



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Legislativní rámec ekotoxikologických biotestů

Klára Hilscherová



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

## Standardní metody

Mnoho metod standardizováno mezinárodními i národními organizacemi

## Využití standardních testů

- Hodnocení vlastností nebezpečných pro životní prostředí
  - u chemických látek a přípravků
  - u přípravků na ochranu rostlin (pesticidy)
  - u biocidních přípravků a účinných látek
- Stanovení ekotoxicity odpadů, sedimentů
- Hodnocení léčiv určených do vodního prostředí (pro ryby) za účelem jejich registrace
- Biologické testování přítokových a odpadních vod
- Biologická zkouška toxicity při haváriích
- Testování látek s potenciálním dopadem na vodní ekosystémy

# Výhody standardních metod

- Metodiky testů jsou jednotné a porovnatelné s předchozími výsledky v té stejné i v dalších laboratořích
- Mohou být zopakovány dalšími laboratořemi
- Výsledky jsou dobře akceptovatelné pro regulační orgány
- Zjednodušená logistika, vývoj a optimalizace už provedena
- Tyto metody poskytují základ, na němž se dá dále stavět a který se dá případně modifikovat
- Získaná data mohou být kombinována s daty z jiných laboratoří pro využití v QSAR, ERA's
- Detailní seznam použitých přístrojů, medií, modelových organismů, atd.
- Popsány experimentální, analytické a dokumentační postupy
- Specifikována pravidla validity testu

# Nevýhody standardních metod

- Často příliš specifické → těžko aplikovatelné pro jiné situace nebo k odpovědi dalších otázek
- Jen na několika modelových druzích – otázka přenositelnosti výsledků
- Bývají používány v nevhodných situacích (výzkum, hodnocení příčiny a účinku)
- Nemusí být aplikovatelné do reálného prostředí
- Nejsou dosud dostupné/validované pro některé typy účinků (popř. ve vývoji)

# Legislativní rámec ekotoxikologických biotestů

ČSN

ČSN ISO

ČSN EN

ČSN EN ISO

TNV

TNO

- **ISO:**
- **OECD:**
- ČNI
- MŽP, MZE

# Legislativní rámec ekotoxikologických biotestů

## Normy:

ČSN - česká technická norma

ČSN ISO - mezinárodní norma ISO, zavedená do soustavy ČSN

ČSN EN - evropská norma, zavedená do soustavy ČSN

ČSN EN ISO - mezinárodní norma ISO, převzatá do soustavy EN a zavedená do soustavy ČSN

TNV - odvětvová technická norma vodního hospodářství v působnosti Mze/MŽP ČR

TNO - odvětvová technická norma odpadového hospodářství v působnosti MŽP ČR

- **ISO:** International Organization for Standardization ([www.iso.ch](http://www.iso.ch))
- **OECD:** Organization for Economic Cooperation and Development - Organizace pro ekonomickou spolupráci a rozvoj ([www.oecd.org](http://www.oecd.org))

## OECD Guidelines for the Testing of Chemicals

<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>

- **ČNI** - Český normalizační institut ([www.csni.cz](http://www.csni.cz))

## Zastřešující legislativa:

- MŽP ([www.mzp.cz](http://www.mzp.cz); [www.mzp.cz/cz/legislativa](http://www.mzp.cz/cz/legislativa)),
- MZE ([www.mze.cz](http://www.mze.cz); [eagri.cz/public/web/mze/legislativa/](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/))

# Další organizace – normované testy

ASTM

EPA (US EPA)

ANSI

CEN

AFNOR

EEC

WHO

## Další organizace – normované testy

ASTM: American Society of Testing and Materials - Americká společnost pro testování a materiály

EPA (US EPA) – Environmental Protection Agency

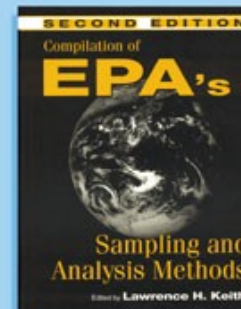
ANSI - Americký národní institut pro standardizaci - American National Standards Institute ([www.ansi.org](http://www.ansi.org))

CEN - European Committee for Standardization (Comité Européen de Normalisation) ([www.cenorm.be](http://www.cenorm.be))

AFNOR - Francouzská normalizační asociace - Association Française de Normalisation ([www.afnor.fr](http://www.afnor.fr))

EEC: Evropské hospodářské společenství - European Economic Community

WHO – World Health Organisation







- ± 40 Direktiv a Nařízení ohledně hodnocení a managementu rizik spojených s chemickými látkami
  - Regulation EEC 793/93 – Existující látky
  - Directive 67/548/EEC – Nové látky
  - Directive 98/8/EC - Biocidy



# EU a hodnocení rizik



## Existující látky

- > 100000 látek v EINECS (European Inventory of Existing Commercial Substances )
- 2750 HPVCs (High Production Volume Chemicals > 1000 tun/rok )
  - 14% minimální soubor dat (základní)
  - 65% méně než základní soubor dat
  - 21% žádná data o toxicitě
- Seznam prioritních látek
  
- Situace ~ rok 2003
  - 141 látek v procesu hodnocení rizik
  - 74 předběžná analýza rizik
  - 48 dokončených analýz rizik
- **Příliš pomalý proces**
- **Nedostatečná data**
- **Nedostatečná ochrana**

# Legislative EU



Registration, Evaluation and Authorisation of CHemicals  
(**REACH**)

## Registrace, vyhodnocení a autorizace chemických látek

Nové nařízení Evropské unie č. 1907/2006

= nový systém kontroly chemikálií, kterým by se mělo zajistit, aby se nejpozději do roku 2020 používaly pouze chemikálie se známými vlastnostmi způsobem, který nepoškozuje zdraví a životní prostředí.  
předložila Evropská komise v říjnu 2003

Implementace, nařízení vstoupilo v platnost – 1. červen 2007

**Cíl - kolem r. 2020 v EU bezpečným způsobem vyrábět, dovážet a používat** pouze chemické látky se známými nebezpečnými vlastnostmi a identifikovanými riziky pro zdraví a ŽP v celém jejím existenčním cyklu

- **R**egistration - Registrace
- **E**valuation - Hodnocení
- **A**uthorisation - Autorizace
- Restriction - Restrikce
- **C**hemicals – Chemikálií

Definovány povinnosti výrobců, dovozců, distributorů a uživatelů chemických látek

Probíhá úprava legislativy členských zemí

Na národní úrovni je za řízení procesů, které jsou dané nařízením REACH, odpovědné MŽP, které zároveň zodpovídá za implementaci nařízení REACH a souvisejících předpisů do národní legislativy.

