



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

ENV007

Vzorkování a základní chemické a biologické analýzy v hodnocení životního prostředí podzim 2012

Analýzy a testy půd

doc. RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

hofman@recetox.muni.cz



evropský
sociální
fond v ČR



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

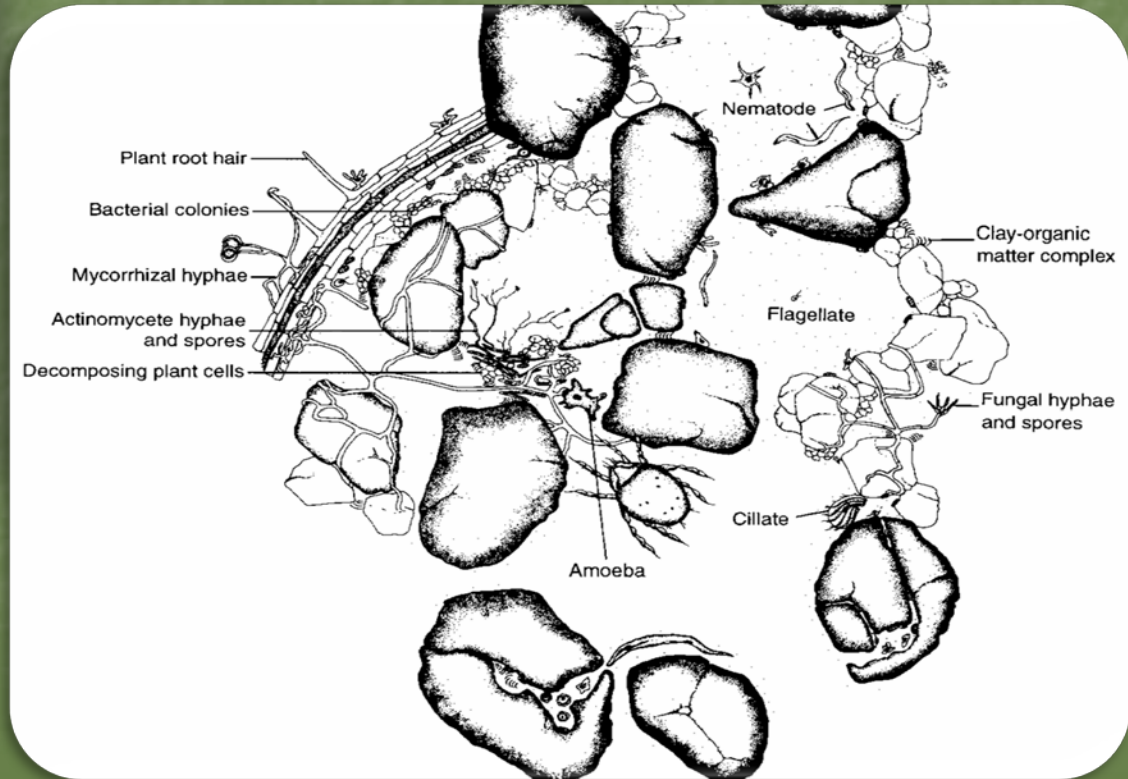
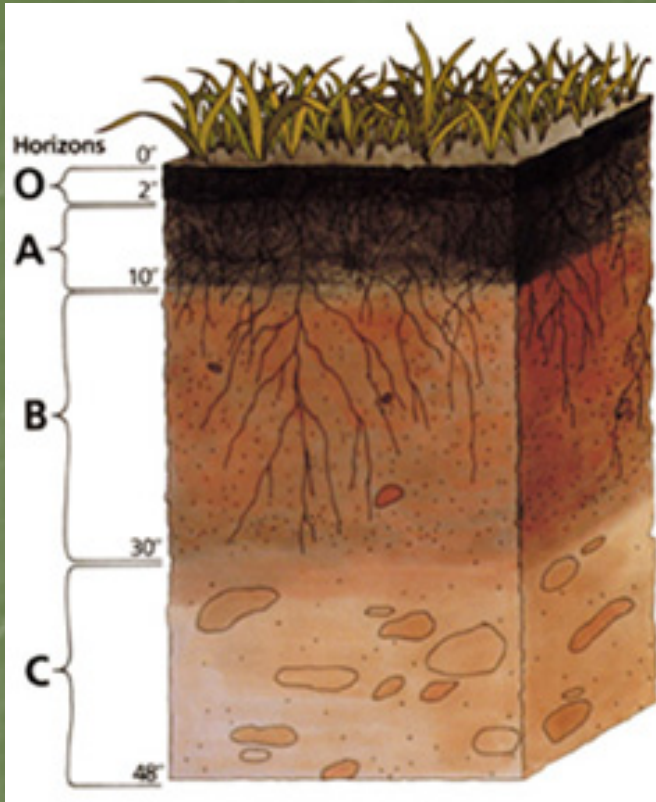


OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Půda



Význam půdy



- Klíčová složka přírody, krajiny
- Neobnovitelný přírodní zdroj
- Množství nenahraditelných **funkcí** v terestrických ekosystémech
- Produkční schopnosti půdy - základna (substrát) pro růst rostlin, nadána úrodností, zásobárna makro- a mikroelementů a živin, tvorba humusu
- Základní článek (počátek i konec) potravního řetězce a cyklů prvků a látek v terestrických ekosystémech:
 - vstup látek (i cizorodých) do potravních řetězců
 - dekompoziční a mineralizační procesy v půdě
- Filtrační a dekontaminační prostředí - interakce s atmosférou a hydrosférou (někdy naopak prostředí akumulace)
- Pufrační schopnosti půdy a role v hydrologickém cyklu
- Zásobárna biodiverzity (*soil metagenome*)



Vlastnosti a atributy půdy

- **vlastnosti půd** souvisí s jejich funkcemi, jejich změny mohou změnit **půdní funkce**
- vlastnosti jsou chápány jako charakteristiky **měřitelné v přesných termínech a mírách**, například textura, barva, teplota, pH, obsah C, biomasam respirace apod. (budou probírány v části věnované pedologii)
- **atributy půd** jsou charakteristiky obtížně měřitelné, hůře definovatelné
- nejužívanější atributy půdy:
 - úrodnost
 - produktivita
 - resilience
 - biodiverzita
 - kvalita a zdraví půdy
 - někdy se sem řadí i struktura půdy
 - lze sem zařadit i degradace půdy jako protipól kvality a zdraví



Vlastnosti půd

- Dělíme na fyzikální, chemické a biologické
- Podobně jsou rozděleny i **indikátory půdní kvality**
- **Fyzikální vlastnosti:** textura, struktura, specifická hmotnost, barva a teplota půdy, vlhkostní poměry
- **Chemické vlastnosti:** elementární složení, minerální složení, složení půdního roztoku a vzduchu, obsah a složení půdní organické hmoty, stav půdních koloidů a půdního sorpčního komplexu, půdní reakce, vodivost, redox potenciál
- **Biologické vlastnosti:** biomasa, počty, aktivita, přeměny dusíku, struktura společenstva
- **Technologické vlastnosti půdy:** koheze, adheze, konzistence, uléhavost, hutnost, orební odpor, bobtnání, kornatění, rozprašování apod.



Fyzikálně - chemické vlastnosti půd

Sada parametrů při provádění rutinního monitoringu:

- zrnitost - půdní textura (obsah jílu, prachu, písku, půdní druh)
- pH [pH(H₂O) a pH(KCl)]
- CEC (kationtová výměnná kapacita, obsahy kationtů Ca, Mg, K a H)
- Nasycení sorpčního komplexu
- OM, C_{org}
- N_{tot}
- Q_{4/6} + parametry humusu (HA:FA, c_{HL})
-



Např. Úrodnost půdy

- pseudo-hodnocení půdní úrodnosti = orientační stanovení rozpětí optimálních hodnot hlavních agrochemických vlastností z hlediska půdní úrodnosti - obsah organických látek, půdní reakce a obsah živin

Vlastnost	Rozpětí hodnot	Druh rozboru
Obsah humusu	1 - 3 %	celkový
Kvalita humusu	1 - 3	poměr hum.kyseliny-fulvokyseliny
Kvalita humusu	10	poměr C : N
N minerální	20 - 50 mg.kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ + NO ₃ ⁻
Ca	500 - 4000 mg.kg ⁻¹	výměnný
Fe	8 - 75 mg.kg ⁻¹	výluh DTPA
pH	5,5 - 7,6	výměnné



Indikátory půdní kvality

Musí vyhovovat těmto kritériím:

- korelace s procesy v ekosystémech (modelování)
- musí zahrnovat všechny (většinu) vlastnosti půd a tak být použitelné pro odhad vlastností, které se nedají snadno měřit
- musí být snadno měřitelné v terénu
- musí být citlivé na změny technologií a přírodních poměrů (klíma), avšak necitlivé na krátkodobé změny,
- soubor indikátorů musí zahrnovat již sledované charakteristiky

Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (1997): **Biological indicators of soil health**. CAB International, Wallingford. ISBN 0851991580.

Doran, J. W., Parkin, T. B. (1994): **Defining and assessing soil quality**. In: Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA special publication number 35. SSSA, Inc., American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA, 1994, pp. 3 – 21.

Sáňka, M., Materna, J. (2004): **Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR**. Edice Planeta. Odborný časopis pro životní prostředí. Ročník XII, číslo 11/2004, ISSN 1213-3393.



