky pro vybraný rostlinný organismus. Při porovnávání jednotlivých bodových zdrojů znečištění mezi sebou nelze zahrnout korigované hodnoty výsledků pro vzorky BC a SG. Výsledky jejich testování byly ideově korigovány tak, aby byly vzorky biocharu porovnatelné mezi sebou. V případě celkového porovnání všech vzorků tak zvláštní skupinu tvoří vzorky BA a BB, u nichž byly v důsledku nedostatečného množství připraveny zředěné výluhy. Tyto zředěné výluhy nevykazují žádný toxický účinek. Je však otázkou, zda budou stejné chování vykazovat výluhy adekvátní.

Analogicky dle klasifikace chemikálií podle nebezpečnosti pro životní prostředí (Knight and Thomas, 2003) lze z hlediska působení na organismus *S. alba* vzorky SG a BC klasifikovat jako vysoce toxické až toxické, vzorky hasebních prostředků jako mírně toxické a vzorky odpadních vod jako relativně netoxické, resp. netoxické. Klasifikace dle Knighta je určena pro vodní organismy. Zde je tato klasifikace použita pouze pro přirovnání a pro představu, co je ještě netoxické a co už je příliš toxické.



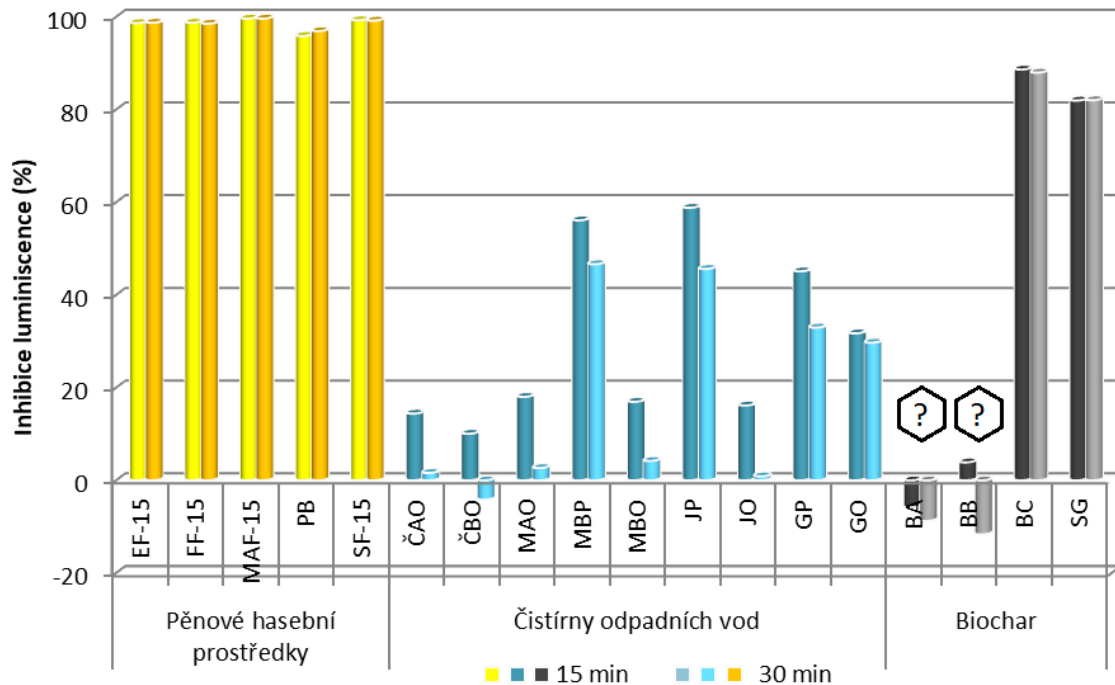
Graf 50. Celkové porovnání výsledných hodnot EC50 pro organismus *D. magna* po 24 a 48 hodinové expozici.

Pro organismus *D. magna* Straus se jako nejvíce toxické projeví hasební prostředky (viz Graf 50). Několikanásobně nižší toxický účinek vykazují výluhy vzorků SG, BC a BB. Vzorek BA nezpůsobuje žádný negativní efekt. Zde je ovšem třeba mít na zřeteli poměr ředění při přípravě výluhu. Opět není jisté, že 100% výluhy vzorků BA a BB budou mít stejný vliv na organismy jako ty zředěné. Jako nejméně toxické se projeví opět vzorky odpadních vod, s výjimkou vzorků GP a GO, které jsou mírou toxicity podobné výluhům vzorků biocharu.

Z Grafu 49 a 50 je patrné, že perloočky vykazují vyšší citlivost než rostlinný organismus *S. alba*. Je to znát i na změně pořadí jednotlivých zdrojů znečištění podle klesajícího toxického účinku. Ovšem není to pravidlo. Zatímco v případě hasebních prostředků a odpadních vod jsou perloočky citlivější než semínka hořčice bílé, v případě biocharu je tomu přesně naopak. To může být způsobeno nejen druhem testovacího organismu, ale i charakterem vzorku. Pro různé organismy mohou být biodostupné různé složky vzorků.

Na základě klasifikace dle Knighta lze vzorky EF-15, FF-15, PB a SF-15 klasifikovat jako toxické vodním organismům, vzorek MAF-15 je potom mírně toxický vodním organismům. Moussol-APS F-15 vychází v dlouhodobém testování jako nejméně toxický z této řady hasebních prostředků, což potvrzují i výsledky starších prací. Z odpadních vod lze vzorek GO

klasifikovat jako jediný mírně toxický vodním organismům. Vzorky MBP, JP a GP spadají do kategorie relativně netoxický vodním organismům. U zbývajících odpadních vod nebyl pozorován žádný negativní efekt a jsou tedy netoxické. Všechny vzorky biocharu lze klasifikovat jako relativně netoxické, resp. netoxické vodním organismům.



Graf 51. Celkové porovnání výsledných hodnot inhibice luminiscence pro organismus *V. fischeri* po 15 a 30 minutové expozici.

Pro organismus *V. fischeri* se také jako nejvíce toxické projevíly hasební prostředky, u kterých byl pozorován téměř 100% inhibiční efekt na testovací organismus (viz Graf 51). Výrazně toxické jsou i výluhy vysušeného přebytečného kalu (SG) a produktu jeho termického spalování (BC). Naopak výluhy různých forem biocharu z dřevní štěpky způsobují stimulaci luminiscence. Zde je ovšem nutné brát v úvahu větší ředění při přípravě vzorku, způsobené jeho nedostatkem. Vzorky odpadních vod vykazují mírnou až téměř žádnou toxicitu, u vzorku vyčištěné vody na odtoku ČOV B byla dokonce pozorována stimulace luminiscence. Nejvyšší inhibici způsobují průmyslové odpadní vody, přičemž nepřesahují 60% sledovaný efekt.

Jako nejvíce rizikové pro organismy různých trofických úrovní přírodních ekosystémů byly jednoznačně prokázány pěnové hasební prostředky. Jako rizikové byly dále prokázány výluhy vysušeného přebytečného kalu a produktu jeho termické přeměny. Výsledky testování výluhů dvou modifikací biocharu z dřevní štěpky jsou sporné. Zde vzniká velký prostor pro bližší hodnocení vlivů těchto produktů na přírodní ekosystémy. Nízké riziko bylo prokázáno u průmyslových odpadních vod. Vyčištěné vody na odtoku z ČOV nepředstavují žádné významné riziko pro přírodní ekosystémy.

## 6 ZÁVĚR

Cílem předložené dizertační práce je posouzení možných toxických vlivů vybraných bodových zdrojů znečištění na přírodní ekosystémy prostřednictvím vhodně zvolené baterie ekotoxikologických testů. Za tímto účelem byli vybráni zástupci tří významných bodových zdrojů znečištění, a to plošně používané pěnové hasební prostředky, čistírny odpadních vod a vedlejší produkt čistírenského procesu, přebytečný kal a produkt jeho termické přeměny, tzv. biochar.

Různým pěnovým hasebním prostředkům byla věnována nejedna diplomová práce (viz Konečná, 2012 a Doležalová, 2013). V předložené práci bylo na jejich ekotoxikologické hodnocení navázáno. Pouze pro doplnění dat byl posuzován již samotný vliv půdního sorpčního komplexu na změnu toxického účinku. Za tímto účelem byly hodnoceny filtráty hasebních prostředků zachycené po aplikaci a následné infiltraci do dvou různých půdních matric v porovnání s původními pracovními roztoky hasebních prostředků.

Pro posouzení vlivu půdního sorpčního komplexu byly v rámci práce použity dva typy standardní půdní matrice, Lufa 2.2 a Lufa 2.3. Základním předpokladem bylo, že toxický účinek filtrátů, zachycených po infiltraci a následném nasycení půdní matrice, bude výrazně nižší, než toxicita pracovních roztoků. Mezi samotnými filtráty nebyly pozorovány nijak významné rozdíly, proto bylo v práci dále pracováno pouze s filtrátem z půdy Lufa 2.3. Jak vyplývá z výsledků, rozdíly mezi toxickými účinky nejsou nijak významné a tak výchozí předpoklad nebyl naplněn. To může být zapříčiněno krátkou dobou zdržení v půdní matrici. U vzorků, u kterých byl průnik půdní matricí delší, je patrný větší pokles toxicity u zachyceného filtrátu. Půdní sorpční komplex tedy má jistý vliv na změnu toxického účinku, nicméně to, jak výrazný vliv bude, je ovlivněno mnoha dalšími faktory (teplotou, dobou zdržení, klimatickými podmínkami, atd.). Je nutné si uvědomit, že k poklesu toxicity vodného roztoku dochází na úkor kvality půdní matrice, která se stává toxickou. Stejně jako v minulých výzkumech byly z hasebních prostředků nejtoxictější prostředky Expyrol F-15 a Sthamex F-15. Nejméně toxickým zůstává Moussol-APS F-15.

Jako další významný bodový zdroj potenciálního znečištění byly z ekotoxikologického hlediska posuzovány čistírny odpadních vod, průmyslové i komunální. Pro hodnocení byly vybrány dvě menší komunální ČOV (kapacitně do 150 EO) a čtyři průmyslové. Z průmyslových ČOV byla vybrána ČOV jatek, mlékárny a galvanovny.

U komunálních ČOV byly testovány pouze vody z odtoku. Zde bylo předpokladem, že průmyslové odpadní vody budou výrazně toxičtější, než vyčištěné vody na odtoku. Tento předpoklad byl potvrzen. Toxicita průmyslových odpadních vod na konci čistícího procesu klesla až několikanásobně. Nejmenší pokles byl pozorován u odpadních vod z galvanovny. To je pravděpodobně způsobeno vyšším obsahem těžkých kovů a neemulgovatelných extrahovatelných látek. Rovněž se na tom podílí chemismus čištění, který je přizpůsobený způsobu a podmínkám vypouštění chemicky předčištěných odpadních vod v dané lokalitě. Odpadní vody z tohoto provozu jsou pouze chemicky předčištěny a jsou vypouštěny do místní kanalizace k dočištění na velké městské ČOV (kapacitně cca 200 000 EO).

Odpadní vody z potravinářského průmyslu vykazují menší toxické účinky, než ty z galvanovny. To je ovlivněno biologickým původem odpadních vod. Toxicita potravinářských odpadních vod bude spíše než chemickými látkami způsobena příliš vysokými koncentracemi nutrientů, které už jsou pro organismy spíše zatěžující. V případě odpadních vod z jatek jsou nejvíce problematické tuky a oleje (ukazatel EL) a soli (ukazatel



RAS). Dále se v nich vyskytuje i vyšší koncentrace celkového dusíku a fosforu, nicméně v takové míře, která by pro rostlinné organismy byla spíše stimulační, nežli toxická. V případě odpadních vod z mlékárny je největším problémem vysoký obsah syrovátky, která je bohatá na rozpuštěné cukry, těžko odstranitelné i v biologické ČOV. I v těchto vodách se vyskytuje vysoký obsah EL a RAS. Takové vody velmi rychle kysnou a mění tak svoje pH, které přímo ovlivňuje organismy přírodních ekosystémů i samotné aktivace ČOV. Přes to všechno jsou odpadní vody z mlékárenského průmyslu v případě havárie stále méně zátěžové pro organismy přírodních ekosystémů, než odpadní vody z galvanovny.

Posledním posuzovaným bodovým zdrojem znečištění je tzv. biouhlík. Při čištění odpadních vod v závislosti na způsobu čištění neodvratně vzniká odpad ve formě chemického a přebytečného biologického kalu. Zatímco chemický kal je nutné likvidovat jako nebezpečný odpad, o nakládání s biologickým kalem se vedou stále spory a nikdo z odborníků nedokáže zcela říct, který ze způsobů dalšího nakládání je řešením Nerudovské otázky „Kam s ním?“ V posledních letech se trend nakládání s přebytečným kalem ubírá k termickému zpracování a znovuvyužití v zemědělství. Produktem termického spalování (pyrolýzy) je biouhlí, tzv. biochar. Jeho hlavní výhodou je vysoký obsah uhlíku a jeho fyzikálně-chemické vlastnosti, které by mohly být výhodné při revitalizaci zemědělsky využívaných půd. Nicméně zde by měl být základním kritériem původ biocharu a obsah škodlivin v něm zakonzentrovaných. V listopadu 2016 jednali vybraní odborníci na téma využívání biocharu z čistírenského kalu v zemědělství. Otázky toxicity tohoto materiálu však zůstaly nezodpovězeny.