**CENIA** (česká informační agentura životního prostředí)

— ústřední kontaktní místo pro REACH v České republice (národní Helpdesk - pověřen Ministerstvem životního prostředí): [www.cenia.cz](http://www.cenia.cz)

# Obsah nařízení

Preambule (131 bodů) (1 – 40)

- I Obecné otázky (47- 61)
- II Registrace látek (62 – 95)
- III Sdílení údajů a zamezení zbytečným zkouškám (96–107)
- IV Informace v dodavatelském řetězci (107 – 115)
- V Následní uživatelé (115 – 121)
- VI Hodnocení (121 – 138)
- VII Povolování (138 – 162)
- VIII Omezení výroby, uvádění na trh a používání (163 – 171)
- IX Poplatky a platby (171 – 172)
- X Agentura (173 – 208)
- XI Seznam klasifikací a označení (208 – 212)
- XII Informace (213 – 218)
- XIII Příslušné orgány (219 – 220)
- XIV Prosazování (221 – 222)
- XV Přejícná a závěrečná ustanovení (222 – 234)



# Přílohy

- I Obecná ustanovení o posuzování látek a vypracování CSR (237–266)
- II Pokyny pro sestavení bezpečnostních listů (267 – 293)
- III Kritéria pro látky registrované v množství mezi 1 a 10 tunami (294)
- IV Výjimky z povinnosti registrace podle čl. 2 odst. 7 a) (295 – 303)
- V Výjimky z povinnosti registrace podle čl. 2 odst. 7 b) (304 – 305)
- VI Požadavky na informace uvedené v čl. 10. (306 – 315)
- VII Standardní požadavky na informace pro látky vyráběné nebo dovážené v množství 1 tuny nebo větším (316 – 329)
- VIII Doplnkové standardní požadavky na informace pro látky vyráběné nebo dovážené v množství 10 t nebo větším (330 – 343)
- IX Doplnkové požadavky na informace pro látky vyráběné nebo dovážené v množství 100 t nebo větším (344 – 359)
- X Doplnkové požadavky na informace pro látky vyráběné nebo dovážené v množství 1000 t nebo větším (360 – 370)



# Přílohy

- XI Obecná pravidla pro odchylky od standardního režimu zkoušek podle příloh VII až X **(371 – 378)**
- XII Obecné pokyny pro následné uživatele k posuzování látek a vypracování zpráv o chemické bezpečnosti **(379 – 382)**
- XIII Kritéria pro identifikaci perzistentních, bioakum. a toxických látek a vysoce perzistentních a vysoce bioakumulativních látek **(383 – 386)**
- XIV Seznam látek podléhajících povolení **(386 – 386)**
- XV Dokumentace **(387 – 391)**
- XVI Socioekonomická analýza **(392 – 394)**
- XVII Omezení výroby, uvádění na trh a používání ... **(395 – 851)**



# REACH: jaká data?



- Fyzikálně-chemické vlastnosti, jako:
  - Těkavost, bod varu, Kow,...
- Humánní toxikologie, jako:
  - Akutní a chronická toxicita, dráždivost, karcinogenita...
- Environmentální/ Ekotoxikologické informace, jako:
  - Akutní a/nebo chronická toxicita pro vodní organismy, biodegradace, ...

Výrobci budou muset poskytnout informace:

- o vlastnostech a nebezpečnosti každé látky
- o zamýšleném způsobu použití dotyčné látky a tom, zda a jak se může dostat do kontaktu s lidmi a/nebo životním prostředím;
- o posouzení rizika pro lidské zdraví a životní prostředí;



# REACH – některé změny

- Základní principy zůstávají
  - registrace nových látek, zásady SLP, zásady označování obalů, R- a S- věty,.....
- **Doplnění údajů o nebezpečnosti látek ze seznamu látek již používaných (EINECS, NLP)**
- 30000 existujících látek (registrace-autorizace)
  - do 3 let
    - látky genotoxické a toxické pro reprodukci
    - látky s tonáží nad 1000 t/rok
  - do 6 let
    - látky s tonáží nad 100 t/rok
  - do 11 let
    - látky s tonáží nad 1 t/rok



# REACH – některé změny

- Registrace se předkládají **Evropské Agentuře pro chemické látky (ECHA)** – sídlo v Helsinkách
  - <http://ec.europa.eu/echa>
  - <http://echa.europa.eu>
- Společná registrace látky členy konsorcia
  - sdružení registrantů za účelem registrace
  - princip jedna látka - jedna registrace
- Katalog klasifikace a označení
  - dostupný na internetu
  - Předregistrace
  - Fórum pro výměnu informací - zřízeno pro každou látku (SEIF)
    - povinná výměna informací mezi registranty o dostupných parametrech nebezpečnosti předregistrovaných látek
- Autorizace pro konkrétní způsoby použití látky
  - jiné užití => přehodnocení nebezpečnosti, úprava bezp. listu, nová autorizace

- Přesné požadavky na registraci se liší v závislosti na objemu, skutečných vlastnostech a podmínkách používání chemikálie.
- Komise odhaduje, že systém REACH se nebude týkat asi 80 % látek.
- Látky produkované ve vyšších objemech nad 100 t/rok by se měly dostat do dalšího stadia procesu REACH – vyhodnocení, přičemž národní kompetentní úřady prošetří údaje, případně požádají o přídatné informace nebo testy, jestliže budou mít jakoukoliv obavu o potenciální rizika spojená s dotyčnou látkou nebo kvalitou registračních spisů.



## *Harmonogram registrace zavedených látek*

- ❑ 1.6.2007 - vstup nařízení v platnost
- ❑ 1.6.2008 - zahájení činnosti Agentury
- ❑ 1.6.2008 - začátek předregistrace zavedených látek
- ❑ 1.12.2008 - konec předregistrace
- ❑ 1.1.2009 - zveřejnění dat na internetu - SIEF
- ❑ 1.12.2010 - lhůta pro registraci > 1000 t/rok,  
CMR látek > 1 t/rok a látek s R 50/53 > 100 t/rok
- ❑ 1.6.2013 - lhůta pro registraci > 100 t/rok
- ❑ 1.6.2018 - lhůta pro registraci > 1 t/rok





Třetí krok v procesu REACH se týká nejnebezpečnějších látek, jako jsou **karcinogenní, mutagenní nebo toxické pro reprodukci (CMR)** chemikálie, jakož i látky **přetrvávající, bioakumulativní a toxické (PBT)** nebo **velmi silně perzistentní, velmi bioakumulativní (vPvB)**. Látky, vyvolávající endokrinní poruchy i jiné chemikálie, které vyvolávají podobné obavy, budou předmětem autorizace, řešené případ od případu.

**největší riziko = nejpodrobnější REACH:**

- vysoký objem výroby (HPVC) – nad 1000 t/rok
- nebo CMR chemikálie

## **Klasifikace nebezpečnosti**

Klasifikace a způsob označení se oznamuje Agentuře  
Agentura vytváří databázi klasifikací, která bude přístupná veřejnosti  
zavedení Globálního harmonizovaného systému klasifikace (GHS)

# Obsah registrace

- a) **Soubor technických dokumentů**  
(Dossier) - TECHNICKÁ DOKUMENTACE
- b) **Zpráva o chemické bezpečnosti**  
(Chemical Safety Report, CSR)

Poznámka:

**CSR ne pro tonáže 1 – 10 t/r**

## a) Soubor technických dokumentů

- identifikační údaje o látce a registrantovi
- informace o výrobě a používání látky
- klasifikace a označení látky
- návod k bezpečnému používání látky
- souhrn informací o vlastnostech látky
- podrobný souhrn provedených zkoušek podle příloh V až VIII
- prohlášení o souhlasu se společným využíváním výsledků zkoušek neprováděných na zvířatech
- návrh projektu dalšího zkoušení, u látek registrovaných pro tonáže 100 t/r a vyšší



## **b) Zpráva o chemické bezpečnosti**

- **Hodnocení rizika pro zdraví**
- **Hodnocení rizika fyzikálně-chemických vlastností pro zdraví**
- **Hodnocení rizika pro životní prostředí**
- **Hodnocení PBT a vPvB vlastností a pro všechny způsoby identifikovaného použití**
- **Posouzení-odhad expozice**
- **Charakteristika rizika**