Indikátory půdní kvality

- Příklad souboru vlastností půd využitelných jako indikátory kvality a zdraví půdy a vztah indikátorů k funkcím půdy

Skupina vlastností	Vlastnost	Vztah k určité funkci půdy						
		Podzemní vody	Povrchové vody	Ovzduší	Eroze	Kvalita rostlin	Kvalita živočichů	Zdraví
Fyzikální	textura	+	+	+	+	+		
	objemová hmotnost	+	+		+	+		
	infiltrace vody	+	+		+	+		
	polní vodní kapacita	+	+	+	+	+		
Chemické	celkový organický Corg	+	+	+	+	+	+	+
	celkový organický Norg	+	+			+		
	pH	+	+	+		+		+
	elektrická vodivost	+	+	+		+	+	+
	extrahovatelný NH ₄ ⁺	+	+			+		
	NO ₃ ⁻	+	+			+		
	extrahovatelný P	+	+			+		
	výměnný K	+	+			+		
Biologické	uhlík mikrobiální biomasy	+	+			+		
	dušík mikrobiální biomasy	+	+			+		
	mineralizovatelný dusík	+	+			+		
	respirace půdy	+	+	+		+		

Doran, J.W. and Jones, A.J. (1996): Methods for assessing soil quality. SSSA Special Publication Number 49. Soil Science Society of America, Inc., Madison.



Degradace půdy

- eroze půdy (vodní, větrná)
- acidifikace půdy,
- salinizace a alkalizace půdy,
- degradace fyzikálních vlastností půdy (poškození struktury, utužení, slévavost povrchu),
- extrémní vodní režim (přemokření, zaplavení, sucho)
- biologická degradace (snížení obsahu a kvality POH, poškození populací organismů),
- nežádoucí změny obsahu živin v půdě (vyplavování, imobilizace)
- snížení pufrační schopnosti (poškození SK) a znečištění polutanty



Půdní kontaminace, polutanty

- Polutanty – prvky či látky přirozeného či antropogenního původu, jejichž koncentrace se stala přirozeně, či vlivem člověka zvýšenou natolik, že působí škodlivé účinky
- Většinou chemické látky poškozující zdraví organismů či fungování společenstev a ekosystémů
- Cizorodé látky (xenobiotika) – ty, které nemají přirozený původ
- **Skupiny polutantů (tedy i půdních):**
 - Plyny (SO_2 , NO_x , O_3 ...)
 - Prach, saze, částice
 - Minerální sloučeniny N, P, S
 - Těžké kovy, hliník a další kovy, azbest
 - Organické sloučeniny (pesticidy, ropné látky, PCBs, PAHs, VOCs ...)
 - Radionuklidy



Politika a legislativa ochrany půd

- Ochrana půdy musí být **zakotvena v mezinárodní i národní politice a legislativě**
- Potřeba tvorby ucelených strategií jak **evidovat, hodnotit a sanovat** kontaminované oblasti
- Potřeba účinné legislativy fungující jako systém **preventivní ochrany půd před kontaminací**

Nejčastější tři přístupy:

- definováním limitních obsahů kontaminantů **v půdách**
- definováním limitních obsahů kontaminantů **ve vstupech do půd**
- definováním rizik **pro nové chemické látky a biocidy**
- Výsledkem by mělo být zabránění další kontaminaci, zhodnocení stavu půd, **vyhodnocení rizik** a náprava situace do stavu **akceptovaného rizika**
- Potřeba implementovat moderní metody hodnocení humánních i ekologických **rizik** (příklad vyspělého systému je v Holandsku)
- Potřeba zapojit moderní nástroje půdní ekotoxikologie (hodnocení biodostupnosti a biotesty)



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

- Vyhláška č. 13/1994 Sb., o podrobnostech ochrany ZPF, vymezuje limity obsahů rizikových prvků a rizikových látek v půdě
 - pouze ZPF, neřeší půdy obecně, např. lesní půdy
 - není podrobně specifikován postup v případě, že je zjištěno překročení limitů
 - nejsou založeny na účinku
 - jde pouze jeden stupeň hodnot maximálních přípustných obsahů
- lesní půdy řeší z části: zákon č. 289/1995 Sb., o lesích
- Existuje návrh nové hierarchické třístupňové soustavy limitů (preventivní, indikační, asanační) reflektující rizika
- Limity pro hodnocení starých ekologických zátěží – kritéria MŽP z roku 1996



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

Vyhláška č.13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. Příloha č.1.

Prvky	Maximálně přípustné hodnoty (mg.kg ⁻¹)			
	Výluh 2M HNO ₃ (1:10)		Celkový obsah (rozklad lučavkou královskou)	
	lehké půdy	ostatní půdy	lehké půdy	ostatní půdy
As	4,5	4,5	30,0	30,0
Be	2,0	2,0	7,0	7,0
Cd	0,4	1,0	0,4	1,0
Co	10,0	25,0	25,0	50,0
Cr	40,0	40,0	100,0	200,0
Cu	30,0	50,0	60,0	100,0
Hg	-	-	0,6	0,8
Mo	5,0	5,0	5,0	5,0
Ni	15,0	25,0	60,0	80,0
Pb	50,0	70,0	100,0	140,0
V	20,0	50,0	150,0	220,0
Zn	50,0	100,0	130,0	220,0



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

Ukazatel znečištění zeminy	Hodnota přípustného znečištění (mg.kg ⁻¹ sušiny)
<i>I. Anorganické látky</i>	
B	40
Br	20
F	500
CN celkové	5
CN	1
S (sulfatická)	2
<i>II. Organické látky</i>	
<i>a) Aromatické uhlovodíky a jejich deriváty</i>	
benzen	0,05
etylbenzen	0,05
fenol	0,05
xyleny	0,05
aromáty celkem	0,3
<i>b) Polycyklické aromatické uhlovodíky</i>	
antracen	0,01
benzo(a)antracen	1
benzo(a)pyren	0,1
fenatren	0,1
fluoranten	0,1
chrysen	0,01
naftalen	0,1
polycyklické aromatické uhlovodíky celkem	1



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

<i>c) Chlorované uhlovodíky</i>	
alifatické (jednotlivé)	0,1
alifatické (celkem)	0,1
chlorobenzeny (jednotlivé)	0,01
chlorfenoly (jednotlivé)	0,01
PCB	0,01
EOCI (extrahovatelný organicky vázaný chlor)	0,1
<i>d) Pesticidy</i>	
organické chlorované (jednotlivé)	0,01
organické chlorované (celkem)	0,1
ostatní (jednotlivé)	0,01
ostatní (celkem)	0,1
<i>e) Ostatní</i>	
cyklohexanol	0,1
pyridin	0,1
styren	0,1
nepolární uhlovodíky (celkem)	50



Monitoring půd v ČR

Parametry stanovené jednorázově při založení pozorovací plochy

- identifikace a záznam informací o monitorovací ploše
- popis půdní sondy
- analýzy fyzikálních parametrů (kompletní rozbor porušených a neporušených vzorků z půdní sondy)

Parametry sledované v šestileté periodě

- aktivní a výměnná půdní reakce
- obsahy přístupných živin - P, K, Mg, Ca analyzováno několika metodami
- obsahy mikroelementů (B, Mo, Mn, Zn, Cu, Fe)
- sorpční kapacita (S, T, V)
- obsah organické hmoty (Cox)
- obsahy rizikových prvků ve výluhu 2M HNO₃ (As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, V, Zn) a extraktu lučavkou královskou (Al, As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, V, Zn) celkový obsah rtuti

Ročně sledované parametry

- obsah minerálního dusíku
- vybrané mikrobiologické a biochemické parametry
- obsahy vybraných organických polutantů (persistentní organochlorové pesticidy, PCB, PAH)
- obsahy rizikových prvků v rostlinách na vybraném souboru ploch



Monitoring půd v ČR

Parametr		Termín sledování	Četnost sledování
Fyzikálně-chemické vlastnosti půdy	momentní vlhkost, maximální kapilární vodní kapacita, pórovitost, momentní vzdušnost, minimální vzdušná kapacita, měrná hmotnost, objemová hmotnost redukováná, zrnitostní složení	při založení	jednorázově
Agrochemické vlastnosti půdy	aktuální kationtová výměnná kapacita, C_{ox} , N_{act} , aktivní půdní reakce, výměnná půdní reakce; přístupné prvky – P, K, Ca, Mg (Mehlich III), Cu, Zn, Mn, Fe (Lindsay a Norvell), B (Berger a Truog), Mo (Grigg)	od r. 1992	šestiletá perioda
Chemické vlastnosti, anorganická kontaminace	2M HNO ₃ - As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V, Zn); lučavka královská - Al, As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, V, Zn; Hg _{tot}	od r. 1992	šestiletá perioda
Chemické vlastnosti, organická kontaminace	PCB	kongenery 138, 153, 180	od r. 1994
		kongenery 28, 52, 101	od r. 1998
		kongener 118	od r. 2000
	PAH (16 individuálních uhlovodíků)	od r. 1997	každoročně
	organochlorové pesticidy - α HCH, β HCH, γ HCH, HCB, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT	1994–1997, od r. 2000	
Mikrobiální vlastnosti	uhlík mikrobiální biomasy (C_{bio}), dusík mikrobiální biomasy (N_{bio}), bazální respirace (RES), anaerobní N mineralizace, nitrifikační aktivita, délka hyf půdních hub mikroskopicky, biolog test (funkční diverzita)	od r. 1999	
Rostliny	As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Sb, Tl, V, Zn	od r. 1997	
Atmosférické depozice	N-NO ₃ , N-NH ₄ , chloridy, sírany	od r. 1993	měsíčně
	Al, As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, V, Zn		pololetně



Nové návrhy limitních hodnot*

- **hierarchické třístupňové soustavy limitů**
 - Preventivní limit: pozad'ové obsahy, při jejich překročení by mělo být zabráněno dalším vstupům kontaminantů
 - Indikační limit: nebezpečí zvýšeného přestupu kontaminantů z půdy do rostlin, překročení kritických obsahů v rostlinné produkci, při jeho překročení by měl být proveden výzkum na lokalitě s cílem zjistit skutečné riziko
 - asanační limit: nutné přistoupit k remediaci půd, buď snížením mobility, biodostupnosti a rizikovosti či přímo odstraněním kontaminantů
- Zahrnutím rizika se tento nový systém podobá již některým vyspělých zahraničním systémům (např. systému holandskému)
- podoba s kriterii znečištění zemin MŽP pro SEZ

* Sáhka, M., Němeček, J., Podlešáková, E., Vácha, R., Beneš, S. (2002): Vypracování kritických hodnot obsahů rizikových prvků a organických cizorodých látek v půdě a jejich příjem rostlinami z hlediska ochrany kvality a kvantity zemědělské produkce. Zpráva MŽP, 2002, s. 1 – 60.