V rámci práce byl hodnocen vysušený přebytečný kal z ČOV Karlovy Vary – Drahovice a produkt jeho termického spalování, biochar C. Pro porovnání byl do testování zahrnut biochar vyrobený z dřevní štěpky (biochar A) a jeho modifikace obohacená nanočásticemi nulamocného železa nZVI (biochar B). Mezi vzorky byl zřetelný rozdíl hned na první pohled. Zatímco laboratorně připravený biochar z dřevní štěpky byl leskle černý, rozemletý na jemný prach a relativně bez zápachu, poloprovozně připravený biochar z čistírenského kalu byl ve formě peletek (stejně jako vysušený kal), bez lesku a silně zapáchal po uhlí. To je samozřejmě poplatné způsobu výroby a je jasné, že průmyslová produkce ve velkých množstvích bude spíše odpovídat formě peletek.

Ekotoxický účinek vysušeného kalu a z něho vyrobeného biocharu byl výrazně vyšší, než u biocharu laboratorního. Na tom se ovšem podílí nedostatek vzorků biocharu z laboratoře, v důsledku kterého byly alespoň pro základní testování v rámci možností připraveny téměř 7x zředěné výluhy. Pro účely zjednodušeného porovnání byly provedeny výpočetní korelace výsledků dle poměru ředění na základě předpokladu lineární závislosti mezi toxicitou a ředěním výluhu. Pravděpodobně však závislost bude nelineární a nelze tak objektivně porovnat tyto dva druhy biocharu, i přesto, že se na první pohled jednalo o zcela odlišné materiály. Pro získání reprezentativních výsledků je nutné tyto materiály dále testovat a porovnat výluhy získané ze stejných hmotnostních podílů sušiny.

Co je ale zajímavé, je fakt, že vysušený kal vykazuje pouze nepatrně vyšší toxicitu, než produkt jeho termické přeměny. Výchozím předpokladem experimentu naopak bylo, že většina toxických látek se v průběhu spalování zakonzentruje v produktu a toxicitější tak bude biochar C. Tento předpoklad nebyl naplněn, což je pozitivní pro další využívání přebytečného kalu touto cestou. Výsledky ekotoxikologického testování by měly být nedílně doprovázeny chemickou analýzou. Je však velmi obtížné vybrat analyty, které by mohly reprezentovat polutanty obsažené v materiálu. Na každé ČOV se totiž obsah i složení polutantů bude lišit.

Zatímco vodní organismy nevykazovaly příliš vysokou citlivost vůči výluhům testovaných materiálů, u půdních organismů tomu bylo přesně naopak. To je velmi zajímavá a důležitá informace, protože biochar má být aplikován přímo do půdní matrice ve výšce ornice. U semen hořčice bílé *S. alba* byl pozorován výrazný inhibiční účinek výluhů vysušeného kalu a biocharu C. Je však otázkou, v jakém množství by byl tento biochar do půdy aplikován a do jaké míry by při dešti mohlo dojít k takovému vyluhování, při kterém by bylo dosaženo stejné koncentrace jako za laboratorních podmínek. Při testování únikového chování žížal *E. fetida* a chvostokoků *F. candida* byla pozorována vysoká míra únikovosti už při dávce 650 t/ha. Podle dostupné literatury by se však měl biochar do půdy dávkovat v množstvích deseti až stonásobně menších. Nižší dávky by už pro organismy nemusely být takovou zátěží, jako dávky zvolené při screeningovém testování.

Biochar je téma, které každým dnem nabývá na významu a atraktivitě. S chemickými látkami už lidstvo relativně umí zacházet a umíme je vyrábět tak, aby pro naše životní prostředí byly co nejmenší možnou zátěží. Dnešní generace chce mít zdravé životní prostředí a je to znát nejen u průmyslových gigantů, ale i u jednotlivců. S odpadními vodami si už také umíme poradit a máme takové technologie, se kterými je dokážeme vyčistit na „křišťálovou studánku“, je-li to třeba. Biochar, to je relativně nový produkt, určený pro aplikaci do půdy, a jeho účinky na organismy a vlivy na přírodní ekosystémy jsou jen málo prozkoumány.

Vzniká zde mnoho prostoru pro podrobná posuzování a testování chování tohoto materiálu nejen v laboratorních podmínkách, ale především v rámci polních studií. Protože má tento materiál v půdě životnost až desítky tisíc let, mělo by být dlouhodobě sledováno jeho chování v půdě a působení na živé organismy. Tento materiál by měl být využíván až potom, co bude lidstvo přesně vědět, jak se chová v přírodních ekosystémech a zda je dlouhodobě nezávadný. Je to jenom na nás, jak se k věci jako lidstvo postavíme. Zda budeme spěchat a generace po nás budou likvidovat staré zátěže, nebo zda vyčkáme a s čistým svědomím využijeme pro svůj další rozvoj kvalitní materiál.

## 7 REFERENCE

BASTOS, A. C.; PRODANA, M.; ABRANTES, N.; KEIZER, J. J.; SOARES, A. M. V. M.; LOUREIRO, S. *Potential risk of biochar-amended soil to aquatic systems: an evaluation based on aquatic bioassays*, *Ecotoxicology*. 2014; 23(9): 1784–1793. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1344-1>.

BŘENDOVÁ, K., TLUSTOŠ, P., SZÁKOVÁ, J., BOHUNĚK, M.: *Využití biouhli (biocharu) k úpravě půdních vlastností*. *Biom.cz* [online]. ISSN: 1801-2655. 2015-02-02 [cit. 2018-06-25]. Dostupné z WWW: <<https://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyuziti-biouhli-biocharu-k-uprave-pudnich-vlastnosti>>.

CRANE-DROESCH, A., ABIVEN, S., JEFFERY, S., TORN, M.S. *Heterogeneous global crop yield response to biochar: a meta-regression analysis*. *Environ Res Lett*. 2013; 8(4). doi:10.1088/1748-9326/8/4/044049.

ČSN EN 12457-4 (83 8005) 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), 2003.

ČSN EN ISO 10706 (757752) Jakost vod – Stanovení chronické toxicity látek pro *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*), 2001.

ČSN EN ISO 11267 (83 6451) Kvalita půdy – Inhibice reprodukce chvostokoků (*Folsomia candida*) látkami znečišťujícími půdu, 2014.

ČSN EN ISO 11268-1 (836456) Kvalita půdy - Účinky znečišťujících látek na žížaly - Část 1: Stanovení akutní toxicity pro *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*, 2014.

ČSN EN ISO 11268-2 (836456) Kvalita půdy - Účinky znečišťujících látek na žížaly - Část 2: Stanovení účinků na reprodukci *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*, 2014.

ČSN EN ISO 11348-1 (757734) *Jakost vod – Stanovení inhibičního účinku vzorků vod na světelnou emisi Vibrio fischeri (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) – Část 1: Metoda s čerstvě připravenými bakteriemi*. 2009. 28 s.

ČSN EN ISO 20079 (757745) Jakost vod - Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) - Zkouška inhibice růstu okřešku, 2007.

Český statistický úřad: *Počet obyvatel v obcích k 1. 1. 2017*. Praha. 28. dubna 2017. Dostupné online. [cit. 2018-03-03].

DOLEŽALOVÁ, Š. *Ekotoxikologické hodnocení prostředků na bázi tenzidů*, Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 105 s. Vedoucí diplomové práce MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.

DOMENE, X., ENDERS, A., HANLEY, K., AND LEHMANN, J. *Ecotoxicological characterization of biochars: role of feedstock and pyrolysis temperature*. *Sci. Total Environ.* 2015, 512-513, 552-561.

DRTIL, M., HUTŇAN M. *Technologický projekt: část Procesy a technologie čištění odpadových vod*. 1. Bratislava: Vydavateľstvo NOI, 2007. ISBN 978-80-89088-57-7.

DR. STHAMER HAMBURG. *Sicherheitsdatenblatt gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH). MOUSSOL-APS F-15*. Hamburg. 2012. 11 s.

DR. STHAMER HAMBURG. *Sicherheitsdatenblatt gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH). STHAMEX F-15*. Hamburg. 2014. 11 s.

ELENDT, B.P. *Selenium deficiency in Crustacea. An ultrastructural approach to antennal damage in Daphnia magna Straus*. *Protoplasma*. 1990. vol 154: 25-33. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01349532>.

ELJARRAT, E., BARCELÓ D., ALAEE, M. *Brominated flame retardants*. New York: Springer-Verlag, 2011. Handbook of environmental chemistry, ISBN 36-421-9268-8.

ENGEL M. *Vibrio fischeri*. Projects. Hettenschwil. 2006. Dostupné z: <http://www.marengel.ch/Projekte/Vibrio-fischeri/Vibriofischeri1.html>

EVROPSKÁ KOMISE. *Návrh Rozhodnutí rady o postoji, který se má zaujmout jménem Evropské unie na sedmé konferenci smluvních stran Stockholmské úmluvy o persistentních organických znečišťujících látkách, pokud jde o návrh změn příloh A, B a C*. 2015/069 (NLE). Brusel. 2015. URL: <http://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2015/CS/1-2015-137-CS-F1-1.PDF>.

FISKESJÖ, G. *The Allium test as standard in environmental monitoring*. *Hereditas*. 1985. vol. 102. p. 99-112.

GONDEK, K., MIERZWA-HERSZTEK, M. *Effect of thermal conversion of municipal sewage sludge on the content of Cu, Cd, Pb and Zn and phytotoxicity of biochars*. *J. Elem.*, 2017; 22(2): 427-435. DOI: 10.5601/jelem.2016.21.1.1116.

GONDEK K., MIERZWA-HERSZTEK M., BARAN A., SZOSTEK M., PIENIAŹEK R., PIENIAŹEK M., STANEK-TARKOWSKA J., NOGA T. *The Effect of Low-Temperature Conversion of Plant Materials on the Chemical Composition and Ecotoxicity of Biochars*. *Waste Biomass Valor.* 2017; 8:599-609. DOI 10.1007/s12649-016-9621-2.

HIRZEL, J. and MATUS, I. *Effect of soil depth and increasing fertilization rate on yield and its components of two durum wheat varieties*. *Chilean J. Agric. Res.* [online]. 2013,

vol. 73, n. 1, pp. 55-59. ISSN 0718-5839. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392013000100008>.

ISO 17512-2 *Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 2: Test with collembolans (Folsomia candida)*. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland. 2011.

JADAMUSOVÁ, P., SEZIMOVÁ, H. *Stanovení účinku odpadních vod na klíčivost semen a růst v počátečních stádiích vývoje rostliny Sinapis alba*. 2012. [2012-05-10]. ISBN 978-80-7368-966-7.

JENNINGS, V. L. K., RAYNER-BRANDES, M. H., BIRD, D. J. *Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (Vibrio fischeri): A comparison of three commercial systems*. Water Res. 2001;35:3448–3456. doi: 10.1016/S0043-1354(01)00067-7.

JOHNSON, A.I. *A Field Method for Measurement of Infiltration*. Geological Survey Water-Supply Paper. 1963; 1544-F, U.S. Department of Interior, 31 p.

KANNAN, K., TAO, L., SINCLAIR, E., PASTVA, S. D., JUDE, D. J., GIESY, J. P. *Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain*. Arch Environ Contam Toxicol. 2005; 48:559–566.

KNIGHT, D. J., THOMAS, M. B. *Practical Guide to Chemical Safety Testing*, iSmithers Rapra Technology. 2003. 474 p.

KOČÍ, V., MOCOVARÁ, K. *Ekotoxikologie pro chemiky* [online]. Version . Praha: VŠCHT Praha, 2009 [cit. 2018-03-09]. P. 159. ISBN 978-80-7080-699-9. Dostupné z: <[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-978-80-7080-699-9/pages-img/159.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-978-80-7080-699-9/pages-img/159.html)>.

KONEČNÁ, M. *Ekotoxicita vybraných hasebních prostředků*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 77 s. Vedoucí diplomové práce MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.

KRÓL, B., PROCHASKA, K., CHRZANOWSKI, Ł. *Biodegradability of Firefighting Foams*. Fire Technology. 2012, vol. 48, issue 2, pp. 173-181. DOI: 10.1007/s10694-010-0204-7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10694-010-0204-7>

LEHMANN, J. *Bio-Energy in the Black*. Frontiers in Ecology and the Environment. 2007; 5, 381-387. [http://dx.doi.org/10.1890/1540-9295\(2007\)5\[381:BITB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1890/1540-9295(2007)5[381:BITB]2.0.CO;2).

LI, M. H. *Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to plants and aquatic invertebrates*. Environ Toxicol 2009; 24:95–101.

LIBRA, J. A., RO, K. S., KAMMANN, C., FUNKE, A., BERGE, N.D., NEUBAUER, Y., TITIRICI, M-M., FÜHNER, C., BENS, O., KERN, J., EMMERICH, K-H. *Hydrothermal*

carbonization of biomass residuals: a comparative review of the chemistry, processes and applications of wet and dry pyrolysis. *Biofuels*. 2011; 2(1):71–106. doi:10.4155/bfs.10.81.

LIESCH, A. M.; WEYERS, S. L.; GASKIN, J. W.; DAS, K. *Impact of two different biochars on earthworm growth and survival*, *Annals of Environmental Science*. 2010; 4(1): 1–9.