**Postupuje se podle přílohy I nařízení REACH.**



# Kritéria PBT

## **P - perzistentní látka**

poločas rozpadu v mořské vodě delší než 60 dnů

## **B – bioakumulativní látka**

biokoncentrační faktor (BCF) vyšší než 2000

## **T – toxická látka**

- NOEC pro organismy v mořské a ve sladkovodní vodě je nižší než 0,01 mg/l, nebo látka je CMR

- chronická toxicita odpovídající klasifikaci: T, R48 nebo Xn, R48 podle 67/548/EHS



# Kritéria vPvB

## vP

- poločas přežití v mořské vodě, sladké vodě nebo v ústí řek je delší než 60 dnů
- poločas přežití v mořském sedimentu, sladkovodním sedimentu a sedimentu ústí řek delší než 180 dnů
- poločas přežití v půdě delší než 180 dnů

## vB

- biokoncentrační faktor je vyšší než 5 000

		vP	vB
P	T(1/2) mořská voda	> 60 dnů	> 60 dnů
	sladká voda	> 40 dnů	> 60 dnů
	mořský sediment	> 180 dnů	> 180 dnů
	sladkovodní sediment	> 120 dnů	> 180 dnů
	půda	> 120 dnů	> 120 dnů
B	BCF	> 2000	> 5000
T	NOEC (slaná, sladká voda) < 0,01 mg/l		
	C,M, R; T,R48/ ;Xn,R48/		



# Sdílení údajů a zábrana zbytečného zkoušení

- Zkoušky na zvířatech se provádějí jako **poslední možnost**.
- Již provedené zkoušky **by se neměly opakovat**.
- Výsledky zkoušek předložených při registraci před více než **10 roky** jsou volně přístupné dalším výrobcům nebo dovozcům.
- Pravidla sdílení výsledků zkoušek vlastností **nových** (non phase-in) látek



# Požadavky na informace 1 – 10 t/r

## Příloha VII – Standardní požadavky

- Bod tání, bod varu, relativní hustota, tlak par, povrchové napětí, rozpustnost ve vodě, rozdělovací koeficient  $K_{ow}$ , bod vzplanutí, hořlavost, výbušné vlastnosti, bod samozápalu, oxidační vlastnosti, granulometrie.
  
- Kožní dráždivost/žíravost *in vitro*, oční dráždivost *in vitro*, senzibilizace kůže, **mutagenita na bakteriích *in vitro***, akutní orální toxicita. **Subakutní toxicita pro dafnie, inhibice růstu řas, snadná biologická rozložitelnost. ( Ne pro ne CMR, ne rozptýleně používané nebezpečné látky )**

# Informace o vlastnostech 10 – 100 t/r

## Přílohy VII +VIII

Kožní dráždivost/žíravost *in vivo*, oční dráždivost *in vivo*, senzibilizace kůže, **cytogenita a genetické mutace na savčích buňkách *in vitro***, akutní dermální/inhalační toxicita, subakutní toxicita, screening reprodukční toxicity, toxikokinetika.

**Subakutní toxicita pro ryby**, inhibice dýchání aktivovaného kalu, hydrolýza jako funkce pH, screening absorpce/desorpce.



# Informace o vlastnostech 100 – 1000 t/r

## Přílohy VII + VIII + výběr z IX

Stálost v organických rozpouštědlech, disociační konstanta, viskozita.

Subchronická toxicita (90 dnů), prenatální vývojová toxicita, 2-generační reprodukční toxicita.

**Chronická toxicita na dafniích a rybách**, konečný (inherentní) rozklad v povrchových vodách, rozklad v půdě, rozklad v sedimentu, určení produktů rozkladu, **bioakumulace (ryby)**, další informace o adsorpci/desorpci, **subakutní účinky na suchozemské organismy (bezobratlí, bakterie, rostliny)**.

Metody analýzy.

# Informace o vlastnostech >1000 t/r

## Přílohy VII + VIII + výběr z IX a X

Chronická toxicita (2 roky), (vývojová toxicita, 2-generační reprodukční toxicita), karcinogenita.

Další zkoušky biotického rozkladu, další informace o rozpadu a chování látky nebo produktů rozkladu, **chronická toxicita na bezobratlých, chronická toxicita na rostlinách, chronická toxicita na organismech sedimentu, chronická reprodukční toxicita u ptáků.**

# REACH: kolik látek?



Table 6. Estimated testing needs (% of total number of substances)

Endpoint	Minimum	Average	Maximum
6.3 Skin sensitisation	7486 (25.5)	10293 (35.1)	13728 (46.8)
6.2 Eye irritation (incl. <i>in vivo</i> )	5923 (20.1)	6910 (23.5)	8182 (27.9)
6.4.4 <i>In vivo</i> mutagenicity study	6580 (22.4)	6580 (22.4)	6580 (22.4)
7.1.2 Growth inhibition algae	2638 (9.0)	5277 (18.0)	11466 (39.1)
7.1.4 Active sludge respiration test	4616 (15.7)	4616 (15.7)	4616 (15.7)
7.1.1 Short-term <i>Daphnia</i> toxicity	2321 (7.9)	4096 (14.0)	8798 (30.0)
6.1 Skin irritation/corrosion (incl. <i>in vivo</i> )	1974 (6.7)	3949 (13.4)	5817 (19.9)
7.2.2.1 Hydrolysis	2691 (9.2)	3425 (11.7)	4518 (15.4)
6.4.1 Gene mutation study in bacteria	875 (3.0)	2916 (9.9)	6424 (21.9)
6.4.2 Cytogenicity study in mammalian cells	875 (3.0)	2916 (9.9)	6424 (21.9)
6.7.2 Development toxicity study	2408 (8.2)	2893 (9.9)	3711 (12.6)
7.2.1.1 Ready biodegradability test	1574 (5.4)	2624 (8.9)	5752 (19.6)
6.7.3 Two-generation reproduction toxicity	1665 (5.7)	2135 (7.3)	2699 (9.2)