* Sáhka, M. a Vácha, R. (2006): Hodnocení limitů rizikových látek pro půdy v normativních předpisech ČR a vybraných evropských zemí. Vstupní studie pro účely aktualizace legislativy v ochraně půdy se zvláštním zřetelem na organické rizikové látky. MŽP.



Limitní hodnoty ČR

- **kritéria znečištění zemin a podzemní vody** z metodických pokynů MŽP z 90. let
- Tato kritéria jsou použitelná zejména pro hodnocení městských a průmyslových, antropogenně narušených půd v případech provádění ekologických auditů a jsou stanovena s ohledem na ekologická a zdravotní rizika.



Limitní obsahy polutantů v půdě

Věstník MŽP 3/1996: Metodický pokyn odboru pro ekologické škody MŽP - Kriteria znečištění zemin a podzemní vody, Praha 1996. Příloha 1.

Kritéria A odpovídají přibližně **přírozeným obsahům** sledovaných lprvků (látek) v přírodě (v souvislosti s uzančně stanovenou mezí citli-vosti analytického stanovení). Pokud kritéria A nejsou překročena, nejedná se o znečištění, ale o přírozené obsahy sledovaných látek. Výjimku tvoří oblasti, kde je dokumentován přírozený výskyt sledovaných látek ve vyšších koncentracích (využití výsledků prezentovaných v souboru map geochemických reaktivit hornin - ČGÚ Praha, 1995). Překročení kritérií A se posuzuje jako znečištění příslušné složky životního prostředí vyjma oblastí s přírozeným vyšším obsahem sledovaných látek. Pokud však nejsou překročena kritéria B, znečištění není pokládáno za tak významné, aby bylo nutné získat podrobnější údaje pro jeho posouzení, tedy zahájit průzkum nebo znečištění monitorovat. Další postup je ponechán na rozhodnutí orgánu státní správy v místě, který zváží další okolnosti, které s případem souvisí a může zahájit další šetření.

Kritéria B jsou uměle zavedená kritéria, která jsou pro sledované látky daná přibližně aritmetickým průměrem kritérií A a C. **Překročení kritérií B se posuzuje jako znečištění**, které může mít negativní vliv na zdraví člověka a jednotlivé složky životního prostředí. Je třeba shromáždit další údaje pro posouzení, zda se jedná o významnou ekologickou zátěž a jaká jsou rizika s ní spojená. Kritéria B jsou tedy vytvořena jako intervenční hladiny, při jejichž překročení je nezbytné se znečištěním dále zabývat. Překročení kritérií B vyžaduje předběžně hodnotit rizika plynoucí ze zjištěného znečištění, zjistit jeho zdroj a příčiny a podle výsledku rozhodnout o dalším průzkumu či zahájení monitoringu.

Kriteria C: Při odvození kritérií C byly zohledněny fyzikálně-chemické, toxikologické, ekotoxikologické popř. další (např. sensorické) vlastnosti látek. Kritéria C pro zeminu jsou uvedena pro jednotlivé typy plánovaného užití území (C-obyt., C-rekr., C-prům.). Pro vyhodnocení analytických výsledků bylo v daném případě použito C-obyt (obytné využití území), tzn. **využití území** při kterém mohou být lidé vystaveni působení kontaminantů při bydlení. Při tomto využití se předpokládá, že člověk může strávit v daném místě 350 dní v roce po dobu 30 let. Cestou vstupu kontaminantu do lidského organismu může být přímá expozice (např. použití kontaminované vody, inhalace kontaminovaného prachu) tak nepřímá (např. konzumací pěstované zeleniny). Zvýšenou pozornost je třeba věnovat odběru vzorků. Je nezbytné postupovat podle technických norem, v případě že takové normy neexistují, použijí se osvědčené metody podle vnitřních směrnic toho, kdo vzorek odebírá. Odkaz na vnitřní směrnice musí být uveden v protokolu o provedeném odběru vzorků a směrnice musí být na vyžádání k dispozici.



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

Věstník MŽP 3/1996: Metodický pokyn odboru pro ekologické škody MŽP - Kriteria znečištění zemin a podzemní vody, Praha 1996. Příloha 1.

Kontaminant	ZEMINA - mg.kg ⁻¹ sušiny					
	A	B	C	C	C	C
			obyt.	rekr.	prům.	všestr.
I. Kovy						
As	30	65	70	100	140	55
Ba	600	900	1000	2000	2800	625
Be	5	15	20	25	30	
Cd	0,5	10	20	25	30	12
Co	25	180	300	350	450	240
Cr celk.	130	450	500	800	1000	380
Cr ⁺⁶	2	12	20	25	50	
Cu	70	500	600	1000	1500	190
Hg	0,4	2,5	10	15	20	10
Mo	0,8	50	100	160	240	100
Ni	60	180	250	300	500	210
Pb	80	250	300	500	800	300
Sb	1	25	40	50	80	
Sn	15	200	300	400	600	
V	180	340	450	500	550	
Zn	150	1500	2500	3000	5000	720



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

Kontaminant	ZEMINA - mg.kg ⁻¹ sušiny					
	A	B	C	C	C	C
			obyt.	rekr.	prům.	všestr.
II. Monocyklické aromatické uhlovodíky (nehalogenované)						
benzen	0,03	0,5	0,8	1	5	1
ethylbenzen	0,04	25	50	60	75	50
toluen	0,03	50	100	120	150	100
xyleny	0,03	25	30	50	75	25
Suma jednosytných fenolů	0,05	25	50	60	120	50
styren	0,03	15	30	50	75	30
III. Polycyklické aromatické uhlovodíky						
antracen	0,1	40	60	80	100	
benzo(a)antracen	0,1	4	5	10	50	
benzo(a)pyren	0,1	1,5	2	4	10	
benzo(b)fluoranten	0,1	4	5	10	50	
benzo(ghi)perylen	0,05	20	30	40	80	
benzo(k)fluoranten	0,05	10	15	20	30	
fluoranten	0,3	40	50	80	150	
fenantren	0,15	30	40	60	100	
chrysen	0,05	25	40	50	80	
indeno(1,2,3cd)pyren	0,1	4	5	10	50	
naftalen	0,05	40	60	80	100	
pyren	0,2	40	60	80	100	
PAHs celkem - suma výše uvedených PAHs bez antracenu, naftalenu a benzo(b)fluorantenu	1	190	280	380	640	
PAHs celkem						40



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

Kontaminant	ZEMINA - mg.kg ⁻¹ sušiny					
	A	B	C	C	C	C
			obyt.	rekr.	prům.	všestr.
IV. Monocyklické aromatické uhlovodíky (halogenované)						
jednotlivé chlorbenzeny (mimo dále uvedené)	0,05	2,5	3	5	10	
chlorfenoly jednotlivě	0,05	1,5	2,5	4	10	
V. Pesticidy organické (poly)chlorované						
jednotlivé (rozumí se především aldrin, dieldrin, endrin, DDD, DDE, DDT, chlordan, endosulfan, hexachlorobutadien, HCHs, heptachlor, methoxychlor, pentachloronitrobenzen, toxaphen)	0,05	2	2,5	5	10	2,5
VI. Pesticidy ostatní						
jednotlivé (rozumí se především organofosfáty, karbamáty, triaziny, herbicidy na bázi chlorfenoxyoctových kyselin, halogenové alifatické pesticidy, fenolové herbicidy, aromatické chloraminy, dithiokarbamáty, sloučeniny na bázi organického cínu, halogenované aromatické nitrosloučeniny)	0,05	3	4	7,5	12	
VII. Chlorované alifatické uhlovodíky						
jednotlivé mimo dále uvedené (rozumí se především 1,1-dichlorethan, 1,1,1-trichlorethan, 1,1,2-trichlorethan, 1,1,2,2-tetrachlorethan, 1-chlor-2,3-epoxypropan, 2-chloro-1,3-butadien, hexachlorethan)	0,001	15	20	30	50	
1,2-dichlorethan	0,001	15	20	30	50	
1,1 dichlorethen	0,001	1,5				
1,2-dichloretheny	0,001	15	20	30	40	
dichlormethan	0,001	7	10	15	20	
tetrachlorethen	0,001	1,5	2	3	5	2
tetrachlormethan	0,001	0,5	0,4	1	2	0,5
trichlorethen	0,001	10	15	20	40	15
trichlormethan	0,002	5	8	10	15	8
chlorethen (vinylchlorid)	0,001	0,1	0,12	0,25	1	
VIII. Ostatní alifatické uhlovodíky (směsné, nehalogenované)						
Nepolární extrahovatelné uhlovodíky celkem	100	400	500	750	1000	500
IX. Ostatní aromatické uhlovodíky (halogenované)						
PCBs (suma kongenerů PCB 28,52,101,118,138,153 a 180)	0,02	2,5	5	10	30	1
PCDDs/Fs (vyjádřeno v ng 1-TEQ TeCDD.g ⁻¹)	0,001	0,1	0,5	1	10	