LU, G., LIU, J., SUN, L., YUAN, L. *Toxicity of perfluorononanoic acid and perfluorooctane sulfonate to *Daphnia magna**. *Water Science and Engineering*. 2015, 8(1), p. 40-48. DOI: 10.1016/j.wse.2015.01.001. ISSN 16742370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1674237015000022>.

LUFA Speyer [webpage on the Internet]. *Analyses Data Sheet for Standard Soils according to GLP*. Speyer, Germany: LUFA Speyer [updated 2016-03:15; cited 2018-03-07]. Dostupné z: [http://www.lufa-speyer.de/images/stories/2016-STB-Bo-data\\_sheet.pdf](http://www.lufa-speyer.de/images/stories/2016-STB-Bo-data_sheet.pdf).

LUFA Speyer [webpage on the Internet]. *Standardböden*. Speyer, Germany: LUFA Speyer [cited 2018-03-07]. Dostupné z: <http://www.lufa-speyer.de/index.php/dienstleistungen/standardboeden/8-dienstleistungen/artikel/57-standard-soils>.

LYČKOVÁ, B., FEČKO, P., KUČEROVÁ, R. *Zpracování kalů*. Multimediální učební texty zaměřené na problematiku zpracování kalů [online]. 2008. VŠB – Technická univerzita Ostrava. Dostupné z: <http://hgf10.vsb.cz/546/ZpracovaniKalu/index.html>.

MALÝ, J., MALÁ, J. *Chemie a technologie vody*. ARDEC s.r.o. Brno. 2006. 329 s. ISBN 80-86020-50-9.

MEHMOOD, K., CHAVEZ GARCIA, E., SCHIRRMANN, M., LADD, B., KAMMANN, C., WRAGE-MONNIG, N., SIEBE, C., ESTAVILLO, J.M., FUERTES-MENDIZABAL, T., CAYUELA, M., SIGUA, G.C., SPOKAS, K.A., COWIE, A.L., NOVAK, J.M., IPPOLITO, J.A., BORCHARD, N. *Biochar research activities and their relation to development and environmental quality: A meta-analysis*. *Agronomy for Sustainable Development*. 2017. doi:10.1007/s13593-017-0430-1.

MICROBIOTESTS INC. *Daphtoxkit F magna*. Crustacean toxicity screening test for freshwater. Standard Operational Procedure. Creasel: Deinze, Belgium. 1995a.

MICROBIOTESTS INC. *Thamnotoxkit F*. Crustacean toxicity screening test for freshwater. Standard Operational Procedure. Creasel: Deinze, Belgium. 1995b.

MIERZWA-HERSZTEK, M., GONDEK, K., KLIMKOWICZ-PAWLAS, A., et al. *Effect of wheat and Miscanthus straw biochars on soil enzymatic activity, ecotoxicity, and plant yield*. *International Agrophysics*. 2017; 31(3), pp. 367-375. Retrieved 28 Feb. 2018, from doi:10.1515/intag-2016-0063.

MIJANGOS I, GARBISU C. *Consequences of soil sampling depth during the assessment of the effects of tillage and fertilization on soil quality: a common oversight*. Soil Till Res. 2010; 109: 169-173. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2010.05.001>

MZČR. Vyhláška č. 437/2016 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady a změně vyhlášky č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 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 o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady). In: Sběrka zákonů, částka 178/2016, s. 6994 - 7024. ISSN 1211-1244. Dostupný také z: [http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-ostatni\\_uplna-zneni\\_vyhlaska-2016-437.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-ostatni_uplna-zneni_vyhlaska-2016-437.html)

MŽP ČR. *Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů*. Praha. 2007. 17 s.

OLESZCZUK, P.; JOŚKO, I.; KUŚMIERZ, M. *Biochar properties regarding to contaminants content and ecotoxicological assessment*. Journal of Hazardous Materials. 2013; 260: 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.05.044>.

PARSONS, J. R., SÁEZ, M., DOLFING, J., DE VOOGT, P. *Biodegradation of perfluorinated compounds*. Rev Environ Contam Toxicol. 2008; 196:53–71.

POHOŘELÝ, M., MOŠKO, J., ZACH, B., ŠYC, M., VÁCLAVKOVÁ, Š., JEREMIÁŠ, M., SVOBODA, K., SKOBLIA, S., BEŇO, Z., BRYNDA, J., TRAKAL, L., STRAKA, P., BIČÁKOVÁ, O., INNEMANOVÁ, P. *Materiálové a energetické využití suchého stabilizovaného čistírenského kalu – výroba biocharu středně- teplotní pomalou pyrolýzou*. Waste Forum. 2017(2), 42-48.

PUBLIC HEALTH ENGLAND. *PFOS and PFOA Toxicological Overview*. Chemical hazards compendium. Toxicology Department CRCE, PHE, 2009. URL: [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/338261/PFOS\\_and\\_PFOA\\_Toxicological\\_Overview\\_phe\\_v1.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/338261/PFOS_and_PFOA_Toxicological_Overview_phe_v1.pdf).

PYROCOOL SLOVAKIA SPOL. S.R.O. *Technický list: Pyrocool B*. 2002, 3 s. Dostupné z: <http://www.pyrocool.sk/content/view/12/30/lang,sk/>.

RAHMAN, F., LANGFORD, K. H., SCRIMSHAW, M. D., LESTER, J. N. *Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants*. Sci Total Environ. 2001; 275:1–17. doi:10.1016/S0048-9697(01)00852-X.

ROIG, N., SIERRA, J., NADAL, M., MARTI, E., NAVALON-MADRIGAL, P., SCHUHMACHER, M., DOMINGO, J. L. *Relationship between pollutant content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants*. Sci Total Environ. 2012; 425:99–109.

SABO FOAM S. R. L. *Safety Data Sheet EXPYROL FA-15*. SKUM. 2017. 10 s.

SIMONSEN, F. A., STAVNSBJERG, M., MOLLER, L. M. and MADSEN, T. *Brominated flame retardants; toxicity and ecotoxicity*. Kobenhavn, Miljøstyrelsen (Environmental Project No. 568). 2000. URL: <http://www.miljoestyrelsen.dk/udgiv/publications/2000/87-7944-288-9/pdf/87-7944-289-7.pdf>.

SOHI, S., KRULL, E., LOPEZ-CAPEL, E., BOL, R. *A review of biochar and its use and function in soil*. *Adv Agron.* 2010; 105:47–82. doi:10.1016/S0065-2113(10)05002-9.

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.

TCHOBANOGLIOUS, G., BURTON, F. L. and STENSEL, H. D. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4th ed. Metcalf & Eddy Inc., New York, NY: McGraw-Hill, 2003. ISBN 00-712-4140-X.

Test No. 207. *Earthworm, Acute Toxicity Tests*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Effects on Biotic Systems. 1984. ISBN 9789264070042-en.

Test No. 208. *Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. 2006. ISBN 9789264070066-en.

Test No. 211. *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Effects on Biotic Systems. 2012. ISBN 9789264185203-en.

Test No. 221. *Lemna sp. Growth Inhibition Test*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems. Paris: 2006. ISBN 9789264016194-en.

Test No. 222. *Earthworm Reproduction Test (Eisenia fetida/Eisenia andrei)*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Effects on Biotic Systems. 2004. ISBN 9789264070325-en.

Test No. 232. *Collembolan Reproduction Test in Soil*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Effects on Biotic Systems. 2009. ISBN 9789264076273-en.

VONDERHEIDE, A. P., MUELLER, K. E., MEIJA, J., WELSH, G. L. *Polybrominated diphenyl ethers: Causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity*. *Science of The Total Environment*. 2008, p. 425-436. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.05.003. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969708005111>.

WHITACRE, D. M., PARSONS, J. R., SÁEZ, M., DOLFING, J., DE VOOGT, P. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Biodegradation of Perfluorinated Compounds. New York: Springer, 2008, s. 53-71. ISBN 9780387784434.



ZAHAS S.R.O. Bezpečnostní list. TOWALEX F-15. Trnávka: ZAHAS s.r.o. 2011. 3 s.  
URL: [https://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwj3rIKiw6\\_OAhVHuxQKHUPsDWwQFggsMAI&url=http%3A%2F%2Fqishop.zahas-sro.cz%2FPenidlo-Towalex-RMB15-3-Finiflam-F15-doprodej-10-1-a4593833\\_10939.aspx&usg=AFQjCNFnNtKqdsUS\\_luS97fIMBPGlcFrMQ&bvm=bv.129391328,d.d24&cad=rja](https://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwj3rIKiw6_OAhVHuxQKHUPsDWwQFggsMAI&url=http%3A%2F%2Fqishop.zahas-sro.cz%2FPenidlo-Towalex-RMB15-3-Finiflam-F15-doprodej-10-1-a4593833_10939.aspx&usg=AFQjCNFnNtKqdsUS_luS97fIMBPGlcFrMQ&bvm=bv.129391328,d.d24&cad=rja).

ZIELIŃSKA, A., OLESZCZUK, P. *The conversion of sewage sludge into biochar reduces polycyclic aromatic hydrocarbon content and ecotoxicity but increases trace metal content.* Biomass Bioenerg. 2015; p. 235-244. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.02.019>

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AFFFs	Aqueous Film-Forming Foams; fluorosyntetická pěnidla tvořící vodní film
AOX	Adsorbable organic halides; halogenované organické sloučeniny
BCF	Biokoncentrační faktor
BFRs	Brominated Fire Retardants; bromované retardátory hoření
BPS	Bromovaný polystyren
BSK <sub>5</sub>	Biochemická spotřeba kyslíku v mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>
CHSK <sub>Cr</sub>	Chemická spotřeba kyslíku v mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>
CI	Confidence interval; Interval spolehlivosti
ČOV	Čistírna odpadních vod
EC50	Efektivní koncentrace, při které je pozorován 50% účinek
ECX	Efektivní koncentrace, při které je pozorován x% účinek
EL	Extrahovatelné látky
EO	Ekvivalentní obyvatel
HBCD	Hexabromocyklodekan
IC50	Inhibiční koncentrace, při které je pozorován 50% účinek
ISO	International Organization for Standardization; Mezinárodní organizace pro normalizaci
K <sub>ow</sub>	Rozdělovací koeficient oktanol/voda
LCA	Life Cycle Assesment;
LC50	Letální koncentrace, při které je pozorován 50% účinek
LD50	Letální dávka, při které je pozorován 50% účinek
LOEC	Lowest Observed Effect Concetration; Nejnižší koncentrace s pozorovaným účinkem
MFA	Monofluoroacetát
MŽP ČR	Ministerstvo životního prostředí České republiky
NL	Nerozpuštěné látky
NOEC	No Observed Effect Concentration; Nejvyšší koncentrace bez pozorovaného účinku
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development; Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj
PAHs	Polyaromatic Hydrocarbons; polyaromatické uhlovodíky
PAU	Polyaromatické uhlovodíky
PAL	Povrchově aktivní látky
PBDE	Polybromovaný diethylether
PCBs	Polychlorinated biphenyls; polychlorované bifenyly
PCNs	Plolychlorované naftaleny
PFOA	Perfluorooctanoic acid; perfluorooktanová kyselina
PFOS	Perfluorooctane sulfonate; perfluoroktansulfonátu
PFOSA	Perfluorooctane sulfonamide; perfluorooktan sulfonamid
POPs	Perzistentní organické polutanty
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationship; matematická analýza kvantitativních vztahů mezi chemickou strukturou a biologickou činností
RAS	Rozpuštěné anorganické soli

## 9 ŽIVOTOPIS

### Osobní informace a kontakt

Jméno	Šárka Doležalová
Adresa	Horní Smrčné 12, 675 07, p. Čechtín
Místo a datum narození	Třebíč, 17. 02. 1989
Národnost	česká
Pohlaví	žena
Telefonní kontakt	+420 732 581 929
Email	xchribovas@fch.vutbr.cz

### Vzdělání

14/06/2013 – doposud

Doktorský studijní program

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Téma dizertační práce:

Ekotoxikologické posouzení bodových zdrojů znečištění

21/06/2011 – 06/06/2013

Vysokoškolské magisterské vzdělání

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Téma diplomové práce:

Ekotoxikologické hodnocení prostředků na bázi tenzidů

16/07/2012 – 27/07/2012

Studijní praxe, resp. stáž v laboratořích oddělení hydrochemie a hydrobiologie VÚV T. G. M. v Brně

03/09/2008 – 20/06/2011

Vysokoškolské bakalářské vzdělání

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Téma bakalářské práce:

Využití alternativních testů ekotoxicity pro posouzení kontaminovaných environmentálních matric

19/07/2010 – 23/07/2010

Studijní praxe, resp. stáž na ČOV Třebíč (VAS, a.s., divize Třebíč)

01/09/2004 – 27/05/2008

Střední odborné vzdělání s maturitou

Střední průmyslová škola Třebíč

Obor: Průmyslová ekologie

## **Pracovní zkušenosti**

01/09/2014 – dosud

Technolog investičních akcí (oblasti čištění odpadních vod)  
ASIO, spol. s r.o., Kšírova 552/45, Brno

09/06/2014 – 30/08/2014

Asistent výuky (předmět Praktikum z analytické chemie II)  
FCH VUT v Brně, Purkyňova 464/118, 612 00, Brno

10/02/2014 – 09/05/2014

## **Výzkumná činnost**

### **Výzkumné projekty**

2016

Kontaminace životního prostředí kontaminanty na bázi anorganických a organických sloučenin, zahájení: 01/01/2016, ukončení: 31/12/2016

2015

Posouzení vstupu nových kontaminátů do složek životního prostředí, zahájení: 01/01/2015, ukončení: 31/12/2015

2014

Studium vlivu čistírenských technologií na eliminaci škodlivin z vodního ekosystému, zahájení: 01/01/2014, ukončení: 31/12/2014

Hodnocení znečištění životního prostředí metodami environmentální analýzy a ekotoxikologie, zahájení: 01/01/2014, ukončení: 31/12/2014

### **Publikační činnost**

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *Hodnocení environmentálních rizik pěnových hasebních prostředků*. In Analýza organických látek v životním prostředí, Sborník přednášek. Český Těšín: Ing. Václav Helán - 2Theta, 2013. s. 192-199. ISBN: 978-80-86380-70- 4.