## REACH: náklady na testování

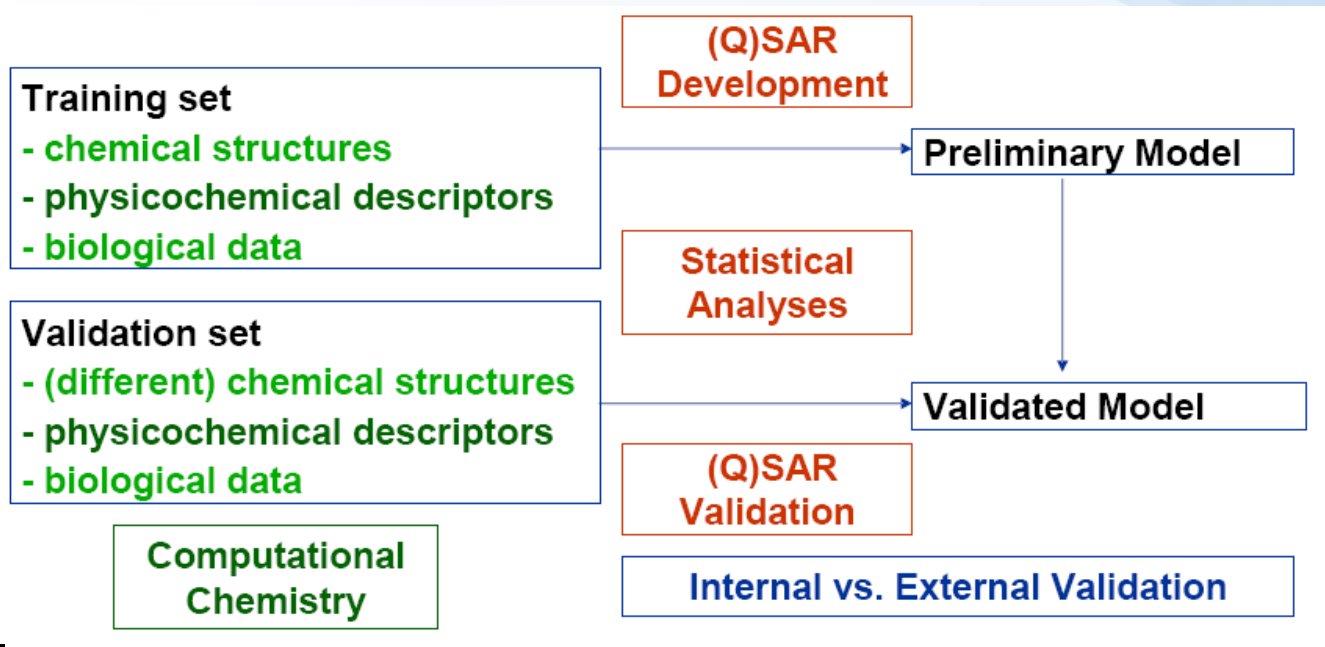


Table 8. Estimated testing costs for most costly endpoints (Million EURO)

Endpoint	Minimum	Average	Maximum
6.7.2 Development toxicity study	396	476	611
6.7.3 Two-generation reproduction toxicity	293	376	475
6.4.4 <i>In vivo</i> mutagenicity study	129	129	129
6.6.2 Sub-chronic toxicity	76	111	210
6.6.3 Long-term repeated dose toxicity study (incl. 6.9 Carcinogenicity study)	44	52	73
6.6.1 Short-term repeated dose toxicity study	13	49	189
6.4.2 Cytogenicity study in mammalian cells	16	52	116
6.3 Skin sensitisation	29	40	54
7.2.1.1 Ready biodegradability test	19	32	71
7.3.2 Accumulation	14	28	67
7.1.2 Growth inhibition algae	13	26	57
6.7.1 Development toxicity screening	12	26	101
7.2.2.1 Hydrolysis	16	21	28



- SAR (structure activity relationship): Vztah struktury a účinku = (kvalitativní) vztah mezi nějakým strukturním prvkem látky a jejím potenciálním biologickým účinkem
- QSAR: matematický model vztahu mezi chemickou strukturou a fyzikálně-chemickými vlastnostmi či biologickým účinkem



# Zákon o chemických látkách a chemických směsích

**Zákon č.350/2011 Sb.:** Zákon o chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů (chemický zákon)

- Obecná ustanovení – definice
- Podmínky uvádění nebezpečných látek na trh
- Systém klasifikace nebezpečných vlastností
- Základní požadavky na laboratoře klasifikující nebezpečné vlastnosti (požadavek SLP)

## HLAVA II. KLASIFIKACE, BALENÍ A OZNAČOVÁNÍ

§ 5 Vlastnosti látek a směsí a skupiny nebezpečnosti

§ 6 Hodnocení nebezpečných vlastností látek a směsí

§ 9 Hodnocení zjištěných vlastností směsi nebezpečných pro životní prostředí

## HLAVA III. SPRÁVNÁ LABORATORNÍ PRAXE A ZKOUŠENÍ LÁTKY A SMĚSI

## HLAVA V. VÝKON STÁTNÍ SPRÁVY

Zákon určuje:

1. práva a povinnosti právnických osob a podnikajících fyzických osob při výrobě, distribuci, zkoušení, balení a označování chemických látek, tedy při zacházení s nimi.
2. třídy nebezpečnosti chemických látek – klasifikaci látek podle nebezpečnosti
3. pravomoci správních orgánů při kontrole uplatňování tohoto zákona a ochraně před působením nebezpečných látek

Zákon se nevztahuje na skupiny látek, jako kosmetické přípravky, potraviny, léčiva, odpady, krmiva, radioaktivní látky, neboť pro ty platí speciální zákony.

Odkazuje také na „přímo uplatnitelné předpisy EU“, zejména nařízení Evropského parlamentu č. 1272/2008 (GHS – CLP)



## Klasifikace – třídy nebezpečnosti:

a) výbušné látky (mohou explodovat i bez přístupu vzduchu) – **E**



b) oxidující látky (podporují hoření) – **O**



c) extrémně hořlavé – kapaliny s extrémně nízkým bodem vzplanutí ( $< 0^{\circ}\text{C}$ ) a plyny hořlavé na vzduchu při pokojové teplotě a tlaku – **F+**



d) vysoce hořlavé – kapaliny s velmi nízkým bodem varu ( $< 21^{\circ}\text{C}$ ), látky, které mohou s vodou nebo vlhkým vzduchem uvolňovat vysoce hořlavé plyny v nebezpečném množství ( $> 1 \text{ l/kg.h}$ ) a látky, které se mohou na vzduchu samovolně vznítit – **F**



e) hořlavé – látky s nízkým bodem vzplanutí ( $21 - 55^{\circ}\text{C}$ )

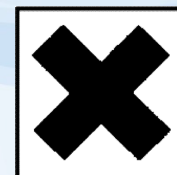
f) vysoce toxické – již ve velmi malém množství při kterékoli cestě vstupu mohou způsobovat smrt nebo vážné poškození zdraví (< 25 mg/kg, potkan, p.o.) – **T<sup>+</sup>**



g) toxické – již v malém množství (25 – 200 mg/kg, potkan, p.o.) - **T**



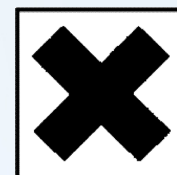
h) zdraví škodlivé – mohou způsobovat při kterékoli cestě vstupu smrt nebo vážné poškození zdraví (200 – 2000 mg/kg, potkan, p.o.) – **X<sub>n</sub>**



i) žíravé – mohou zničit tkáně – **C**



j) dráždivé – vyvolávají záněty při styku s kůží nebo sliznicemi – **X<sub>i</sub>**



- k) sensibilující – vyvolávají přecitlivělost, alergie
- l) karcinogenní – kategorie 1. – prokázaná souvislost mezi expozicí a karcinogenitou u člověka; kat. 2 – dostatečné důkazy karcinogenity na základě experimentů na zvířatech; kat. 3 – existují některé důkazy karcinogenity, ale ne dostatečné pro zařazení do kategorie 2.
- m) mutagenní – souvislost mezi expozicí a poškozením genetických vlastností (3 kategorie, jako u karcinogenů)
- n) látky toxické pro reprodukci – poškození fertility nebo vznik vývojových vad (3 kategorie)
- o) nebezpečné pro životní prostředí – okamžité nebo pozdější nebezpečí pro jednu nebo více složek životního prostředí - **N**



# NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 440/2008

- kterým se stanoví zkušební metody podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek
- ČÁST A: METODY PRO STANOVENÍ FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ
- ČÁST B: METODY STANOVENÍ TOXICITY A JINÝCH ÚČINKŮ NA ZDRAVÍ
- ČÁST C: METODY STANOVENÍ EKOTOXICITY



# ČÁST C: METODY STANOVENÍ EKOTOXICITY

- C.1. AKUTNÍ TOXICITA PRO RYBY
- C.2. ZKOUŠKA AKUTNÍ IMOBILIZACE DAFNIÍ (DAPHNIA SP.)
- C.3. ZKOUŠKA INHIBICE RŮSTU ŘAS
- C.4. STANOVENÍ „SNADNÉ“ BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI
- C.5. ROZKLAD – BIOCHEMICKÁ SPOTŘEBA KYSLÍKU
- C.6. ROZKLAD – CHEMICKÁ SPOTŘEBA KYSLÍKU
- C.7. ABIOTICKÝ ROZKLAD – HYDROLÝZA JAKO FUNKCE PH
- C.8. TOXICITA PRO ŽÍŽALY
- C.9. BIOLOGICKÁ ROZLOŽITELNOST – ZAHN – WELLENISOVA ZKOUŠKA
- C.10. BIOLOGICKÁ ROZLOŽITELNOST – SIMULAČNÍ ZKOUŠKA S AKTIVOVANÝM KALEM
- C.11. BIOLOGICKÁ ROZLOŽITELNOST – ZKOUŠKA NA INHIBICI DÝCHÁNÍ AKTIVOVANÉHO KALU
- C.12. BIOLOGICKÁ ROZLOŽITELNOST – MODIFIKOVANÁ ZKOUŠKA SCAS
- C.13. BIOAKUMULACE: PRŮTOKOVÁ ZKOUŠKA NA RYBÁCH
- C.14. RŮSTOVÁ ZKOUŠKA NA NEDOSPĚLÝCH RYBÁCH
- C.15. ZKOUŠKA KRÁTKODOBÉ TOXICITY NA RYBÍM EMBRYU A VÁČKOVÉM PLŮDKU
- C.16. ZKOUŠKA AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITY PRO VČELU MEDONOSNOU
- C.17. VČELA MEDONOSNÁ – ZKOUŠKA AKUTNÍ KONTAKTNÍ TOXICITY
- C.18. STANOVENÍ ADSORPCE/DESORPCE ŠARŽOVITOU ROVNOVÁŽNOU METODOU
- C.19. ODHAD ADSORPČNÍHO KOEFICIENTU (KOU) PRO PŮDY A ČISTÍRENSKÉ KALY POMOCÍ HPLC
- C.20. ZKOUŠKA TOXICITY PRO REPRODUKCI DAPHNIA MAGNA
- C.21. PŮDNÍ MIKROORGANISMY: ZKOUŠKA NA TRANSFORMACI DUSÍKU
- C.22. PŮDNÍ MIKROORGANISMY: ZKOUŠKA NA TRANSFORMACI UHLÍKU
- C.23. AEROBNÍ A ANAEROBNÍ TRANSFORMACE V PŮDĚ
- C.24. AEROBNÍ A ANAEROBNÍ TRANSFORMACE V SYSTÉMECH VODA/SEDIMENT



# Další prováděcí předpisy

163/2012 Sb., Vyhláška o zásadách správné laboratorní praxe

402/2011 Sb., Vyhláška o hodnocení nebezpečných vlastností chemických látek a chemických směsí a balení a označování nebezpečných chemických směsí

- Obecné postupy pro hodnocení nebezpečných vlastností látky a směsi a označování směsi

2. KLASIFIKACE NA ZÁKLADĚ FYZIKÁLNĚ - CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ

3. KLASIFIKACE NA ZÁKLADĚ VLASTNOSTÍ NEBEZPEČNÝCH PRO ZDRAVÍ

4. KLASIFIKACE NA ZÁKLADĚ SPECIFICKÝCH ÚČINKŮ NA ZDRAVÍ

5. KLASIFIKACE NA ZÁKLADĚ ÚČINKŮ NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

## **Vyhláška MPO č. 402/2011 Sb. o hodnocení nebezpečných vlastností chemických látek a chemických směsí a balení a označování nebezpečných chemických směsí.**

1. Stanoví postupy a metody pro klasifikaci nebezpečných látek – pro zařazení do jednotlivých tříd nebezpečnosti.
2. Pravidla pro označování látek a směsí.
3. Rizikové věty, R-věty
4. Bezpečnostní věty, S-věty
5. Příklady R-vět:  
R14 – prudce reaguje s vodou, R25 – toxický při požití,  
R39 – nebezpeční velmi vážného poškození zdraví
6. Příklady S – vět:  
S24 – zamezte styku s kůží, S30 – k tomuto výrobku nikdy nepřidávejte vodu, S39 – používejte osobní ochranné prostředky pro oči a obličej.



# Označování chemických látek, přípravků a směsí

- Označování chemických látek a přípravků se doposud řídilo evropskými směrnicemi 67/548/EHS a 1999/45/ES, které jsou prosazovány národním zákonem daného členského státu EU ("Chemický zákon").
- Štítky chemikálií označovaných podle této legislativy obsahují R a S věty, které informují o rizicích (**R = risk**) a bezpečném nakládání (**S = safety**) a dále symboly nebezpečnosti (černý symbol v oranžovém čtverci).
- Vzhledem k tomu, že označování chemikálií dle této směrnice bylo závazné pouze pro členské státy EU, docházelo často ke komplikacím v převodu klasifikace a označení chemikálií dovážených z jiných teritorií (např. systém HAZMAT používaný v USA).



# Zákon 350/2011 Sb. o chemických látkách a směsích

Nový zákon o chemických látkách a chemických směsích (CHLaS) již v sobě obsahuje požadavky nové Evropské směrnice ES 1272/2008 (CLP).

Zákon již obsahuje požadavky pro nový způsob klasifikace chemických látek a nový způsob značení nebezpečných vlastností požadavky na způsob značení a uvádění informací upozorňujících na nebezpečí (H věty) a věty obsahující pokyny pro bezpečné zacházení (P věty) s chem. látkami.

Dále je směrnicí a zákonem stanoven povinný rozsah informací v Bezpečnostním listu (BL).

# Zákon 350/2011 Sb. o chemických látkách a směsích

Požadavky Evropské směrnice jsou vyžadovány pro látky již od prosince 2010.

**Pro směsi se nacházíme v přechodném období.**

Splnění požadavků pro směsi (po staru „přípravky“) je platné od 1.6.2015.

## **Platí:**

U čistých látek musí být již aktuální BL s datem aktualizace po 2008.

U směsí může být do 1.6.2015 souběh starých BL a již nové BL podle nových předpisů.

**Označení nebezpečných  
vlastností dle 402/2011  
vychází z nař. vlády  
232/2004**



výbušný



oxidující



extrémě  
hořlavý



vysoce hořlavý



vysoce toxický



toxický



zdraví škodlivý



dráždivý



žravý



nebezpečný  
pro životní  
prostředí

232/2004 Sb. Nařízení vlády, kterým se provádějí některá ustanovení zákona o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, týkající se klasifikace, balení a označování nebezpečných chemických látek a chemických přípravků.