Limitní obsahy polutantů v půdě ČR

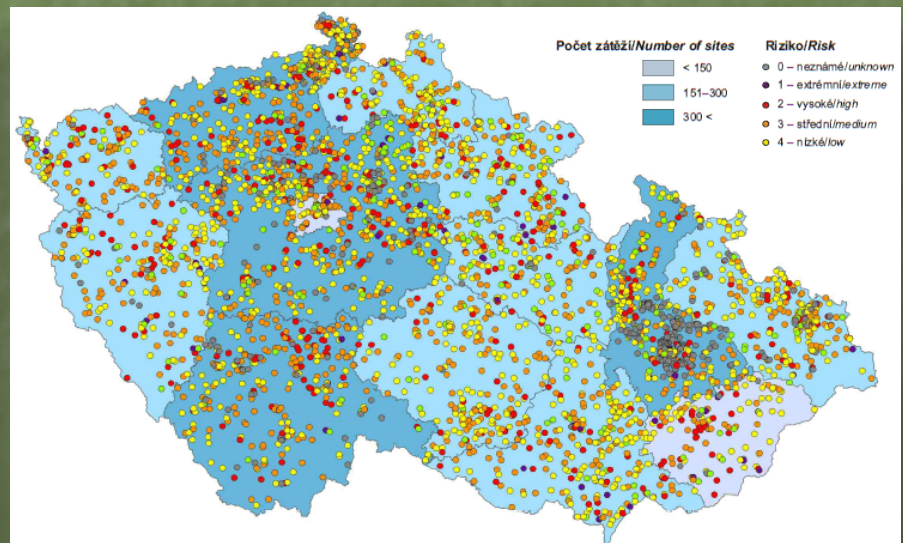
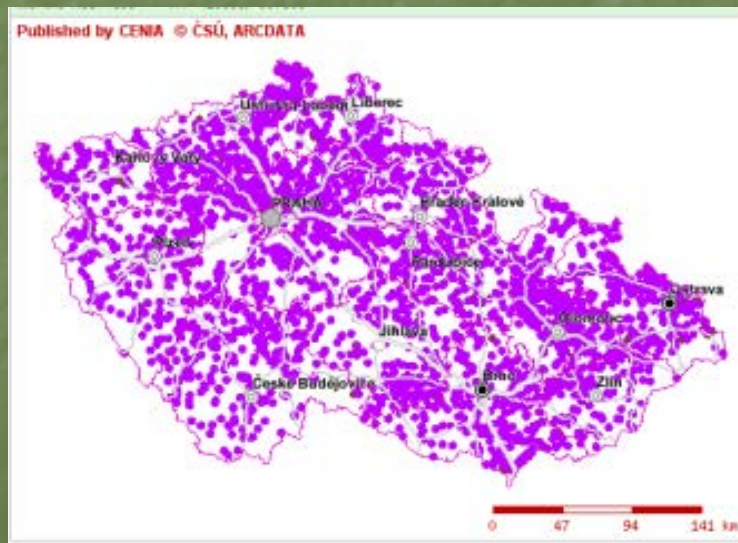
Kontaminant	ZEMINA - mg.kg ⁻¹ sušiny					
	A	B	C	C	C	C
			obyt.	rekr.	prům.	všestr.
X. Ostatní						
<i>Anorganické látky</i>						
Br	20	160	200	300	500	
Cl						
F	500	1000	1200	1500	2000	
kyanidy/thiokyanáty volné	1,5	8	10	15	30	20
kyanidy komplexotvorné pH < 5	7	100	150	500	700	150
kyanidy komplexotvorné pH ≥ 5	7	15	20	50	75	20
<i>Organické látky</i>						
cyklohexanon	0,01	50	60	100	250	
dinitrotoluen	0,1	3	5	7	15	
flaláty celkem	0,01	30	40	60	80	40
hydrochinon	0,1	5	8	10	15	
chlornaftalen	0,1	2,5	1	5	10	
katechol	0,05	10	15	20	30	
kresoly	0,05	2,5	3	5	10	
nitrotoluen	0,1	4	5	10	20	
pyridin	0,1	0,5	0,75	1	2,5	0,75
resorcinol	0,01	5	8	10	15	
tetrahydrofuran	0,01	1	2	5	10	0,4
tetrahydrothiophen	0,1	30	40	60	100	90
trinitrotoluen (TNT)	0,1	1	2	5	10	



Staré ekologické zátěže

■ Systém evidence kontaminovaných míst (SEKM)

- zpřístupněn agenturou CENIA
- evidence zátěží životního prostředí, resp. kontaminovaných míst obecně
- obsahuje evidenci **starých ekologických zátěží (SEZ)**
- SEZ databáze průběžně aktualizována a kontinuálně doplňována o nové lokality



Limitní hodnoty v EU

- každý evropský stát má ve své legislativě předpis pro hodnocení kontaminace půd, přístup k řešení této problematiky je však velmi rozdílný:
 - různé systémy limitních hodnot (tzv. screening values, SCs)
 - jednoduché i složitější metody rizikové analýzy
 - přechodové stupně mezi limitními hodnotami a metodami rizikové analýzy



Carlou, C. (2007): Derivation methods of soil screening values in Europe. A review and evaluation of national procedures towards harmonization. European Commission, Joint Research Centre, Ispra, EUR 22805-EN, 306 pp.

HERACLES project: HUMAN AND ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT FOR CONTAMINATED LAND IN EUROPEAN MEMBER STATES. Towards the development of common references



Limitní hodnoty v EU

- **nejvyspělejší systém limitních obsahů** – Holandsko - limity jsou stanoveny na základě rizika:
 - Maximum Permissible Concentration – MPC
 - Negligible Concentration – NC
- vychází z dat o humánní toxicitě a ekotoxicitě (zpracovány statistickými výpočty a extrapolacemi a opatřeny bezpečnostními faktory)

De Bruijn, J., Crommentuijn, T., van Leeuwen, K., van der Plassche, E., Sijm, D., van der Weiden, M. (1999): Environmental Risk Limits in The Netherlands. RIVM Rapport 601640001. pp. 900.

De Vries, W. and Bakker, D.J. (1998): Manual for Calculating Critical Loads of Heavy Metals for Terrestrial Ecosystems. Guidelines for Critical Limits, Calculation Methods and Input Data. Report 166. DLO Winand Staring Centre, Wageningen, The Netherlands, 144 pp.



Regulace vstupů kontaminantů do půdy

Preventivní ochrana půdy před vstupy - kombinace limitů, hodnocení rizika a nově i ekotoxikologie

■ Legislativa pro chemické látky a pesticidy



směrnice 91/414/EEC a 98/8/EC (biocidy)
nařízení 793/93/EC, směrnice 67/548/EEC (chemikálie)
směrnice 1907/2006/EC (REACH)



zákon 356/2003 Sb. a vyhláška 222/2004 Sb. (chemikálie)
vyhláška č. 329/2004 Sb. (pesticidy)

■ Legislativa pro aplikaci hnojiv, kalů ČOV a podobných materiálů na půdu + legislativa odpadů



směrnice 91/689/EEC (odpady)
nařízení 2003/2003/EC (hnojiva)
směrnice 86/278/EEC (kaly ČOV)



vyhláška 474/2000 Sb. (hnojiva)
vyhláška 382/2001 Sb. (kaly ČOV)
vyhlášky 383/2001 Sb. a 294/2005 Sb. (odpady)
vyhláška 257/2009 Sb. (sedimenty)



Vstupy ve hnojivech

- MZe (1998): Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), ve znění pozdějších předpisů.
- MZe (2000): Vyhláška č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva.
- Mze(1998): Vyhláška č. 275/1998 Sb., o agrochemickém zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků, ve znění pozdějších předpisů.
- MZe (2009): Vyhláška 257/2009 S., o používání sedimentů na zemědělské půdě.



Vstupy ve hnojivech

Příloha č. 1 k vyhlášce č. 474/2000 Sb.

Limitní hodnoty rizikových prvků v hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech

1. Minerální hnojiva, pomocné půdní látky, pomocné rostlinné přípravky

a) minerální hnojiva s fosforečnou složkou, u nichž je hmotnostní zlomek celkového fosforu jako P_2O_5 5 % a více:

mg/kg P_2O_5	mg/kg hnojiva			
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom
50	15	1,0	10	150

b) minerální hnojiva s fosforečnou složkou, u nichž je hmotnostní zlomek celkového fosforu jako P_2O_5 menší než 5 % , ostatní minerální hnojiva neobsahující fosfor, pomocné půdní látky, pomocné rostlinné přípravky:

mg/kg hnojiva, pomocné půdní látky, pomocného rostlinného přípravku				
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom
1 ¹⁾	10	1,0	10	50

c) minerální vápenatá a hořečnatovápenatá:

mg/kg vysušeného vzorku hnojiva				
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom
1,5	30	0,5	20	50



Vstupy ve hnojivech

2. Organická hnojiva, substráty, statková hnojiva

a) substráty:

mg/kg sušiny								
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom	měď	molybden	nikl	zinek
2 ²⁾	100	1,0	20	100	100	5 ³⁾	50	300

b) organická a statková hnojiva se sušinou nad 13 % :

mg/kg sušiny								
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom	měď	molybden	nikl	zinek
2	100	1,0	20	100	150	20	50	600

Poznámka: Maximální aplikační dávka 20 tun sušiny .ha⁻¹ v průběhu 3 let.

c) organická a statková hnojiva se sušinou nejvýše 13 % :

mg/kg sušiny								
kadmium	olovo	rtuť	arsen	chrom	měď	molybden	nikl	zinek
2	100	1,0	20	100	250	20	50	1200

Poznámka: Maximální aplikační dávka 10 tun sušiny .ha⁻¹ v průběhu 3 let.

