



Ekologické laboratoře EMPLA

Zkušební laboratoř č. 1110 akreditovaná ČIA podle ČSN EN ISO/IEC 17025: 2018

EMPLA AG spol. s r. o., Za Škodovkou 305, 503 11 Hradec Králové,
tel.: +420 495 218 875, fax: +420 495 217 499, e-mail: empla@empla.cz

Ekotoxikologická laboratoř

Kontakt: toxikologie@empla.cz

Protokol o zkoušce č. T 565/2024 Biologická rozložitelnost

Zadavatel / zákazník: EatGreen s r.o.
Rovienka 4
985 05 Kokava nad Rimavicou

Zkoušený vzorek: Laundry sheets no fragrance

Evidenční číslo vzorku: 7693

Číslo objednávky: 1134/24 – 21. 06. 2024

Místo provedení zkoušek: Pracoviště P1

Požadavky: Stanovení biologické rozložitelnosti podle OECD
301 D (test v uzavřených lahvičkách)

Číslo odběrového protokolu: odebral zákazník

Datum provedení zkoušky: 25. 06. 2024 – 23. 07. 2024

Zkoušku provedl: Ivona Čefelínová

Protokol vypracoval: Ivona Čefelínová

Vedoucí Ekol. lab. EMPLA: Ing. Mojmír Špaček, Ph.D.

V Hradci Králové dne 25. 07. 2024

EMPLA AG spol. s r.o. ®
Za Škodovkou 305
503 11 Hradec Králové
IČO: 25996240 DIČ: CZ25996240
Tel.: 495 218 875



Ing. Mojmír Špaček, Ph.D.
Vedoucí Ekologických
laboratoří EMPLA

Bez písemného souhlasu Ekologických laboratoří EMPLA se nesmí protokol reprodukovat jinak než celý.

1 Metoda testování

OECD 301 D

Biologická rozložitelnost organických látek: Zkouška v uzavřených lahvičkách (akreditovaný postup č. 308 - SOP ET 8 – Nařiz. Komise 440/2008 met. C4-E, ČSN ISO 10707).

Podstata zkoušky:

Roztok zkoušené látky (jako jediný zdroj organického uhlíku) v minerálním médiu, obvykle o koncentraci 2-5 mg/l, se inokuluje malým množstvím mikroorganismů ze smíšené kultury a udržuje se ve zcela naplněných uzavřených lahvičkách, v temnu a při konstantní teplotě.

Rozklad se sleduje po dobu 28 dnů prostřednictvím analýzy rozpuštěného kyslíku. Množství spotřebovaného kyslíku po korekci se souběžnou slepou zkouškou s inokulem se vyjádří jako TSK (teoretická spotřeba kyslíku) nebo CHSK (chemická spotřeba kyslíku).

Biologická rozložitelnost převyšující 60 % během 28 dní je definována jako kritérium pro klasifikaci konkrétní testované látky jako snadno odbouratelné.

Metoda analýzy rozpuštěného kyslíku:

Membránovou kyslíkovou elektrodou.

Inokulum:

Zdrojem inokula byl filtrovaný odtok z městské ČOV v Hradci Králové, 24 hodin intenzivně provzdušňovaný.

Výsledná koncentrace inokula v reakční směsi byla 4,0 ml/l.

Zkušební podmínky:

Inkubace BSK lahviček probíhala v termostatu ve tmě při teplotě 20 - 25 °C.
Teplota musí být během testu konstantní (± 1 °C)

Trvání testu: 28 dní

2 Provedení zkoušky

Testovaná položka – vzorek č. 7693

Počáteční CHSK _{Cr} testované látky:	6,5 mg/l
Koncentrace zákl. roztoku:	1000 mg/l
CHSK _{Cr} testované látky:	1,989 mg/mg látky
Množství test. látky v testu:	3,25 ml/l vzorku

Název použité referenční látky: Benzoan sodný

Počáteční CHSK _{Cr} referenční látky:	6,5 mg/l
Koncentrace zákl. roztoku ref. látky:	1000 mg/l
CHSK _{Cr} referenční látky:	1,850 mg/mg látky
Množství referenční látky v testu:	3,5 ml/l zásobního roztoku

Počet lahviček v testu: 10 ks
(pro testovanou látku, blank s inokulem, a kontrolu s refer. látkou)

Analýza rozpuštěného kyslíku a pH

měření v den přípravy, a potom po 7, 14, 21, 28 dnech (konec testování).
Rozpuštěný kyslík je měřen v uvedeném čase vždy ve dvou lahvičkách
Poté je změřeno pH.

Test inhibice:

Ke zjištění toxicity testované látky byl proveden test inhibice.

3 Výpočty a vyjádření výsledků

Všechny naměřené hodnoty byly shrnuty do tabulek. Výpočet hodnot biologické rozložitelnosti byl proveden tak, že se nejprve vypočítala spotřeba kyslíku ($\text{mg O}_2/\text{l}$) v každém časovém intervalu odečtením koncentrace kyslíku slepého pokusu (průměrná hodnota ze dvou stanovení) od spotřeby kyslíku způsobené zkoušenou sloučeninou. Takto získaný výsledek byl vydělen koncentrací zkoušené látky (mg zkoušené látky v lahvi) a tím se získala specifická BSK (biologická spotřeba kyslíku) v mg kyslíku na mg látky.