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *Environmental Risks with Fire- Fighting Foams Application*. In Studentská odborná konference Chemie je život 2013 Sborník příspěvků. Purkyňova 464/118, 612 00 Brno: VUT v Brně, Fakulta chemická, 2013. s. 293-298. ISBN: 978-80-214-4823- 0.

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *The soil sorption ability and its impact on environmental contamination*. Interdisciplinary Toxicology. Bratislava: Slovenská toxikologická spoločnosť, 2014. s. 38-38. ISSN: 1337- 6853.

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *Ecotoxicological Evaluation of Fire Fighting Foams*. Fresenius Environmental Bulletin, 2014, roč. 2014 (23.), č. 12, s. 3029-3035. ISSN: 1018- 4619.

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *Sorption ability of the soil and its impact on environmental contamination*. Interdisciplinary Toxicology, 2015, roč. [7], č. 4, s. 177-183. ISSN: 1337- 9569.

HŘIBOVÁ, Š.; VÁVROVÁ, M.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H. *Are terrestrial organisms able to live in contaminated soil after fire-fighting?*. Chemistry & Life 2015 - Book of Abstracts. first. Brno: Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, 2015. s. 51-52. ISBN: 978-80-214-5228- 2.

HŘIBOVÁ, Š.; VÁVROVÁ, M.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H. *Are Terrestrial Organisms Able to Live in Contaminated Soil After Fire-Fighting?*. Czech Chemical Society Symposium Series, 2016, roč. 13, č. 2, s. 70-72. ISSN: 2336- 7210.

### **Kurzy/semináře**

23/06/2014 – 28/06/2014

*10th Summer School on Toxic Compounds in the Environment 2014*

RECETOX, Brno

(zaměření kurzu: toxické látky v životním prostředí, jejich transport a transformace, ekotoxikologie, metody vzorkování, instrumentální metody stanovení chemických individuí ve vzorku, analýza izotopického zastoupení prvků)

24/09/2013 – 27/09/2013

*1<sup>st</sup> Training school: Energy recovery in anaerobic processes in wastewater and sludge processing*

Silesian University of Technology, Gliwice, Polsko

(zaměření kurzu: energetické a látkové toky mezi jednotlivými technologickými stupni ČOV, anaerobní a annamox procesy, kalové hospodářství)

### **Certifikáty**

Národní certifikace studentů (uplatňuje pravidla SPŘ o. s. v souladu s Národním standardem kompetencí projektového řízení, verze 3.2)

Licence NCS/233/14

Platnost do 06/03/2019

Kurz vzorkování pro pracovníky vodohospodářských a kontrolních laboratoří

VÚV TGM, v.v.i.

Certifikát platný od 12/2014

AutoCAD 2017 – základní kurz

Computer Agency o.p.s., Licence 15180DDCD0

Osvědčení o členství v CzWA (YWP CZ; Young Water Professional Czech Republic)

Reg. č. 500

### **Aktivní účast na konferencích**

#### **Prezentace výsledků formou přednášky (ústní prezentace)**

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H. *Hodnocení environmentálních rizik pěnových hasebních prostředků*. In Analýza organických látek v životním prostředí, Sborník přednášek. Český Těšín: Ing. Václav Helán - 2Theta, 2013. s. 192-199. ISBN: 978-80-86380-70-4.

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *Environmental Risks with Fire- Fighting Foams Application*. In Studentská odborná konference Chemie je život 2013 Sborník příspěvků. Purkyňova 464/118, 612 00 Brno: VUT v Brně, Fakulta chemická, 2013. s. 293-298. ISBN: 978-80-214-4823-0.

HŘIBOVÁ, Š.; ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M. *The soil sorption ability and its impact on environmental contamination*. Interdisciplinary Toxicology. Bratislava: Slovenská toxikologická spoločnosť, 2014. s. 38-38. ISSN: 1337-6853.

#### **Přehled publikací formou posterů na mezinárodních konferencích**

HŘIBOVÁ, Š., VÁVROVÁ, M. ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H. *Are terrestrial organisms able to live in contaminated soil after fire-fighting?* 6<sup>th</sup> Meeting on Chemistry and Life 2015

#### **Posterová prezentace**

*Are terrestrial organisms able to live in contaminated soil after fire-fighting?*  
6<sup>th</sup> meeting on Chemistry and Life 2015  
02 – 04/12/2015, Fakulta chemická VUT v Brně, Brno, Česká republika

#### **Dovednosti**

Řidičský průkaz	Skupina A, B
Počítačové dovednosti	Znalost nástrojů Microsoft Office (Word, PowerPoint, Excell) a Open Office. Dobrá orientace v internetových prohlížečích Internet Explorer, Mozilla Firefox aj. Základní znalost programu AutoCAD, BrisCAD, Adobe Photoshop, Zoner Photo Studio 14, ChemSketch
Jazyky	Angličtina (B2/C1) Francouzština (začátečník)

## **10 SEZNAM PŘÍLOH**

**Příloha č. 1**      Klasifikace chemikálií podle nebezpečnosti pro životní prostředí (Knight and Thomas, 2003).

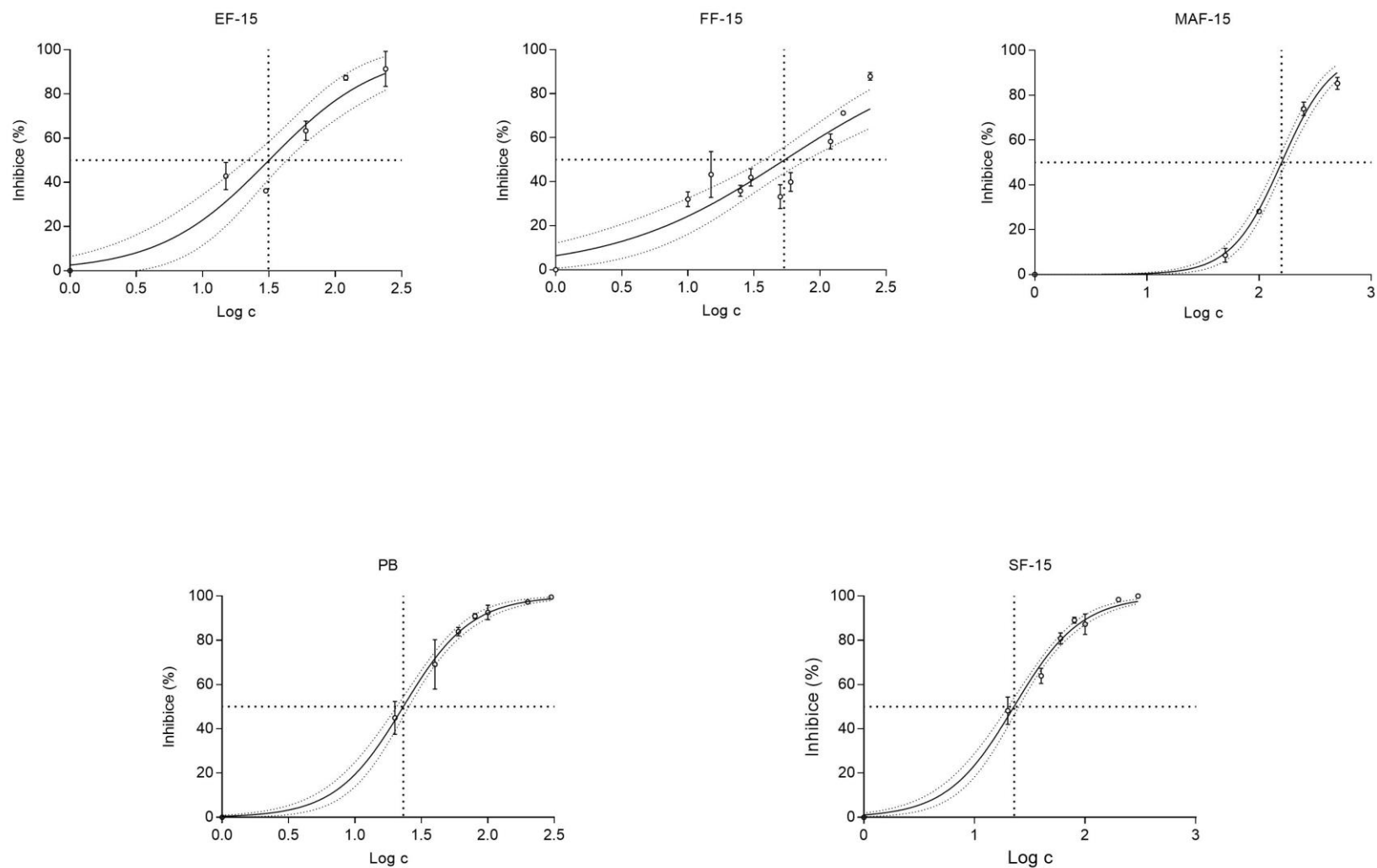
**Příloha č. 2**      Křivky dávka-odpověď pro vyhodnocení výsledků jednotlivých testů.

**Příloha č. 1. Klasifikace chemikálií podle nebezpečnosti pro životní prostředí (Knight and Thomas, 2003).**

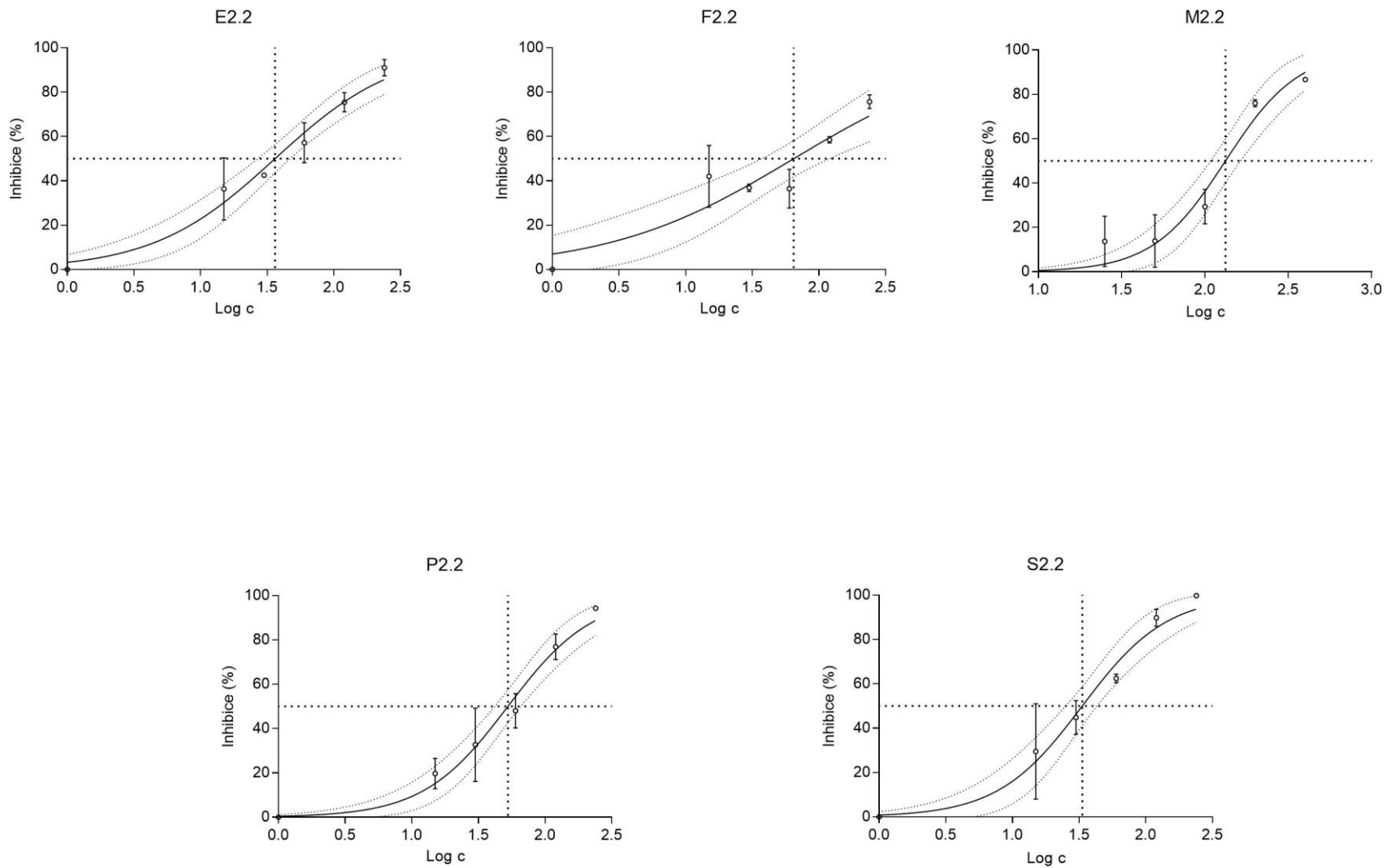
<b>LC50 (mg/l)</b>	<b>Hodnocení</b>
< 1	Vysoce toxický vodním organismům
> 1 < 10	Toxický vodním organismům
> 10 < 100	Mírně toxický vodním organismům
> 100	Relativně netoxický