3. Organominerální hnojiva

U organominerálních hnojiv podle složení hnojiva a způsobu jeho použití se uplatní limity pro minerální nebo pro organická hnojiva.

Vysvětlivky:

- 1) 5 mg/kg u hnojiv obsahujících pouze zinek jako součást určující typ.
- 2) 1 mg/kg pro substráty určené pro pěstování zeleniny a ovoce.
- 3) Neplatí pro substráty používané v zahradnictví vyjma těch, které jsou používány k pěstování ovoce a zeleniny.



Vstupy v sedimentu

- Limitní hodnoty rizikových prvků v půdě, na kterou má být sediment použit (mg/kg suchiny)

mg/kg	Sediment	Půda	
		Běžné půdy	Lehké půdy (písky, hlinité písky, štěrkopísky)
As	30	20	15
Be	5	2	1.5
Cd	1	0.5	0.4
Co	30	30	20
Cr	200	90	55
Cu	100	60	45
Hg	0.8	0.3	0.3
Ni	80	50	45
Pb	100	60	55
V	180	130	120
Zn	300	120	105
BTEX	0.4	-	-
PAHs	6	1	1
PCBs	0.2	0.02	0.02
C10 – C40	300	-	-
DDT	0.1	-	-



Vyhláška 257/2009 Sb.

- Před testy s rourpicemi a vyššími rostlinami jsou reprezentativní vzorek sedimentu i reprezentativní vzorek referenční půdy (půda, na kterou má být sediment použit) vysušeny při laboratorní teplotě, zhomogenizovány a přesáty přes síto 2 či 4 mm.
- Pro testy inhibice nitrifikace je referenční půdou nekontaminovaná půda splňující požadavky ISO 15685 (2004) a jak sediment tak referenční půda jsou vzorkovány, zpracovány a skladovány v souladu s ISO 10381-6 (2009): v přirozené vlhkosti, přes 2 mm síto, uchování v 4 °C maximálně dva týdny.
- Před testováním se hodnocený sediment smíchá s půdou v objemovém poměru 1:3, který vychází z maximálního povoleného poměru výšky použitého sedimentu a orničního profilu v vyhlášce.



ISO 16387 (2004)



11269-1 (1993)



ISO 15685 (2004)



ISO 11267 (1999)



Kaly ČOV

- Vyhláška 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě (prováděcí vyhláška k zákonu 185/2001 Sb. o odpadech)

Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových prvků v půdě (ukazatele pro hodnocení půd)

Mezní hodnoty koncentrací prvků v extraktu lučavkou královskou v mg.kg ⁻¹ sušiny v půdě								
	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Běžné půdy	20	0.5	90	60	0,3*	50	60	120
Písky, hlinité písky, štěrkopísky	15	0.4	55	45	0,3*	45	55	105

* celkový obsah Běžné půdy = mají více než 10% částic jílu (< 10 μm)

Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě (ukazatele pro hodnocení kalů)

Riziková látka	Mezní (maximální) hodnoty koncentrací v kalech (mg.kg ⁻¹ sušiny)
As - arzén	30
Cd - kadmium	5
Cr - chrom	200
Cu - měď	500
Hg - rtuť	4
Ni - nikl	100
Pb - olovo	200
Zn - zinek	2500
AOX	500
PCB (suma 6 kongenerů - 28+52+101+138+153+180)	0,6



Vstupy kontaminantů do půdy z odpadu

- Vysoká produkce odpadů → jeden z hlavních environmentálních problémů v ČR, EU a na celém světě
- EU*: za cca 1,3 miliardy tun odpadů, z toho cca 40 milionů tun odpad nebezpečný, plus cca 0,7 miliardy zemědělského odpadu
- tato množství v čase narůstají, například množství komunálního odpadu se do roku 2020 zvýší o dalších 25%
- takové množství odpadu a jeho zpracování má logicky **rozsáhlé dopady na životní prostředí**
- EEA**: 50–60 % odpadu spáleno či skládkováno (v ČR cca 70-80%)



Vstupy kontaminantů do půdy z odpadu

- MŽP (2001a): Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů.
- MŽP (2001c): Vyhláška č. 376/2001 Sb., o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů.
- MŽP (2001d): Vyhláška č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady.
- MŽP (2005): Vyhláška 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.



Vstupy kontaminantů do půdy z odpadu

Nejvýše přípustné hodnoty ukazatelů pro jednotlivé třídy vyluhovatelnosti

ukazatel	Třídy vyluhovatelnosti			
	I	IIa	IIb	III
	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
DOC (rozpuštěný organický uhlík)	50	80	80	100
Fenolový index	0,1			
Chloridy	80	1500	1500	2 500
Fluoridy	1	30	15	50
sírany	100	3000	2 000	5 000
As	0,05	2,5	0,2	2,5
Ba	2	30	10	30
Cd	0,004	0,5	0,1	0,5
Cr celkový	0,05	7	1	7
Cu	0,2	10	5	10
Hg	0,001	0,2	0,02	0,2
Ni	0,04	4	1	4
Pb	0,05	5	1	5
Sb	0,006	0,5	0,07	0,5
Se	0,01	0,7	0,05	0,7
Zn	0,4	20	5	20
Mo	0,05	3	1	3
RL (rozpuštěné látky) ¹⁾	400	8 000	6 000	10 000
pH		≥ 6	≥ 6	



Vstupy kontaminantů do půdy z odpadu

Příloha č. 10 k vyhlášce č. 294/2005 Sb.

Požadavky na obsah škodlivin v odpadech využívaných na povrchu terénu

Tabulka č. 10.1 Nejvýše přípustné koncentrace škodlivin v sušině odpadů

Ukazatel	Jednotka	Limitní hodnota
Kovy		
As	mg/kg sušiny	10
Cd	mg/kg sušiny	1
Cr _{celk.}	mg/kg sušiny	200
Hg	mg/kg sušiny	0,8
Ni	mg/kg sušiny	80
Pb	mg/kg sušiny	100
V	mg/kg sušiny	180
Monocyklické aromatické uhlovodíky (nehalogenované)		
BTEX	mg/kg sušiny	0,4
Polycyklické aromatické uhlovodíky		
PAU	mg/kg sušiny	6
Chlorované alifatické uhlovodíky		
EOX	mg/kg sušiny	1
Ostatní uhlovodíky (směsné, nehalogenované)		
Uhlovodíky C ₁₀ - C ₄₀	mg/kg sušiny	300
Ostatní aromatické uhlovodíky (halogenované)		
PCB	mg/kg sušiny	0,2



Vstupy kontaminantů do půdy z odpadu

Vyhláška 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).

Tabulka č. 5.1. - Limitní koncentrace vybraných rizikových látek a prvků

Sledovaný ukazatel	Jednotka	Výstupy (skupina 2)			Stabilizovaný biologicky rozložitelný odpad (skupina 3)
		Třída I	Třída II	Třída III	
As	mg/kg sušiny	10	20	30	40
Cd	mg/kg sušiny	2	3	4	5
Cr _{total}	mg/kg sušiny	100	250	300	600
Cu	mg/kg sušiny	170	400	500	600
Hg	mg/kg sušiny	1	1,5	2	5
Ni	mg/kg sušiny	65	100	120	150
Pb	mg/kg sušiny	200	300	400	500
Zn	mg/kg sušiny	500	1200	1500	1800
PCB	mg/kg sušiny	0,02	0,2	-	dle způsobu využití
PAU	mg/kg sušiny	3	6	-	dle způsobu využití
Nerозložitelné příměsi >2 mm	% hm.	max. 2% hm.	max. 2% hm.	-	-
AT4	mg O ₂ / g sušiny	-	-	-	< 10

Použité zkratky:



Příprava nové legislativy odpadů v ČR

VÚV T.G.M., v.v.i. - CeHO

Centrum pro hospodaření s odpady

■ Aktivity CeHO

MZP0002071102 - Výzkum pro hospodaření s odpady v rámci ochrany životního prostředí a udržitelného rozvoje

■ Porovnání 18 testů na 18 odpadech

■ **Vybraná sada testů:**

- Test toxicity na perloočkách: ČSN EN ISO 6341
- Test toxicity na řasách: ČSN EN ISO 8692
- Test zhášení bioluminiscence bakterií: ČSN EN ISO 11348-1-3
- Test reprodukční toxicity na chvostoskocích: ISO 11267
- Test reprodukční toxicity na roupicích: ISO 16387
- Test inhibice růstu kořenů suchozemských rostlin: ISO 11269-1



ISO 16387 (2004)



ISO 11267 (1999)



ISO 11269-1 (1993)



Ekotoxikologické testy

CHEMICKÉ ANALÝZY samotné NEDOKÁŽOU postihnout reálné riziko pro živé organismy:

- 1) reálná expozice se liší podle **biodostupnosti** toxických prvků a látek v dané situaci,
- 2) jde vždy o **směs toxikantů**, která působí jinak než jednotlivé toxikanty zvašť
- 3) Negativní **vlivy matrice** samotné bez ohledu na obsah toxikantů na živé organismy či interakce vlivu matrice s efekty toxikantů
- 4) spektrum analytických metod (tedy i limitních hodnot) je omezené a ve vzorku mohou být přítomny **neanalyzované** významně toxické látky.

PŘEDNOSTI chem. analýz

- Reprodukovatelnost, standardizovanost
- Exaktní číselné výstupy srozumitelné laikům: využití v zákonech



Proč testy kontaktní (půdní) ?