# R- a S-věty

- Standardní věty pro popis rizika a bezpečného nakládání
- R- věty označují specifické nebezpečí
- S- věty - popis bezpečného nakládání
- Jednotlivé věty jsou číslované, uvádí se jak číselné označení, tak plný text
- Shodné věty v celé EU

Příklady R-vět:

R 31.1 Uvolňuje jedovatý plyn při styku s louhy

R 38 Dráždí kůži

R 46 Může způsobit dědičné genetické poškození



- R20 zdraví škodlivý při vdechování
- R21 zdraví škodlivý při styku s kůží
- R22 zdraví škodlivý při požití
- R23 toxický při vdechování
- R24 toxický při styku s kůží
- R25 toxický při požití
- R26 vysoce toxický při vdechování
- R27 vysoce toxický při styku s kůží
- R28 vysoce toxický při požití
- R29 uvolňuje toxický plyn při styku s vodou
- R30 při používání se může stát vysoce hořlavým
- R31 uvolňuje toxický plyn při styku s kyselinami
- R32 uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami
- R33 nebezpečí kumulativních účinků
- R36 dráždí oči
- R37 dráždí dýchací orgány
- R38 dráždí kůži
- R39 nebezpečí velmi vážných nevratných účinků
- R40 podezření na karcinogenní účinky
- R41 nebezpečí vážného poškození očí
- R42 může vyvolat senzibilizaci při vdechování
- R43 může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží
- R45 může vyvolat rakovinu
- R46 může vyvolat poškození dědičných vlastností
- R48 při dlouhodobé expozici nebezpečí vážného poškození zdraví
- R49 může vyvolat rakovinu při vdechování

R50 vysoce toxický pro vodní organismy

R51 toxický pro vodní organismy

R52 škodlivý pro vodní organismy

R53 může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí

R54 toxický pro rostliny

R55 toxický pro zvířata

R56 toxický pro půdní organismy

R57 toxický pro včely

R58 může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky v životním prostředí

R59 nebezpečný pro ozónovou vrstvu

R60 může poškodit reprodukční schopnost

R61 může poškodit plod v těle matky

R62 možné nebezpečí poškození reprodukční schopnosti

R63 možné nebezpečí poškození plodu v těle matky

R64 může poškodit kojence

prostřednictvím mateřského mléka

### 5.2.1 Vodní prostředí

5.2.1.1 Látky se klasifikují jako nebezpečné pro životní prostředí a přiřadí se jim výstražný symbol „N“ a R-věty podle následujících kritérií:

**R50 Vysoce toxický pro vodní organismy a**

**R53 Může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí**

Akutní toxicita: LC50 (96 hod., ryby)  $\leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo

- EC50 (48 hod., dafnie)  $\leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo IC50 (72 hod., řasy)  $\leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$ , a
- látka není snadno rozložitelná nebo  $\log \text{Pow} \geq 3,0$

**R50 Vysoce toxický pro vodní organismy**

Akutní toxicita: LC50 (96 hod., ryby)  $\leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo

- EC50 (48 hod., dafnie)  $\leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo IC50 (72 hod., řasy)  $\leq 1 \text{ mg.l}^{-1}$ ,

**R51 Toxický pro vodní organismy a R53 Může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí**

Akutní toxicita:

- LC50 (96 hod., ryby)  $1 \text{ mg.l}^{-1} < \text{LC50} \leq 10 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo
- EC50 (48 hod., dafnie)  $1 \text{ mg.l}^{-1} < \text{EC50} \leq 10 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo
- IC50 (72 hod., řasy)  $1 \text{ mg.l}^{-1} < \text{IC50} \leq 10 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- a látka není snadno rozložitelná, nebo  $\log \text{Pow} \geq 3$



LC<sub>50</sub> - úhyn 50 % testovacích organismů

EC<sub>50</sub> - úhyn či imobilizace 50 % organismů

IC<sub>50</sub> - 50procentní inhibice růstu

### **R52 Škodlivý pro vodní organismy a R53 Může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí**

Akutní toxicita:

LC50 (96 hod., ryby)  $10 \text{ mg.l}^{-1} < \text{LC50} \leq 100 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo

EC50 (48 hod., dafnie)  $10 \text{ mg.l}^{-1} < \text{EC50} \leq 100 \text{ mg.l}^{-1}$ , nebo

IC50 (72 hod., řasy)  $10 \text{ mg.l}^{-1} < \text{IC50} \leq 100 \text{ mg.l}^{-1}$ ,

a látka není snadno rozložitelná

### 5.2.2 Ostatní prostředí

5.2.2.1 Látky a směsi se klasifikují jako nebezpečné pro životní prostředí a přiřadí se jim výstražný symbol „N“ a R-věty na základě níže uvedeného kritéria:

- **R54 Toxický pro rostliny**
- **R55 Toxický pro živočichy**
- **R56 Toxický pro půdní organismy**
- **R57 Toxický pro včely**
- **R58 Může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky v životním prostředí**

Látky a směsi, které na základě dostupných důkazů o jejich toxicitě, stálosti, kumulativní schopnosti a předvídanému nebo pozorovanému vlivu a chování v životním prostředí mohou představovat okamžité, dlouhodobé nebo opožděné nebezpečí pro strukturu nebo funkci přírodních ekosystémů

# Globálně harmonizovaný systém klasifikace a označování chemikálií (GHS)

- systém Organizace spojených národů pro identifikaci nebezpečných chemikálií a pro informování uživatelů o těchto nebezpečích prostřednictvím symbolů a vět na štítcích obalů a prostřednictvím bezpečnostních listů.
- Evropský parlament a Rada přijaly dne 16. prosince 2008 Nařízení o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, které sladuje stávající legislativu Evropské unie se systémem GHS (tzv. Nařízení CLP)

Přechod k novému systému GHS. Po dobu přechodného období zabezpečuje předpis existenci starého i nového systému.

- Pro látky: od 1. prosince 2010 se látky označují podle nového systému klasifikace a značení, přičemž v listech bezpečnostních údajů se uvádí současně i starý systém s novým systémem.
- Pro směsi: Do 1. června 2015 mají podniky zodpovědné za značení chemikálií možnost výběru jednoho ze dvou systémů pro směsi. Když si vyberou nový systém v listě bezpečnostních údajů budou uvedeny obě klasifikace.
- Od 1. června 2015 platí pouze nový systém GHS.



## Nařízení CLP

### Klasifikace, označování a balení látek a směsí (Classification, Labeling and Packaging of substances and mixtures)

- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008, o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006.
- obsahuje kritéria pro klasifikaci a označování látek a směsí stanovená Globálně harmonizovaným systémem klasifikace a označování chemických látek (GHS), který byl přijat na mezinárodní úrovni v rámci Organizace spojených národů.
- seznam **standardních vět o nebezpečnosti (H—vět)** a seznam **pokynů pro bezpečné zacházení (P—vět)**

# GHS (Globally Harmonized System) CLP (Classification and Labelling of Chemicals)

**Fyzikální nebezpečnost** - více kategorií

**Zdravotní nebezpečnost**

- Akutní toxicita
- Poleptání kůže, podráždění kůže
- Vážné poškození očí, podráždění očí
- Sensibilizace dýchacích orgánů
- Sensibilizace kůže
- Mutagenita v zárodečných buňkách
- Karcinogenita
- Toxicita pro reprodukci
- Toxicita pro specifické cílové orgány
- Nebezpečí při vdechnutí

**Nebezpečnost pro životní prostředí**

- Akutní nebezpečí pro vodní prostředí
- Chronické nebezpečí pro vodní prostředí



**Podle CLP:**

Štítky chemikálií obsahují mj. **H a P věty**

- informují o nebezpečnosti (**H = hazard**)
- o preventivních opatřeních (**P = precaution**)
- symboly nebezpečnosti (černý symbol v bílém čtverci postaveném na špici s červeným lemováním)
- uvádí také tzv. **signální slovo "Nebezpečí"** pro látky nebezpečné, nebo slovo **"Varování"** pro kategorie s nižší úrovní nebezpečnosti.