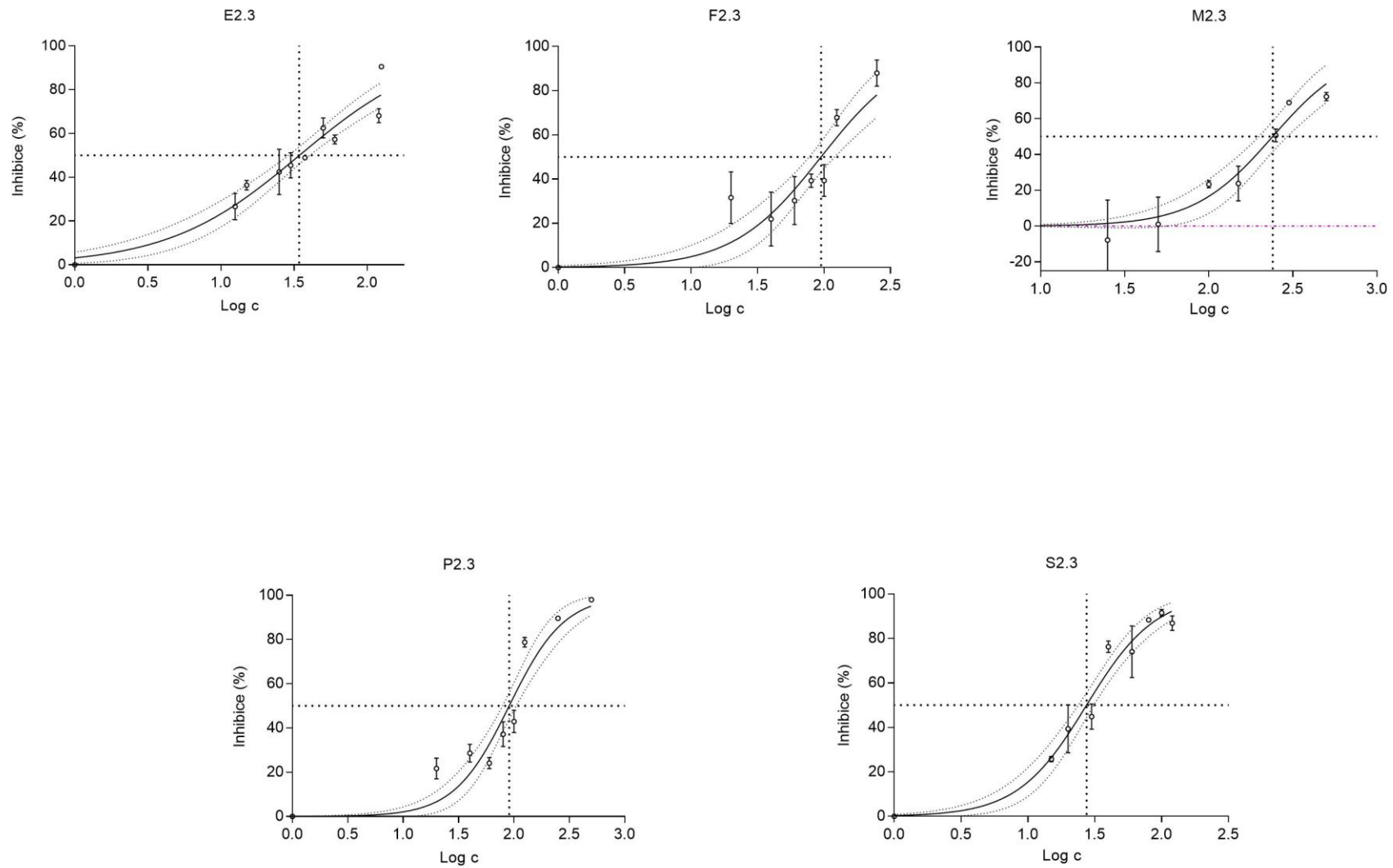
## Příloha č. 2. Křivky dávka-odpověď pro vyhodnocení výsledků jednotlivých testů.



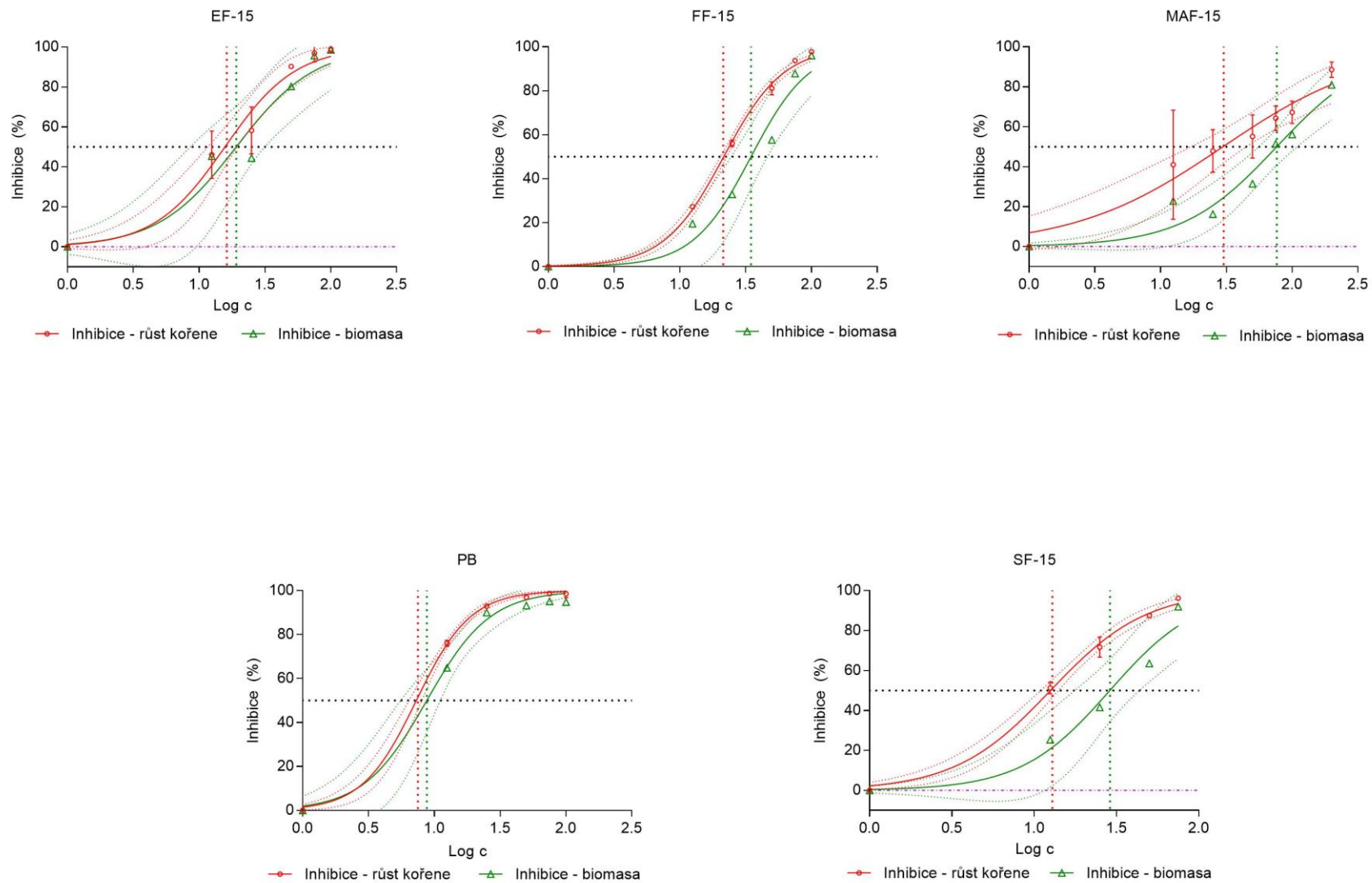
Obr. 12. Křivky dávka-odpověď vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků pro organismus *S. alba*.



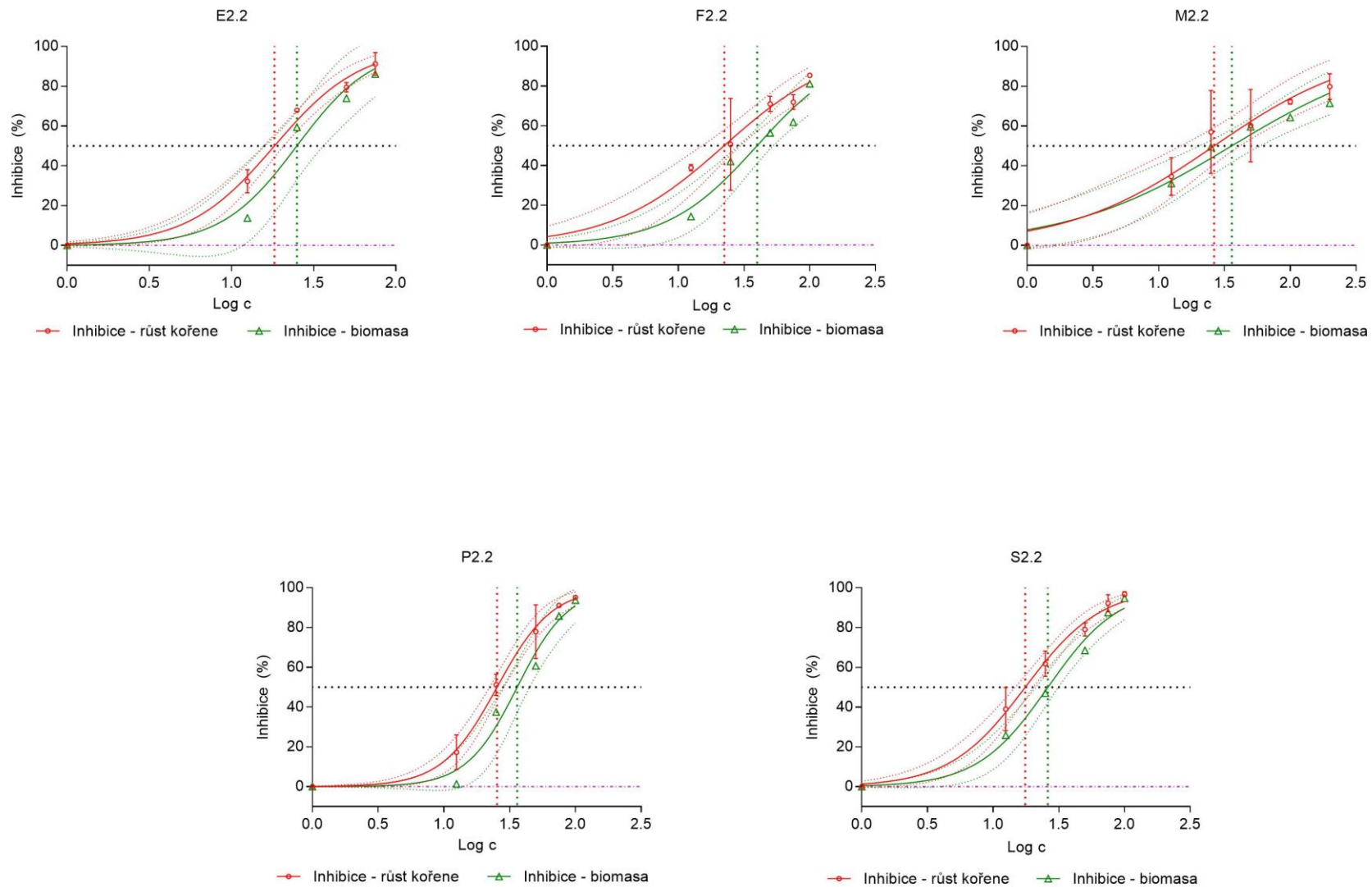
Obr. 13. Křivky dávka-odpověď vzorků filtrátů hasebních prostředků z půdy Lufa 2.2 pro organismus *S. alba*.