- Účinky na půdní organismy exponované v pevné matrici **nelze zcela extrapolovat** z testů akvatických
- Do hry vstupuje významně **osud kontaminantu** v půdním prostředí, vliv na reálnou **biodostupnost** pro půdní organismy
- Nezanedbatelné **vlivy samotné matrice** (např. nevhodné fyz.-chem. vlastnosti, kombinace s toxicitou)



Roupice

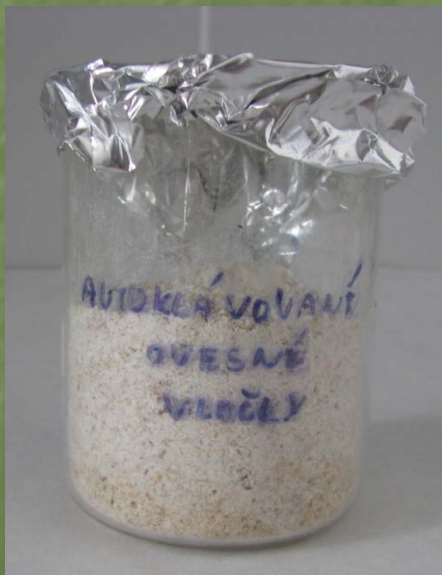


Chov roupic

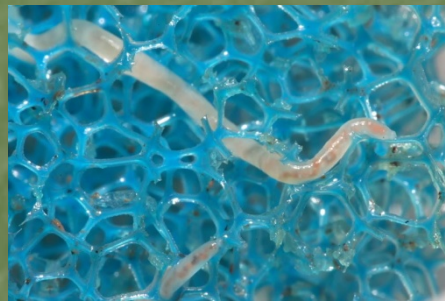
- *Enchytraeidae* mohou být poměrně bez problémů chovány v laboratorních podmínkách ve směsi umělé půdy a zahradní zeminy (1:1) či ve směsi rašeliny a standardní přirozené půdy LUFA 2.2, či prostě jen v zahradním substrátu < 2mm
- *E. crypticus* lze chovat na agaru
- v každém případě, by použitá půda měla být zbavena fauny (např. opakované silné zmrazení a roztátí) a zejména by neměla obsahovat polutanty a mít vhodné vlastnosti (zejména pH)
- pro vhodnost substrátu lze provést i předběžný test (cca 2 týdny), kde jsou indikátory nevhodného substrátu behaviorální změny (roupice pohybující se pouze po povrchu půdy či snažící se uniknout z nádoby), nevyskytující se juvenilní jedinci a částičky zeminy ulpívající na roupicích
- V optimálních podmínkách vytváří pohlavně se rozmnožující roupice po rozmnožování (optimální teplota do 25 °C) kokon obsahující průměrně 5 - 15 vajíček. Po 1 – 3 týdnech se vylíhnou cca 1 mm (15 - 20 segmentů) velcí juvenilní jedinci, kteří dospívají v závislosti na podmínkách po 3 až 6 týdnech (důležitá teplota jejíž optimum leží mezi 5 - 25 °C). Počet segmentů a jejich počet přibývá s věkem. Za dospělé lze považovat tehdy, vyvinul-li se zcela rozmnožovací systém.
- Nepohlavní (asexuální) rozmnožování u roupic (např. u *Cognettia sphagnetorum*) spočívá ve fragmentaci na 3 - 14 částí (asi po pěti segmentech), které dorůstají v hotové jedince asi za 10 dnů. Počet segmentů je často užíván pro určení stejně starých jedinců. Toto určení je důležité pro standardizaci jedinců, kteří vstupují do vlastního testu.



Chov roupic



Enchytraeus albidus



ERT

OECD Guideline for testing of Chemicals. 220 (2004): *Enchytraeidae* reproduction test

ISO 16387 (2004) Soil quality -- Effects of pollutants on *Enchytraeidae* -- Determination of effects on reproduction and survival

- dospělé rouspice (10 jedinců) jsou exponovány chemikálii smíchané s uměle vytvořenou půdou OECD v nádobkách ze skla či inertního materiálu (cca 20 g půdy)
- test lze rozdělit na **předběžný test**, kdy hledáme rozmezí používaných koncentrací a **finální test**, jehož výstupem má být funkce závislosti účinků na koncentraci testované substance (0,1 - 1000 mg/kg)
- v předběžném testu je mortalita hlavní endpoint hodnocený po 2 týdnech.
- u finálního testu jsou hodnoceny přežití dospělců po 6 týdnech (mortalita - akutní test) a počty juvenilních jedinců na jednoho dospělého (reprodukce - reprodukční test) tak, že po 3 týdnech jsou dospělí červi odstraněni z půdy a pozorovány jejich morfologické změny a po dalších třech týdnech je sledován počet potomků vylíhlých z kokonů



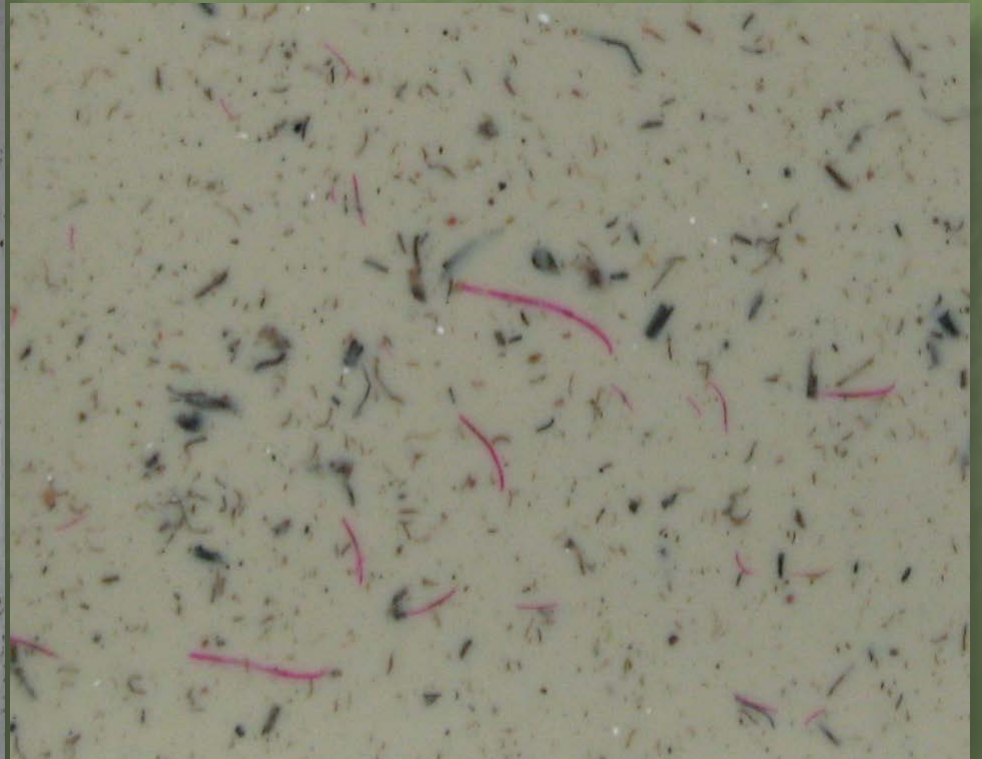
ERT

- design testu podobný akutnímu testu na žížalách OECD - 5 koncentrací po 4 opakováních a kontrolní varianty (bez chemické látky, na rozpouštědlo apod.). Výstupem z tohoto designu je NOEC, zatímco použijeme-li více koncentrací (např. 12) lze počítat i EC_{xx}
 - test je prováděn na umělé půdě, které je v každé nádobce asi 20g sušiny
 - podmínky testu: optimální teplota (20 °C), vlhkost (40 - 60% WHC), osvětlení (perioda 16:8, 400-800 lux)
 - 10 dospělých jedinců (opasek s tečkami vajíček)
 - každý týden s výjimkou prvního týdne po odstranění dospělců je přidávána potrava (cca 1,2 mg ovesných vloček na g půdy).
- měřeným endpointem v testu na reprodukci (ERT) je fekundita, ale zaznamenávány mohou být také mortalita, behaviorální změny apod.
- místo AS lze užít i normální půdu, kterou předtím defaunizujeme
- test lze provádět i v reálných půdách jako test na toxicitu kontaminace těchto půd



ERT

- pro extrakci juvenilních jedinců na konci ERT byla vyvinuta metoda **mokrý extrakce** (půda na sítu je ponořena do vody a po 3 dnech jsou červi ve vodě), fixují se etanolem
- **Metoda barvení** (1% bengalská červeň v etanolu po 12 hodinách), nebo extrakce Ludoxem, barvení bělobou a foto