Procentní biologická rozložitelnost byla vypočítána jako podíl specifické BSK a CHSK_{Cr} (v mg kyslíku na mg zkoušené látky). Nakonec byla vypočítána průměrná hodnota biologické rozložitelnosti v procentech ze souběžných zkoušek.

Vzorce pro výpočet biologické rozložitelnosti:

$$S_t = ({}^1S_t + {}^2S_t)/2$$

$${}^1\text{BDG} = \{[({}^1T_0 - {}^1T_t) - (S_0 - S_t)]/\text{CHSK}_0\} * 100$$

obdobně i pro ${}^2\text{BDG}$

$$\text{BDG} = ({}^1\text{BDG} + {}^2\text{BDG})/2$$

BDG – biologická rozložitelnost v %

T_t – je koncentrace rozp. kyslíku v mg/l v 1. (resp. 2.) kyslíkovce s testovanou látkou v čase t

S_t – je koncentrace rozp. kyslíku v mg/l v 1. (resp. 2.) kyslíkovce, slepé stanovení, v čase t

Vyjádřování výsledků.

Procentuální hodnota biologického rozkladu v čase t je definována jako podíl specifické BSK a specifické TSK nebo CHSK. Výsledky se vyjadřují v % na jedno desetinné místo.

Stejný postup výpočtu byl použit i pro srovnávací (referenční) látku.

Výsledek se vyjadřuje graficky jako funkce času. V přehledných grafech - viz str. 5 a 6 byly vyneseny průměrné hodnoty procentického biologického rozkladu v závislosti na čase (křivka biologického rozkladu). Z této křivky lze odečíst parametry popisující biologický rozklad, zvláště lag fázi, dobu rozkladu a maximální stupeň rozkladu.

1. Výsledky zkoušky - Laundry sheets no fragrance

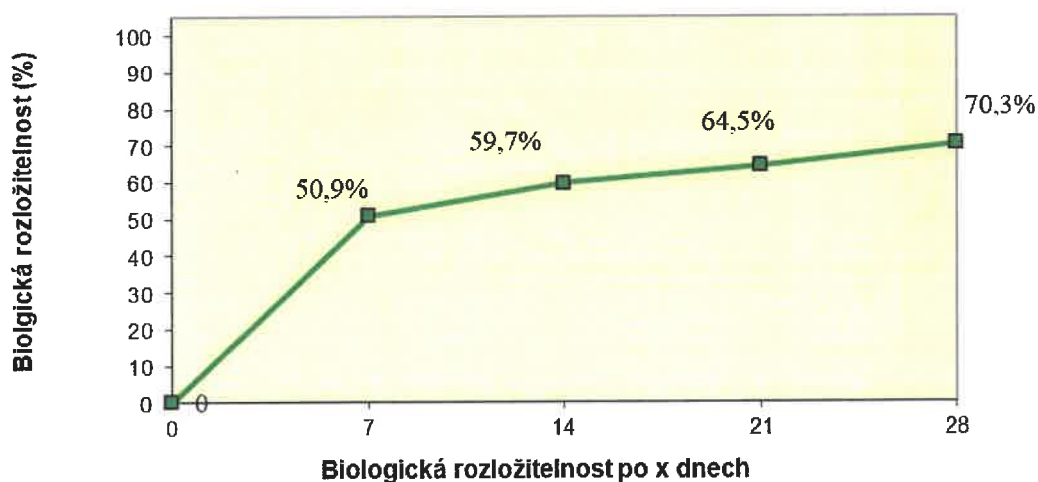
Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku

Druh stanovení	Počet nasazení	Koncentrace rozpuštěného kyslíku v mg/l po x dnech				
		0 dnů	7 dnů	14 dnů	21 dnů	28 dnů
Testovaná položka s inokulem	1.	8,12	4,15	3,42	2,77	2,52
	2.	8,12	4,07	3,25	3,03	2,37
	Průměr	8,12	4,11	3,34	2,90	2,45
Slepé stanovení s inokulem	1.	8,12	7,33	7,26	7,07	6,98
	2.	8,12	7,51	7,17	7,11	7,05
	Průměr	8,12	7,42	7,22	7,09	7,02

Biologická rozložitelnost:

Jednotlivá nasazení Laundry sheets no fragrance	Vypočtená biologická rozložitelnost po x dnech				
	0 dnů	7 dnů	14 dnů	21 dnů	28 dnů
1.nasazení	0%	50,3%	58,4%	66,5%	69,2%
2.nasazení	0%	51,5%	61,0%	62,5%	71,5%
Průměr těchto nasazení	0%	50,9%	59,7%	64,5%	70,3%