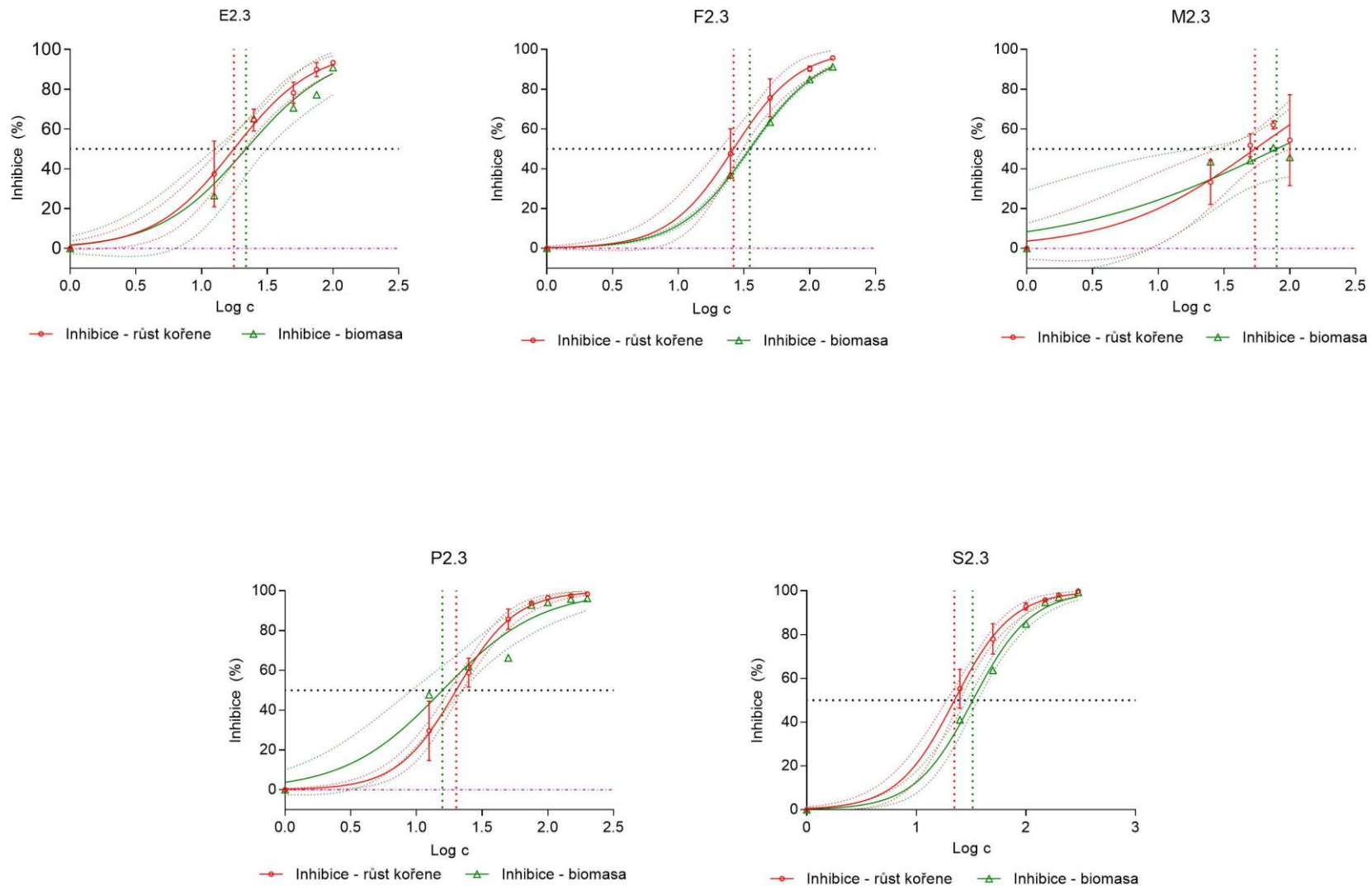
Obr. 14. Křivky dávka-odpověď vzorků filtrátů hasebních prostředků z půdy Lufa 2.3 pro organismus *S. alba*.



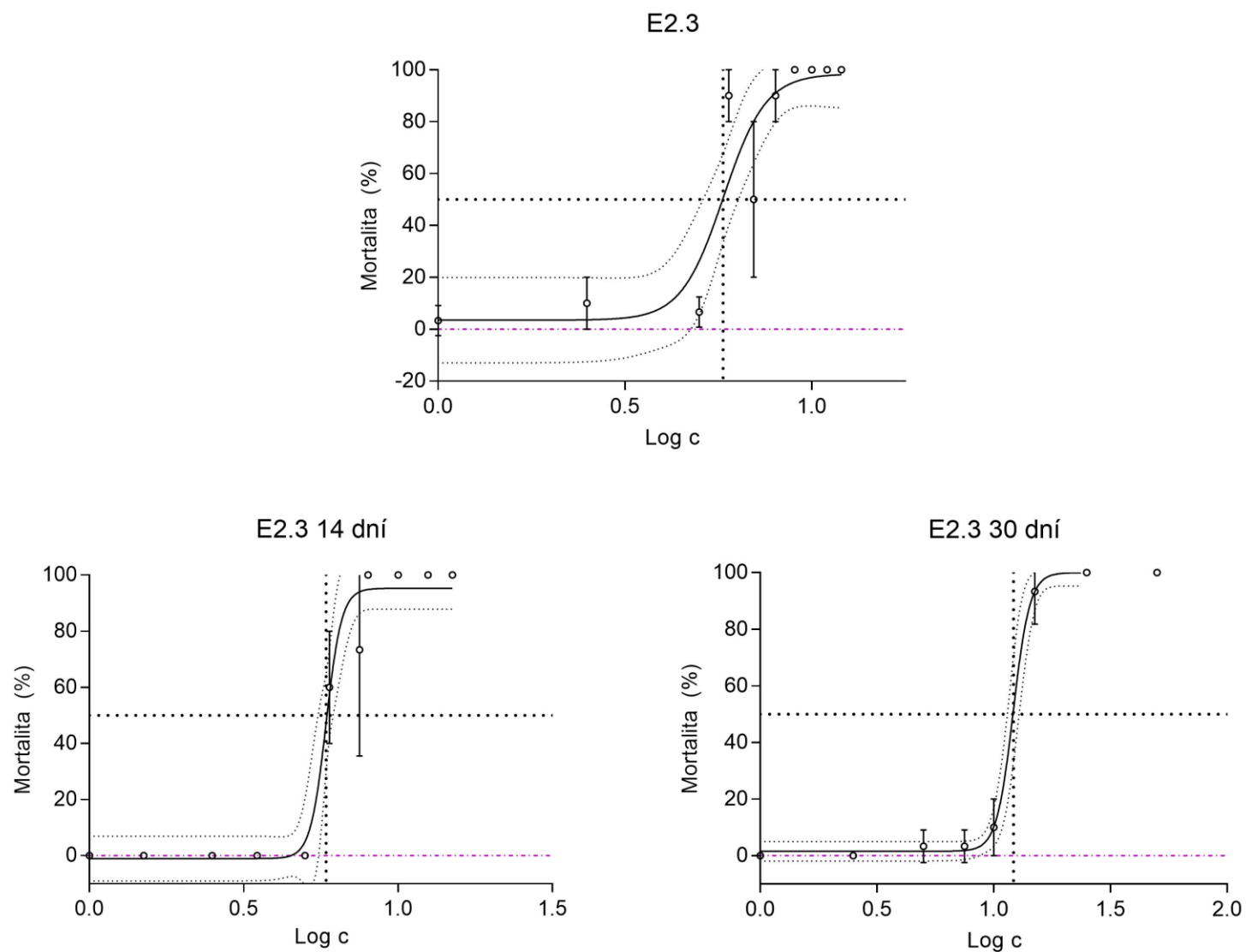
Obr. 15. Křivky dávka-odpověď vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků pro organismus *A. cepa L.*



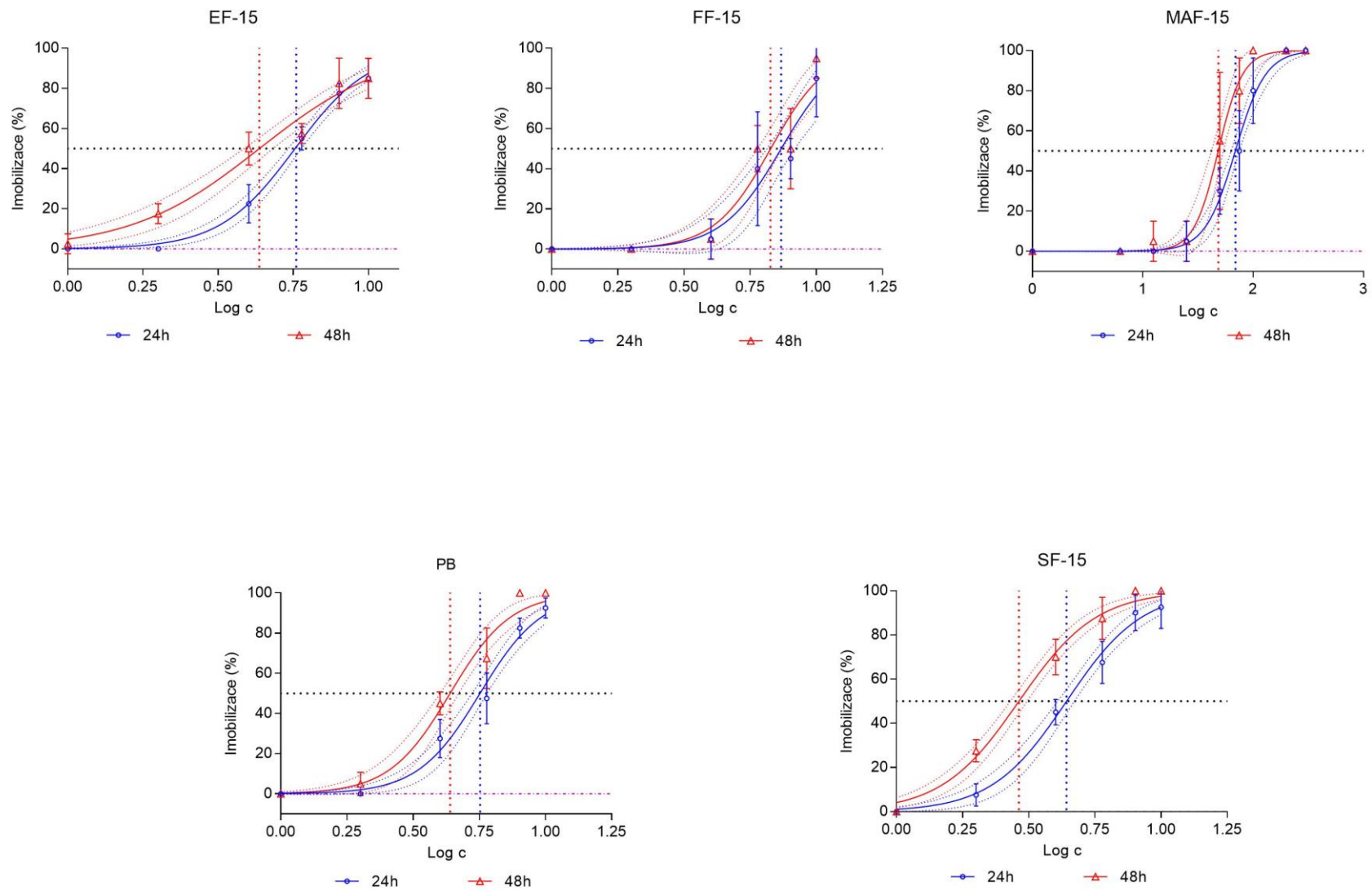
Obr. 16. Křivky dávka-odpověď vzorků filtrátů hasebních prostředků z půdy Lufa 2.2 pro organismus *A. cepa L.*



Obr. 17. Křivky dávka-odpověď vzorků filtrátů hasebních prostředků z půdy Lufa 2.3 pro organismus *A. cepa L.*