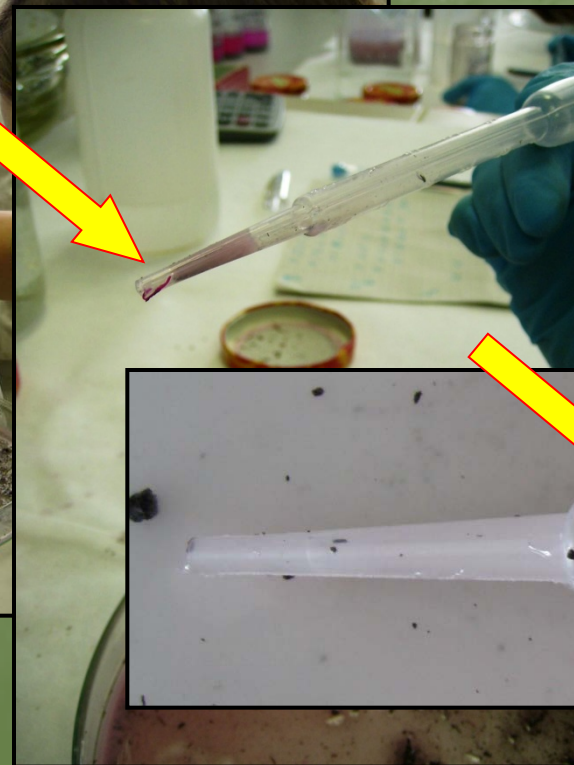
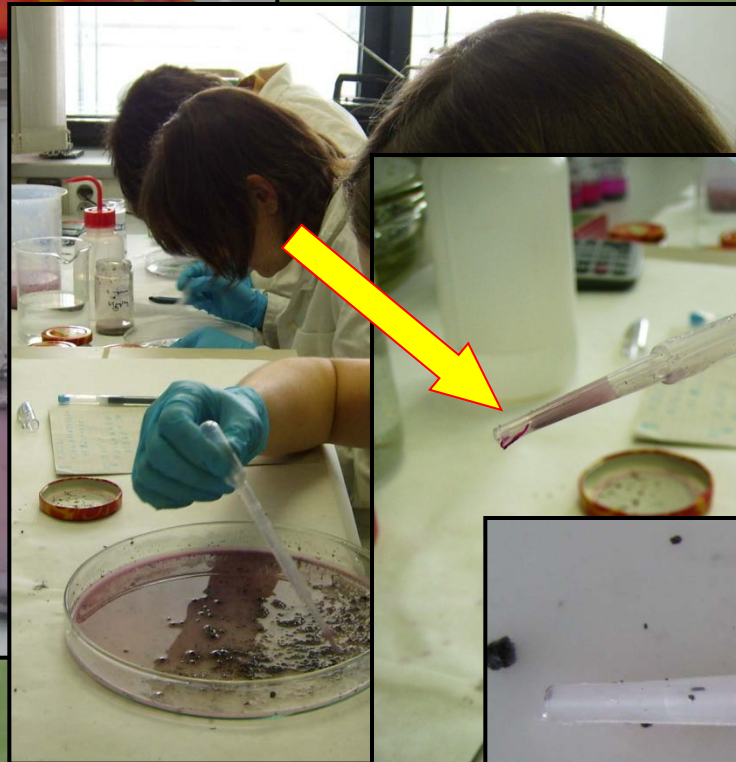


ERT

- Pozorování morfologických změn lze provádět na petriho miskách.
 - Jedinci jsou asi 12 hodin necháni na miskách v chladu, čímž dojde k vyčištění trávicí soustavy.
 - Jedinec je přemístěn do kapky vody na podložní sklíčko a přikryt krycím sklíčkem.
 - Pozorování začíná na 100× zvětšení a detailní studium externích a interních struktur provádíme při 400× zvětšení.
- **Kontrola v testu** (bez aplikace chemikálie i nosiče) má vykazovat následující parametry:
 - mortalita dospělců méně než 20% na konci testu,
 - rozmnožení nejméně 25 juvenilních jedinců na 10 dospělců (pro E.c. je to 300 až 500)
 - koeficient variance pro počet juvenilů méně než 50%.
- **referenční látka** - carbendazim ($1,2 \pm 0,8$ mg/kg by mělo vyvolat EC_{50})



ERT



Chvostoskoci



Laboratorní testy

Kultivace

- na petriho miskách, či ve skleněných nádobách, kde je na dně štuková sádra (pH 6,4) a aktivní uhlí (pH 6-7) smíchané v poměru 8 až 10 ku 1, 100g směsi + 60-100g vody = dostatečná vlhkost; uhlí pohlcuje exkrekty
- tmavé pozadí umožňuje pozorování
- 400ml plastové nádoby s 1cm vrstvou směsi; 20-22°C; 70-80% rel. vlhkost vzduchu; 400-800lx
- potravou jsou kvasnice, houby (*fusarium*, *verticillum*, *mortierella* ...) párkrát týdně
- po 8týdnech je nutné přemístit do nové misky (tím se většinou spouští ovipozice)

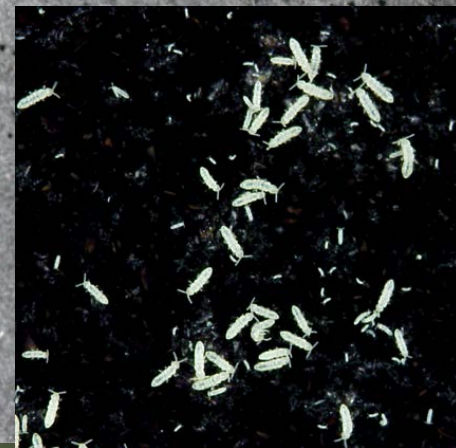
Synchronizace

- shluk vajíček se přemístí do nové nádoby; po 48h. odstranit zbylá vajíčka a krmí se juvenilové
- nebo čerstvě vylíhlí jedinci se dají do nové nádoby a po naklazení vajíček se odstraní dospělci

manipulace pomocí exhaustoru dechového či automatického



Laboratorní testy



Laboratorní testy

ISO 11267:1999 Soil quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants

- postup může být použit pro testování látek (nejen pesticidů) a pro srovnávání reálných půd
- pro NOEC přístup alespoň pět koncentrací s faktorem menším než 2 a pro ECx přístup alespoň 12 koncentrací
- dělá se předběžný test (2týdny) a finální test
- 30g AS + na počátku 2mg sušených kvasnic + 10 jedinců F.c. (10-12 dní staré) a zavřít nádobky těsně
- po 28 dnech (případně po době, než se vylíhnou potomci z vajíček nakladených dospělci) se sleduje přežití a potomstvo (F1)
- flotační metoda na konci pokusu
- endpointy jsou reprodukce (produkce vajíček), růst, změny v chování, přežití
- REFERENČNÍ LÁTKA: Betanal plus (160g/L Phenmedipham) či E605 forte (507,5g/L Parathion) efekt na reprodukci 100-200mg první látky a 0,1-0,18mg druhé
- VALIDITA TESTU: v kontrole ne více než 20% mortalita a minimum 100 juvenilů na jednu testovací nádobu



Laboratorní testy

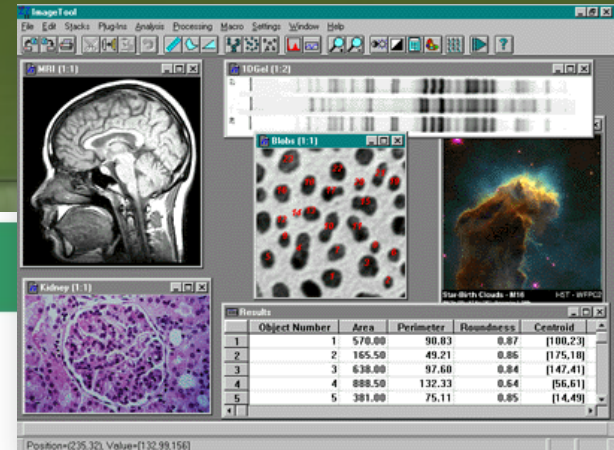
ISO 11267:1999 Soil quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants

- posouzení vlivu kontaminace půd na reprodukci chvostoskoků
- nutná kontrola, s níž můžeme srovnávat
- u půd je nutno změřit a evidovat pH, CEC, Corg, texturu, hustotu, vlhkost, WHC, obsah mikrobiální biomasy
- postup stejný jako u testování látek (10 chvostoskoků do nádoby atd.)

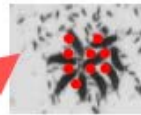
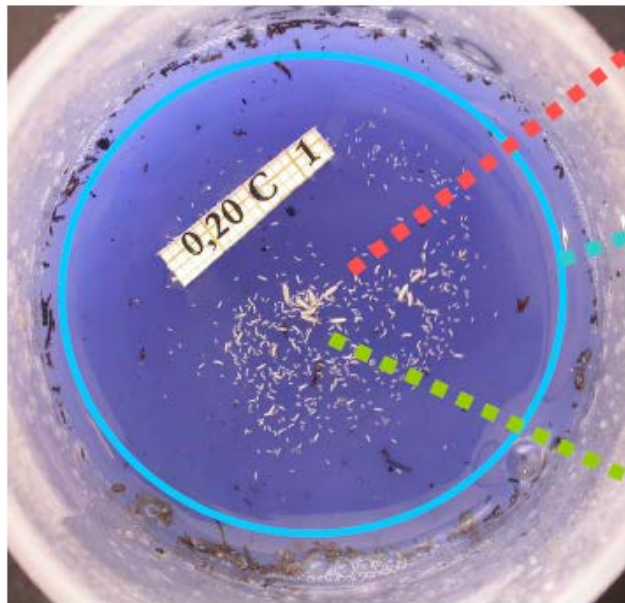


Laboratorní testy

- flotační metoda + barvení + fotografie + analýza obrazu
- UTHSCSA Image Tool for Windows
- <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>