# CLP Nové značení nebezpečných vlastností





Látky výbušné **E**



Nestabilní výbušniny



Látky extrémně hořlavé **F<sup>+</sup>**  
Látky vysoce hořlavé **F**



Hořlavé plyny, pevné látky,  
kapaliny







Látky oxidující **O**

Není ekvivalent



Oxidující plyny, kapaliny,  
tuhé látky



Plyny pod tlakem,  
stlačené, zkapalněné,  
chlazené, rozpuštěné





Látky žíravé



Látky a směsi korozivné  
pro kovy, žíravost pro  
kůži, vážné poškození očí



Látky vysoce toxické T<sup>+</sup>  
Látky toxické T



Akutní toxicita  
kategorie 1, 2, 3

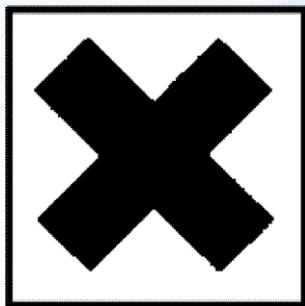




Není ekvivalent

Senzibilizace dýchacích cest, kat. 1, mutagenita v zárodečných buňkách, kat. 1A, 1B, 2, karcinogenita, kat. 1A, 1B, 2, toxicita pro reprodukci, kat. 1A, 1B, 2, toxicita pro specifické cílové orgány, kat. 1, 2, nebezpečnost při vdechnutí, kat. 1





Látka zdraví škodlivá  $X_n$   
Látka dráždivá  $X_i$



Látka nebezpečná pro  
životní prostředí  $N$



Akutní toxicita,  
kategorie 4



Nebezpečný pro vodní  
prostředí - akutně, kat. 1,  
chronicky, kat. 1, 2.

# Pesticidy

**Zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči** a o změně některých souvisejících zákonů – ve znění pozdějších předpisů (zákon č. 199/2012)

- Předmět zákona – soulad s předpisy ES, registrace, uvádění na trh, používání a kontroly, látky považované za registrované podle REACH
- Balení a označování přípravků na ochranu rostlin – podle „chemického“ zákona (též klasifikace, vývoz a dovoz), na obalu rozhodnutí o registraci, název účinné látky, bezpečnostní pokyny
- Zakázané látky k ochraně rostlin – HgO, hexachlorbenzen, perzistentní chlorované sloučeniny
- Povolování přípravků - Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský – dle předpisů EU
- Posouzení přípravků včetně jeho použití z hlediska ochrany zdraví zajišťuje Ministerstvo zdravotnictví (toxikologický posudek) na základě hodnocení vypracovaného Státním zdravotním ústavem
- Omezení použití přípravků – dle jejich toxicity podle chemického zákona, dle nebezpečnosti pro necílové organismy – suchozemské obratlovce nebo včely

# Pesticidy



## Zákon **326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči**

– ochrana před chorobami a škůdci

## Vyhláška **32/2012 Sb.** O přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin

- Povinnosti a náležitosti registrace
- Podrobná charakterizace vlastností, mechanismus účinku
- Podmínky skladování, aplikace

Příloha1: Údaje o pomocném prostředku a související doklady, které musí obsahovat žádost o zápis pomocného prostředku do úředního registru

### **A Údaje o pomocném prostředku**

- 1 Identifikace prostředku - údaje o žadateli, o výrobcí, mechanismus účinku, složení prostředku
- 2 Údaje o použití na ochranu rostlin, předpokládá-li se
- 3 Další informace o prostředku
- 4 Analytické metody
- 5 Rizika pro zdraví lidí
- 6 Rizika z použití prostředku, zejména pro včely, zvěř a vodní organizmy, pro zdraví zvířat a životní prostředí

# Pesticidy

- **Vyhláška č. 327/2012 Sb., o ochraně včel, zvířete, vodních organismů a dalších necílových organismů při použití přípravků na ochranu rostlin**

stanoví

- a) podrobnosti k ochraně včel, zvířete, vodních organismů a některých dalších necílových organismů při použití přípravků na ochranu rostlin,
- b) způsob odběru vzorků za účelem vyšetření příčiny úhynu včel, zvířete a ryb, kterou může být použití přípravků



# Hodnocení odpadů

## Zákon 185/2001 o odpadech ve znění zákona 106/2005

(poslední změna: zákon č. 383/2008 Sb.)

Akreditované zkoušky ekotoxicity jsou prováděny v souladu s vyhláškami a nařízením vlády v platném znění:

- **Vyhláška 294/2005 Sb. o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu**
- **Vyhláška 376/2001 Sb. (+ 502/2004 Sb.) o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů**
- Vyhlášky **383/2001, 41/2005, 351/2008, 478/2008** o podrobnostech nakládání s odpady
- Všechny předepsané testy se provádějí ve vodném výluhu. Je samozřejmé, že pokud odpad obsahuje nebezpečné a toxické látky, které však nejsou ve vodě rozpustné (například polyaromatické uhlovodíky, PCB a mnoho dalších persistentních organických polutantů), nevypovídají výsledky testů ekotoxicity vodného výluhu o reálné toxicitě materiálu.  
V zemích EU jsou již zavedeny nebo se zavádějí pro pevné materiály tzv. kontaktní testy, to jsou testy ekotoxicity prováděné přímo ve zkoušeném materiálu, bez přípravy vodného výluhu vzorku, a proto zahrnují vliv všech přítomných kontaminujících složek.



## **Vyhláška 376/2001 o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů**

- zahrnut i odběr vzorků

Příloha č. 1. Definice nebezpečných vlastností odpadů a kritéria hodnocení nebezpečných vlastností odpadů.

Odpad se hodnotí jako nebezpečný, jestliže je překročeno alespoň jedno z kritérií :

- H1 Výbušnost
- H2 Oxidační schopnost
- H3 Hořlavost
- H4 Dráždivost
- H5 Škodlivost zdraví
- H6 Toxicita
- H7 Karcinogenita
- H8 Žíravost
- H9 Infekčnost
- H10 Teratogenita (toxicita pro reprodukci)
- H11 Mutagenita
- H12 Schopnost uvolňovat vysoce toxické a toxické plyny ve styku s vodou, vzduchem nebo kyselinami
- H13 Schopnost uvolňovat nebezpečné látky do životního prostředí při nebo po jejich odstranění
- **H14 Ekotoxicita**

# H14 Ekotoxicita

Tuto nebezpečnou vlastnost mají odpady, které představují nebo mohou představovat akutní nebo pozdní nebezpečí pro jednu nebo více složek životního prostředí.