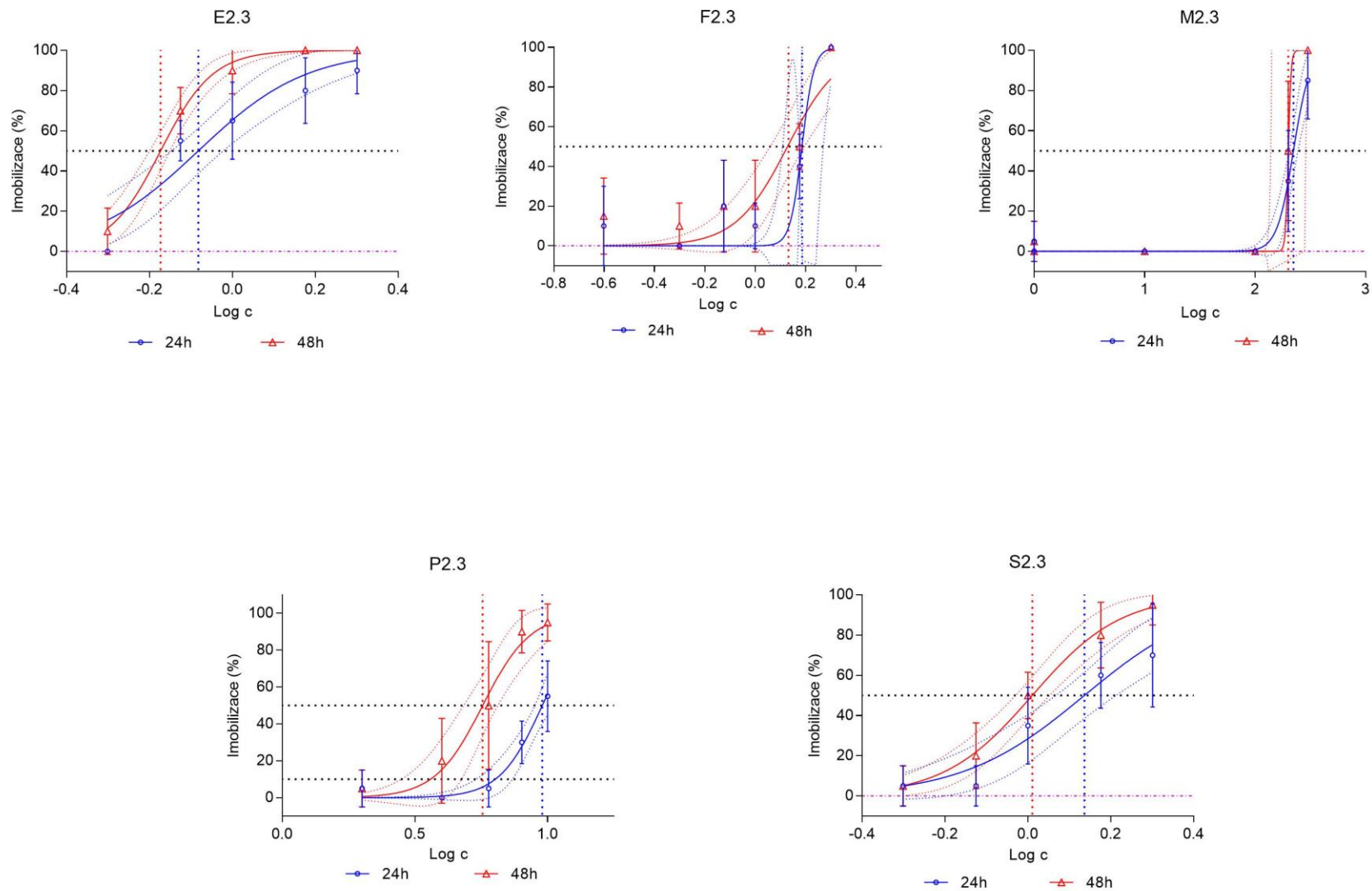


Obr. 18. Křivky dávka-odpověď vzorků filtrátu pracovního roztoku prostředku Expyrol F-15 z půdy Lufa 2.3 pro organismus *T. platyurus*.

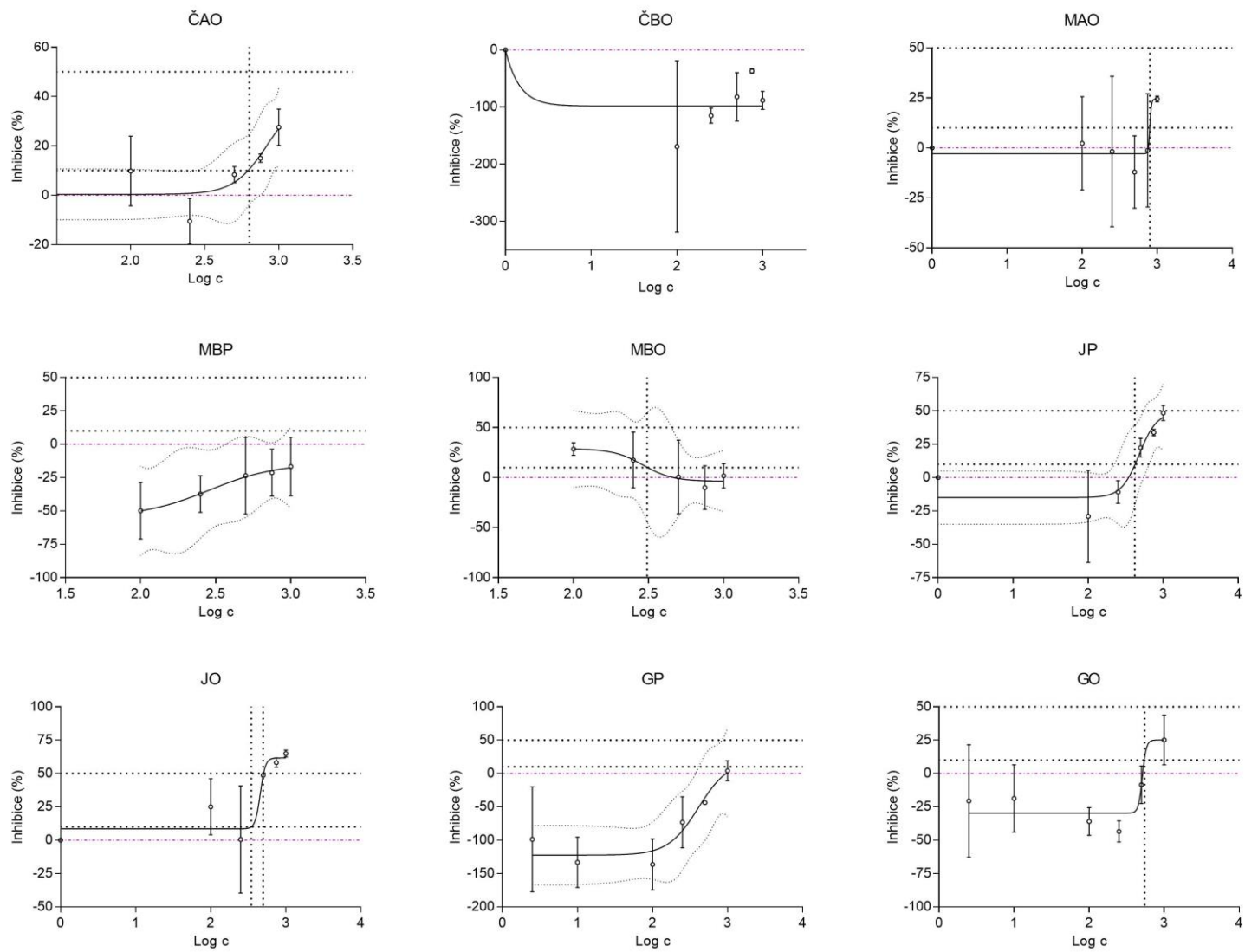


Obr. 19. Křivky dávka-odpověď vzorků pracovních roztoků hasebních prostředků pro organismus *D. magna*.

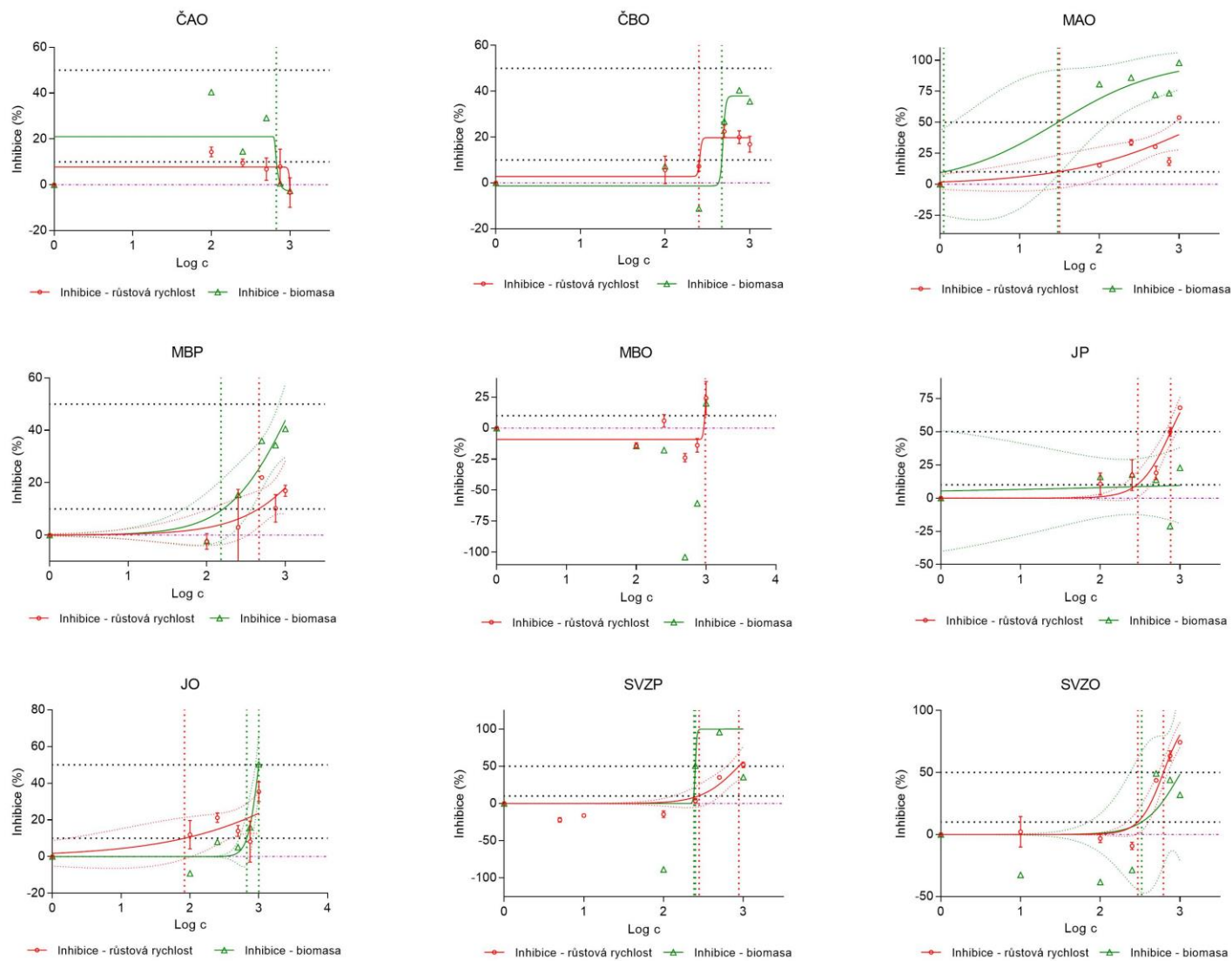




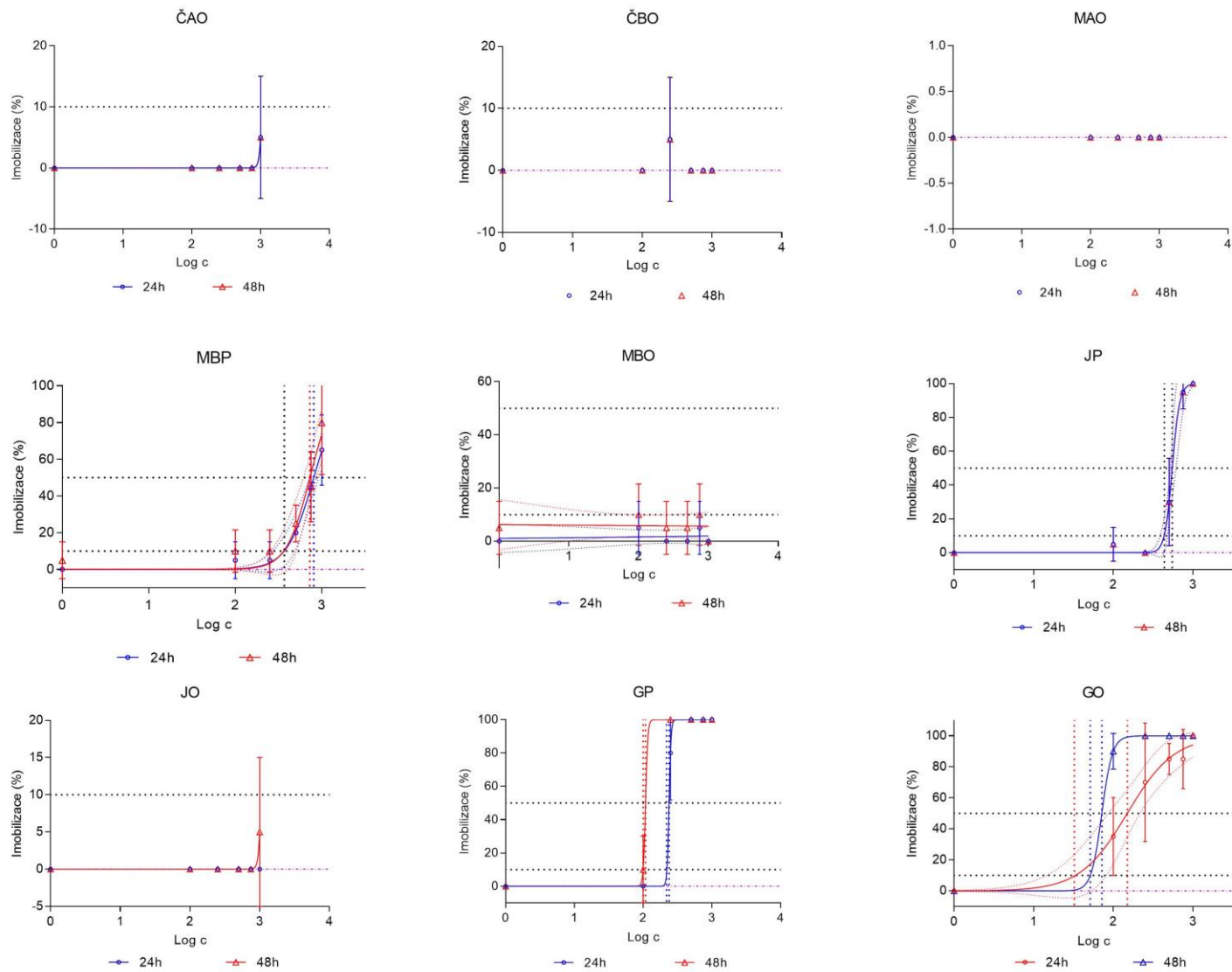
Obr. 20. Křivky dávka-odpověď vzorků filtrátů hasebních prostředků z půdy Lufa 2.3 pro organismus *D. magna*.