Assessed endpoints



% SURVIVAL



% REPRODUCTION

% FECUNDITY

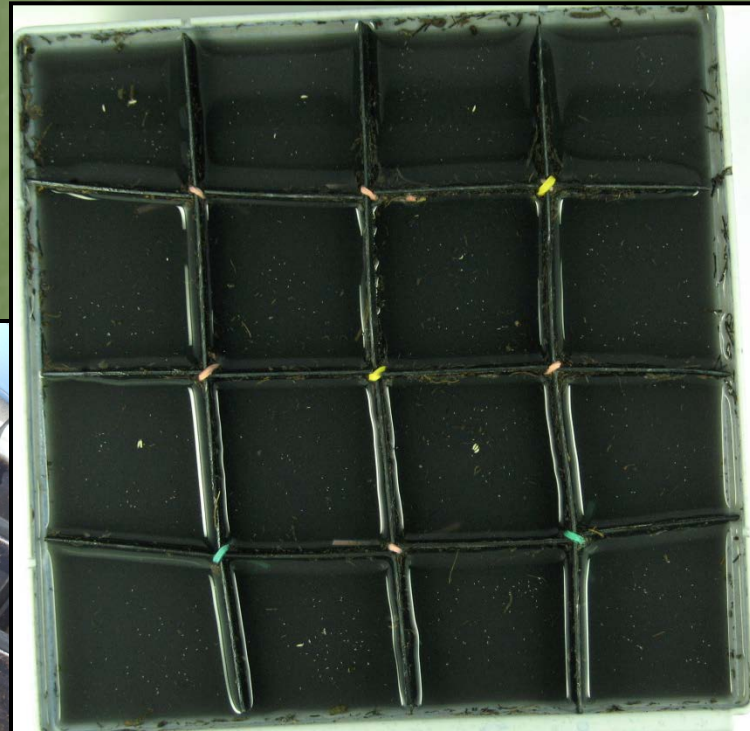
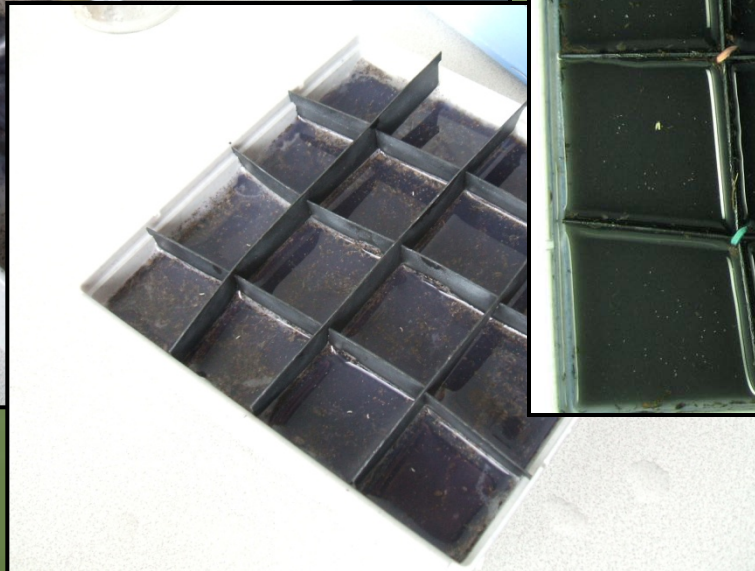
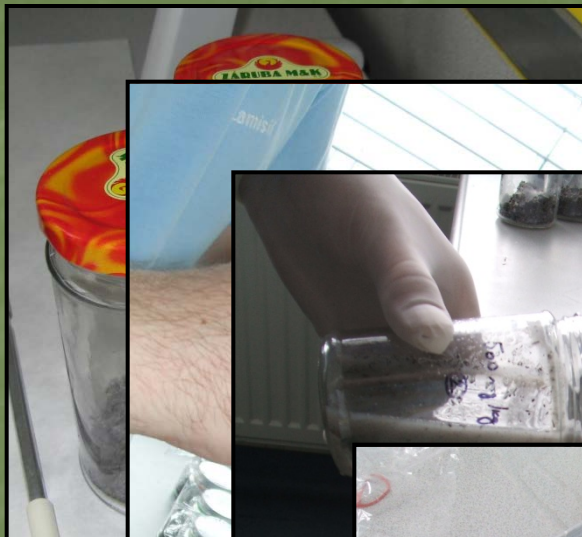


% BODY LENGTH

% ENERGY ALLOCATION RATE



Laboratorní testy



Rostliny



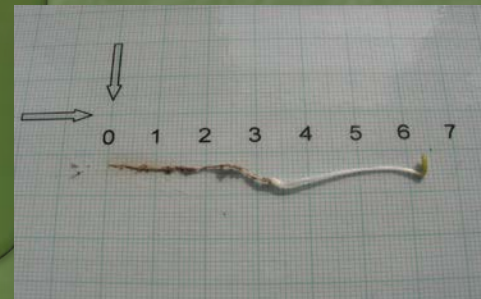
Test s růstem kořene salátu *Lactuca sativa*

- ISO 11269-1(1993): Soil quality -Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part1: Method for the measurement of inhibition of root growth
- právoplatný terestrický test, akutní toxicita
- v ČR v MP pro hodnocení ekotoxicity odpadů se užívá modifikovaná metoda
- Měří se délka kořenů předklíčeného salátu v kontrole a zkoušeném vzorku po 5 dnech inkubace
- Ekotoxicita vzorku je stanovena jako statisticky významný rozdíl v délce kořenů zkoušeného vzorku ve srovnání s kontrolou, popř. se stanoví hodnota EC_{50} z křivky dávka – odpověď
- *Lactuca sativa* var. capitata, Salát hlávkový k rychlení Safír
- Pro zkoušku se vybírají nepoškozená semena stejné velikosti, chemicky neošetřená
- Předklíčení semen - na vrstvě filtračního papíru zvlhčené demineralizovanou vodou po dobu 36h až 48h, při laboratorní teplotě bez regulace osvětlení
- Pro zkoušku se vybírají naklíčená semena s kořínkem, který je kratší než 2 mm



Test s růstem kořene salátu *Lactuca sativa*

- Teplota: $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- pH: 6,0 – 8,0
- doba expozice: $120\text{h} \pm 2\text{h}$
- množství vzorku: 200 až 300 g vlhkého vzorku na zkušební nádobu
- počet zkoušených semen – 15 předklíčených semen v jedné zkušební nádobě
- počet paralelních stanovení: 3 až 5
- ostatní podmínky - bez osvětlení
- Do nádoby se naváží 200 až 300 g zkoušeného vzorku nebo kontroly se známou sušinou, zvlhčeného na hodnotu $70\% \pm 5\%$ WHC
- Rozvrhne se pravoúhlá síť např. 5 x 3 bodů
- Do vytvořených jamek asi 1 cm hlubokých se pinzetou rovnoměrně rozmístí po 15 naklíčených semenech kořínkem směrem dolů
- Semena se k zemině přitlačí, zeminou se nezakrývají a takto připravené nádoby uzavřené víčkem se umístí do termostatu s teplotou $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ bez přístupu světla
- Po 5 dnech se salát šetrně oddělí od vzorku a změří se a zaznamenává délka kořenů ve zkoušeném vzorku a v kontrole s přesností na 1 mm



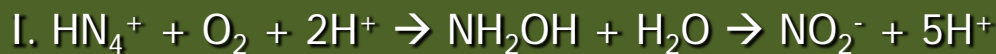
Mikroorganismy



Nitrifikace

- významný proces, umožňuje mobilitu dusíku v půdě

Dva kroky:

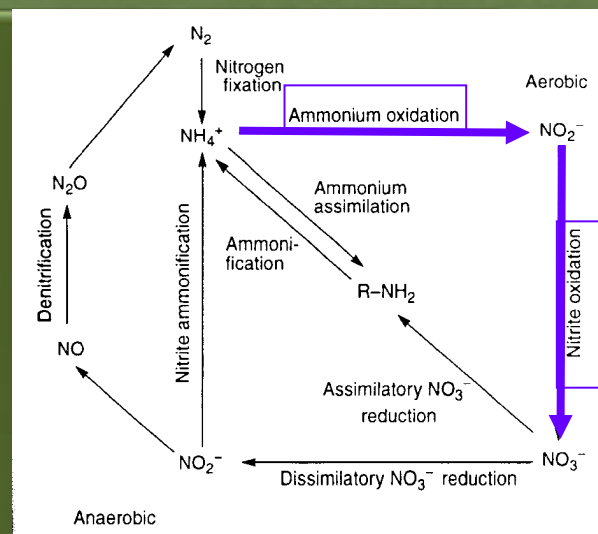


$$\Delta G = -66 \text{ kcal}$$



$$\Delta G = -18 \text{ kcal}$$

- oba kroky jsou **striktně aerobní**
- zastává je jen několik rodů, v půdě první krok např. rod *Nitrosomonas*, *Nitrococcus* a druhý krok např. rod *Nitrobacter*
- zdrojem uhlíku je pak CO₂
- enzym pro první krok je amoniak monooxygenáza (AMO), která má širokou substrátovou specifitu a může kometabolicky oxidovat i některé polutanty např. TCE či alkany až do C₈
 - **využití při bioremediacích !!!**



Genus	Species
Ammonium oxidizers	
<i>Nitrosomonas</i>	<i>europaea</i> <i>eutrophus</i> <i>marina</i>
<i>Nitrosococcus</i>	<i>nitrosus</i> <i>mobilis</i> <i>oceanus</i>
<i>Nitrospira</i>	<i>briensis</i>
<i>Nitrosolobus</i>	<i>multiformis</i>
<i>Nitrosovibrio</i>	<i>tenuis</i>
Nitrite oxidizers	
<i>Nitrobacter</i>	<i>winogradskyi</i> <i>hamburgensis</i> <i>vulgaris</i>
<i>Nitrospina</i>	<i>gracilis</i>
<i>Nitrococcus</i>	<i>mobilis</i>
<i>Nitrospira</i>	<i>marina</i>



Nitrifikace

Potenciální nitrifikace (SNA) (NEA - nitrifier enzyme activity) (potential ammonium oxidation - PAO)

- ISO 15685 (2004): Soil quality - Determination of potential nitrification - Rapid test by ammonium oxidation
- půda je inkubována v pufované suspenzi s roztokem chlorečnanu sodného (inhibuje oxidaci dusitanů na dusičnany) s přidavkem saturujícího množství síranu amonného (substrát pro oxidaci amoniaku na dusitany)
- po 6 hod či déle, eventuálně každé 2 hodiny se měří koncentrace NO_2^-
- koncentrace dusitanů se měří po extrakci KCl spektrofotometricky reakcí s sulfanilamid a Griess-Ilosvay činidlem = N-(1-naftyl)ethylen-diamin dihydrochlorid
- jako referenční látku lze užít nitrapyrin