Biologická rozložitelnost Laundry sheets no fragrance



2. Výsledky zkoušky - Referenční látka

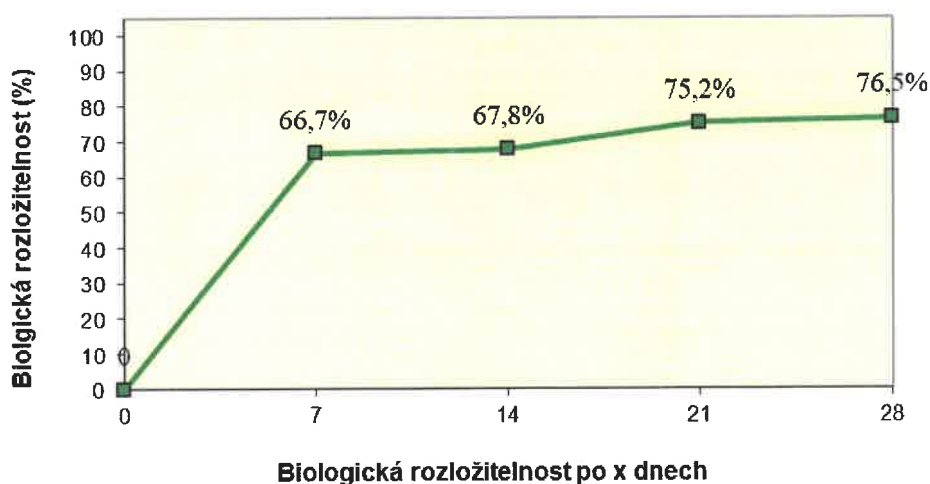
Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku

Druh stanovení	Počet nasazení	Koncentrace rozpuštěného kyslíku v mg/l po x dnech				
		0 dnů	7 dnů	14 dnů	21 dnů	28 dnů
Testovaná položka s inokulem	1.	8,1	3,17	2,73	2,26	2,05
	2.	8,1	2,96	2,85	2,11	1,99
	Průměr	8,10	3,07	2,79	2,19	2,02
Slepé stanovení s inokulem	1.	8,12	7,33	7,26	7,07	6,98
	2.	8,12	7,51	7,17	7,11	7,05
	Průměr	8,12	7,42	7,22	7,09	7,02

Biologická rozložitelnost:

Jednotlivá nasazení Benzoan sodný	Vypočtená biologická rozložitelnost po x dnech				
	0 dnů	7 dnů	14 dnů	21 dnů	28 dnů
1.nasazení	0%	65,1%	68,7%	74,0%	76,1%
2.nasazení	0%	68,3%	66,8%	76,3%	77,0%
Průměr těchto nasazení	0%	66,7%	67,8%	75,2%	76,5%

Biologická rozložitelnost Benzoan sodný



4 Přehled výsledků

Testovaný vzorek – Laundry sheets no fragrance

Biologická rozložitelnost
stanovená dle OECD 301 D = 70,3% za 28 dnů.

U testovaného vzorku došlo po 28 dnech k 70,3% biologickému rozkladu.

Biologická rozložitelnost splňuje klasifikaci testovaného vzorku jako snadno odbouratelný podle Nařízení (ES) č. 648/2004.

Referenční látka - Benzoan sodný

Biologická rozložitelnost
stanovená dle OECD 301 D = 76,5% za 28 dnů.

Referenční látka se dobře rozkládá. Po 28 dnech došlo celkově k 76,5% biologické rozložitelnosti. Již po 14 dnech testování bylo dosaženo 67,8 % biologické rozložitelnosti.

Byla tím splněna kritéria pro odbouratelnost referenční látky.

5 Platnost zkoušky

- Úbytek koncentrace kyslíku při slepém stanovení nesmí po 28 dnech přesáhnout 1,5 mg/l. Při tomto testu bylo dosaženo úbytku kyslíku při slepém stanovení po 28 dnech 1,1 mg/l.
- Zbytková koncentrace rozpuštěného kyslíku v lahvičkách nesmí být nikdy nižší než 0,5 mg/l. Při tomto testu bylo dosaženo zbytkové koncentrace rozpuštěného kyslíku v lahvičkách 2,02 mg/l, a to u referenční látky.
- Zkouška je platná, jestliže na konci zkoušky jsou mezní rozdíly v hodnotách u dvou souběžných stanovení menší než 20 %.
V tomto testu za 28 dnů zkoušky nebyly mezní rozdíly v hodnotách u dvou souběžných stanovení vyšší než 20 %.
- Biologický rozklad referenční sloučeniny musí dosáhnout 60 % po 14 dnech inkubace. Biologický rozklad referenční sloučeniny v tomto testu dosáhl 67,8 % po 14 dnech inkubace.

Hodnoty nejistot stanovení jsou na vyžádání k dispozici v laboratoři.
Vzorek odebraný/dodaný zákazníkem byl analyzován tak, jak byl přijat.
Laboratoř nenese zodpovědnost za údaje o vzorku dodané zákazníkem
KONEC PROTOKOLU