Jako nebezpečný se hodnotí odpad, jehož vodný výluh vykazuje ve zkouškách uvedených v bodě 7 přílohy č. 3 akutní toxicitu alespoň pro jeden z testovacích organismů při určené době působení testovaného odpadu na testovací organismus:

- a) ryby - *Poecilia reticulata* nebo *Brachydanio rerio* (doba působení 96 hod.)
- b) bezobratlí - *Daphnia magna* (doba působení 48 hod.)
- c) řasy - *Raphidocelis subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*) nebo *Scenedesmus subspicatus* (doba působení 72 hod.)
- d) klíčivost rostlin - semeno *Sinapis alba* (doba působení 72 hod.)

tyto hodnoty:  $LC(EC, IC)_{50} \leq 10 \text{ ml.l}^{-1}$

## Vysvětlivky:

- LC 50 - koncentrace, která způsobí úhyn 50 % testovacích ryb ve zvoleném časovém úseku.
- EC 50 - koncentrace, která způsobí úhyn nebo imobilizaci 50 % testovacích organismů (*Daphnia magna*).
- IC 50 - koncentrace, která způsobí 50procentní inhibici růstu nebo růstové rychlosti řasové kultury nebo 50procentní inhibici růstu kořene *Sinapis alba* ve srovnání s kontrolou ve zvoleném časovém úseku.

## **Příloha č. 3: Metody hodnocení nebezpečných vlastností odpadů**

Pro hodnocení vlastnosti H14 ekotoxicita se použijí metody:

Pro zkoušky akutní toxicity:

- ČSN EN ISO 6341 Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Zkouška akutní toxicity
- ČSN EN 28692 Jakost vod - Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas *Scenedesmus subspicatus* a *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692; 1989)
- ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod - Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] - část 2: Obnovovací metoda
- Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapsis alba*). Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ke stanovení ekotoxicity odpadů.

# Vyhláška 294/2005 o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu

Příloha 2. Vyluhovatelnost odpadů a třídy vyluhovatelnosti.

## 1. Úprava vzorku a příprava vodného výluhu

- Při úpravě vzorku a následné přípravě vodného výluhu se postupuje podle ČSN EN 12457-4. Pro filtraci výluhu určeného k ekotoxikologickým testům se použijí papírové filtry se střední velikostí póru 5 $\mu$ m.

### **Vyluhovatelnost odpadů a třídy vyluhovatelnosti**

#### **1. Úprava vzorku a příprava vodného výluhu**

Při úpravě vzorku a následné přípravě vodného výluhu se postupuje podle ČSN EN 12457-4 (83 8005). Předběžná úprava vzorku odpadů upravených stabilizací je uvedena v příloze č.7. Pro filtraci výluhu určeného k ekotoxikologickým testům se použijí papírové filtry se střední velikostí póru 5 $\mu$ m.

#### **2. Analytické metody**

Referenční analytické metody jsou uvedeny v příloze č. 12. K rozborům lze použít i jiných srovnatelných metod pro daný účel validovaných.

#### **3. Třídy vyluhovatelnosti**

Nejvýše přípustné hodnoty ukazatelů – koncentrací škodlivin ve vodném výluhu odpadu (v mg/l) pro jednotlivé třídy vyluhovatelnosti jsou uvedeny v tabulce č. 2.1.

# Příloha č. 12 – Technické normy pro analytická stanovení

## Stanovení

## Norma

Ekotoxická

Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů (Věstník MŽP 6/2003)

**4/2007**

Ekotoxikologické testy

ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] – část 2: Obnovovací metoda

ČSN EN ISO 6341 Jakost vod – Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – Zkouška akutní toxicity

ČSN EN 28692 Jakost vod – Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas Scenedesmus subspicatus a Selastrum capricornutum (ISO 8692; 1989)

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

Testovaný organismus	Doba působení [hodina]	I.	II.
Poecilia reticulata, nebo Brachydanio rerio	96	ryby nesmí vykazovat v ověřovacím testu výrazné změny chování ve srovnání s kontrolními vzorky a nesmí uhynout ani jedna ryba	ryby nesmí vykazovat v ověřovacím testu výrazné změny chování ve srovnání s kontrolními vzorky a nesmí uhynout ani jedna ryba
Daphnia magna Straus	48	procento imobilizace perlooček nesmí v ověřovacím testu přesáhnout 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky	procento imobilizace perlooček nesmí v ověřovacím testu přesáhnout 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky
Raphidocelis subcapitata (Selastrum capricornutum) nebo Scenedesmus subspicatus	72	neprokáže se v ověřovacím testu inhibice růstu řasy větší než 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky	neprokáže se v ověřovacím testu inhibice nebo stimulace růstu řasy větší než 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky
semena Sinapsis alba	72	neprokáže se v ověřovacím testu inhibice růstu kořene semene větší než 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky	neprokáže se v ověřovacím testu inhibice nebo stimulace růstu kořene semene větší než 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky

– úkol – seznámit se s  
Metodickým pokynem odboru  
odpadů ve Věstníku MŽP 4/2007  
– studijní materiály

# Hodnocení toxicity sedimentů

Vyhláška č. **257/2009 Sb., o použití sedimentů na zemědělské půdě**

Chemické limity pro sediment i půdu, limity dávky a vrstvy, limit zrnitosti

V příloze č. 4 jsou doporučeny 4 ekotoxikologické testy, vzhledem ke scénáři (odvodněný sediment je aplikován na obyčejnou zemědělskou půdu) jsou to testy kontaktní

Provedení těchto testů není vyžadováno plošně pro všechny hodnocené sedimenty, pokud je však podezření na kontaminaci i jinými než limitovanými látkami, či na jiné důvody ekotoxicity či nevhodnosti sedimentu, je orgán ochrany zemědělského půdního fondu oprávněn uložit stanovení vybraných testů ekotoxicity

- Test toxicity půd a půdních materiálů na roupici *Enchytraeus crypticus* dle ISO 16387 (2004)
- Test toxicity půd a půdních materiálů na chvostoskoka *Folsomia candida* dle ISO 11267 (1999)
- Stanovení inhibice nitrifikace v půdách a půdních materiálech dle ISO 15685 (2004)
- Test inhibice růstu vyšších rostlin dle ISO 11269-1 (1993)

# Příklad standardně využívaných/nabízených akreditovaných zkoušek (firma ENVISAN)

Pořadové číslo	Název zkušebního postupu/metody	Identifikace zkušebního postupu/metody	Předmět zkoušky
1	Zkouška inhibice pohyblivosti dafnií	SOP 1.1 (ČSN EN ISO 6341-1)	voda*, vodný výluh, vodný roztok chemických látek
2	Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas	SOP 1.2 (ČSN EN ISO 8692)	voda*, vodný výluh, vodný roztok chemických látek
3	Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby	SOP 1.3 (ČSN EN ISO 7346-2)	voda*, vodný výluh, vodný roztok chemických látek
4	Zkouška inhibice růstu kořene hořčice	SOP 1.4 (Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů, Věstník MŽP, částka 4, duben 2007)	voda*, vodný výluh, vodný roztok chemických látek
5	Zkouška inhibice růstu kořene jednoděložných a dvouděložných rostlin	SOP 1.5 (Modifikace Metodického pokynu odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů, Věstník MŽP, částka 4, duben 2007)	voda*, vodný výluh, vodný roztok chemických látek
6	Stanovení inhibičního účinku vzorků na světelnou emisi <i>Vibrio fischeri</i>	SOP 1.8 (ČSN EN ISO 11348)	voda*, vodný výluh, vodný roztok chemických látek



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována  
Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem  
České republiky