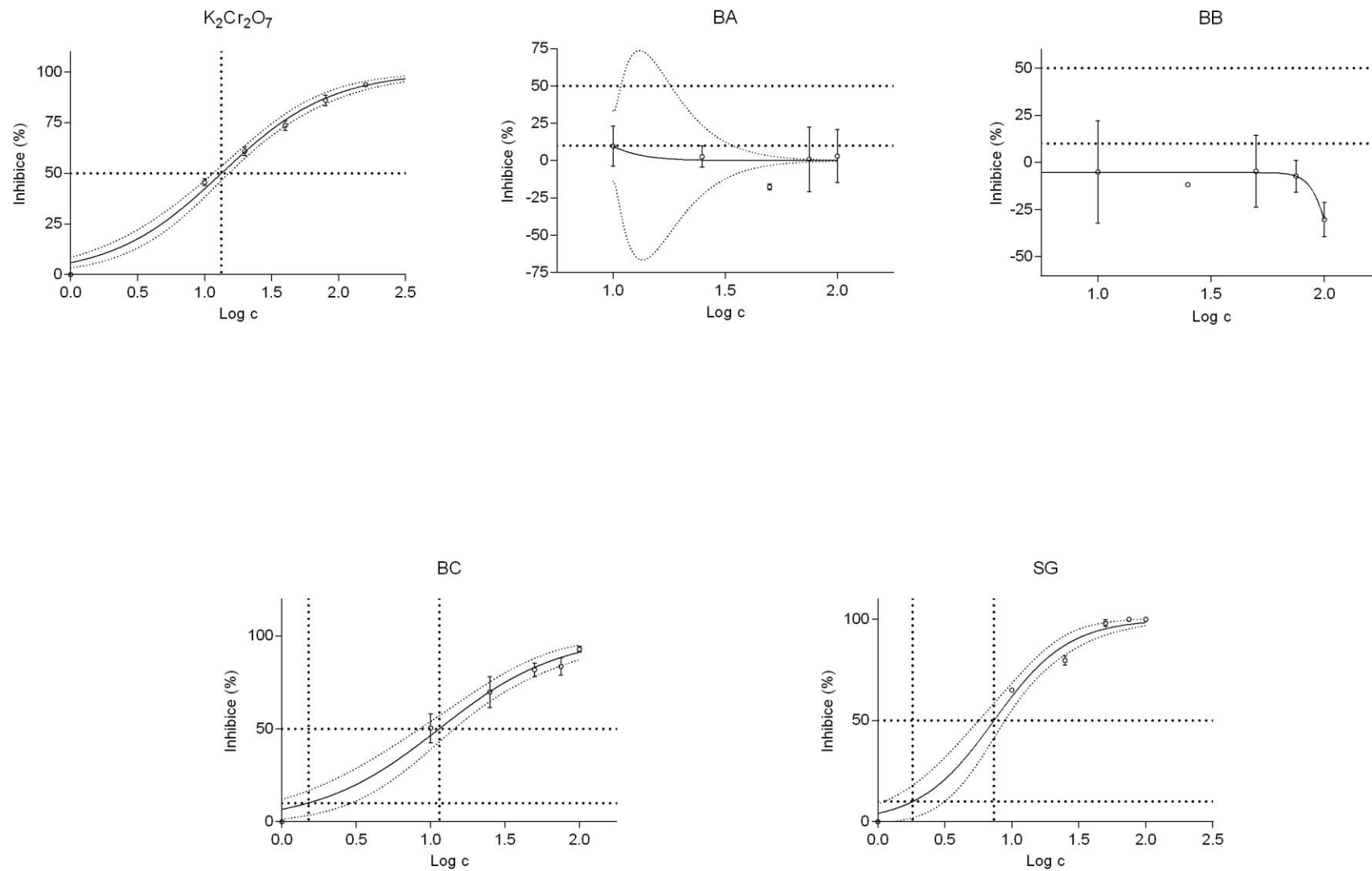
Obr. 21. Křivky dávka-odpověď vzorků odpadních vod pro organismus *S. alba*.



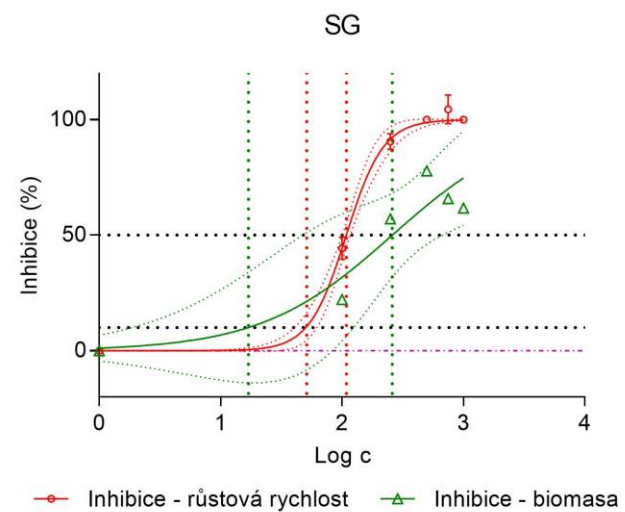
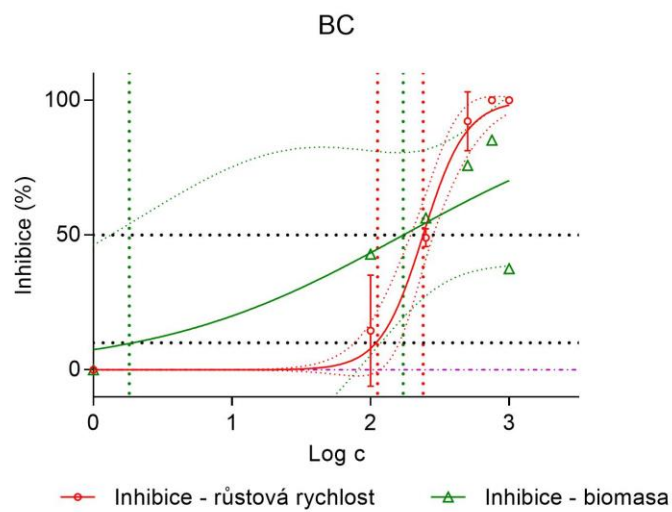
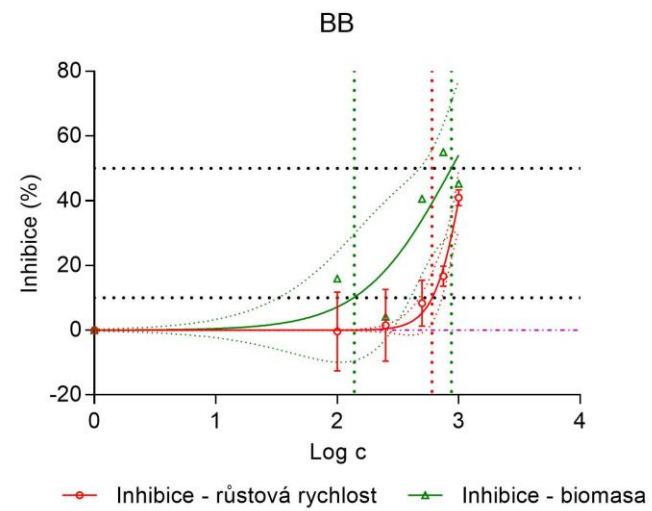
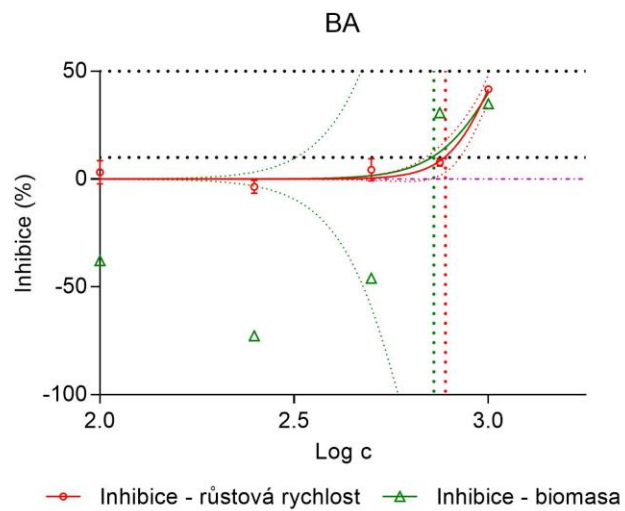
Obr. 22. Křivky dávka-odpověď vzorků odpadních vod pro organismus *L. minor*.



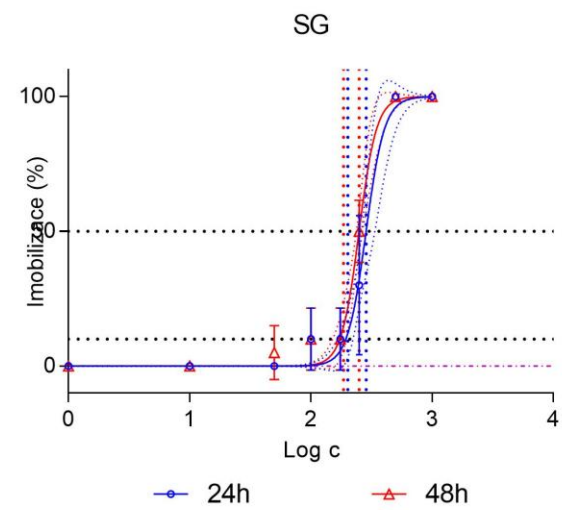
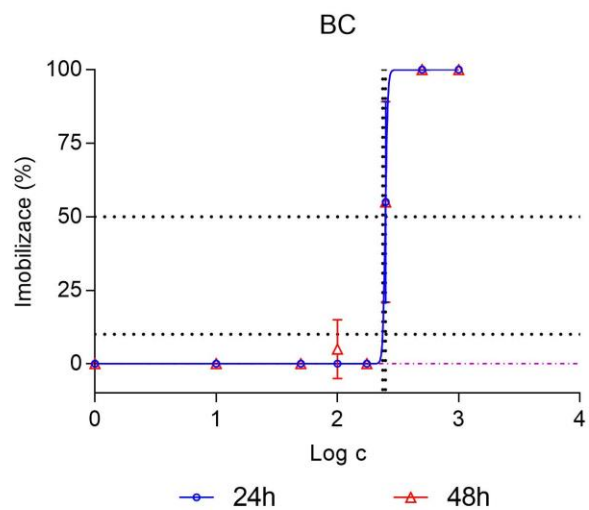
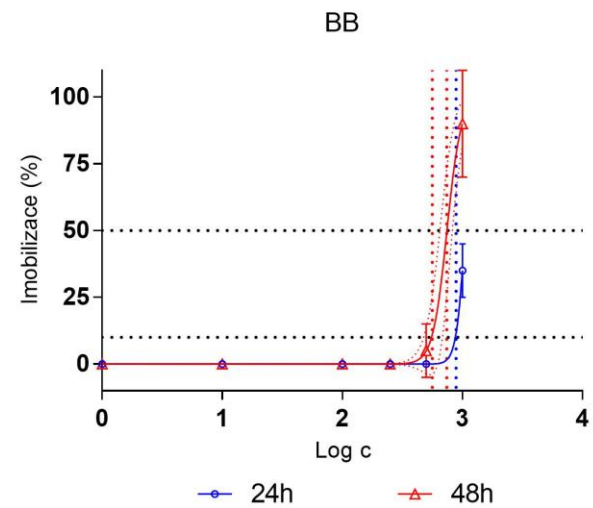
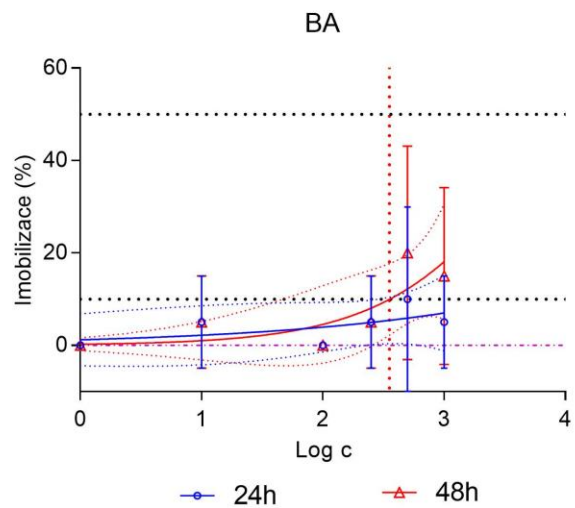
Obr. 23. Křivky dávka-odpověď vzorků odpadních vod pro organismus *D. magna*.



Obr. 24. Křivky dávka-odpověď vyluhů jednotlivých vzorků biocharu pro organismus *S. alba*.



Obr. 25. Křivky dávka-odpověď výtluhů jednotlivých vzorků biocharu pro organismus *L. minor*.



Obr. 26. Křivky dávka-odpověď vyluhů jednotlivých vzorků biocharu pro organismus *D. magna*