

# Ekologické laboratoře EMPLA

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 404/2025 Biologická rozložitelnost

**Zadavatel / zákazník:** MALINNA PRODUCTS s.r.o.  
Písečná 451/6  
182 00 Praha 8

**Zkoušený vzorek:** Isokor LM DESCALING

**Evidenční číslo vzorku:** 4030

**Číslo objednávky:** 733/25 – 01. 04. 2025

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

**Číslo odběrového protokolu:** odebral zákazník

**Datum provedení zkoušky:** 09. 04. 2025 – 07. 05. 2025

**Zkoušku provedl:** Ivona Čefelínová

**Protokol vypracoval:** Ivona Čefelínová

**Datum vystavení protokolu:** 21. 05. 2025

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

**Schválil:**

**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** (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 ( $\pm 1$  °C)

**Trvání testu:** 28 dní

## 2 Provedení zkoušky

### Testovaná položka – vzorek č. 4030

Počáteční  $CHSK_{Cr}$  testované látky: 6,5 mg/l  
 $CHSK_{Cr}$  testované látky: 0,066 mg/mg látky  
Množství test. látky v testu: 98,0 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: 1,750 mg/mg látky  
Množství referenční látky v testu: 3,75 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 (mg O<sub>2</sub>/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<sub>Cr</sub> (v mg kyslíku na mg zkoušené látky). Nakonec byla vypočítána průměrná hodnota biologické rozložitelnosti v procentech ze souběžných zkoušek.

Vzorce pro výpočet biologické rozložitelnosti:

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

$${}^1BDG = \{[({}^1T_0 - {}^1T_t) - (S_0 - S_t)] / CHSK_0\} * 100$$

obdobně i pro <sup>2</sup>BDG

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

*BDG – biologická rozložitelnost v %*

*T<sub>t</sub> – je koncentrace rozp. kyslíku v mg/l v 1. (resp. 2.) kyslíkovce s testovanou látkou v čase t*

*S<sub>t</sub> – 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 -Isokor LM DESCALING

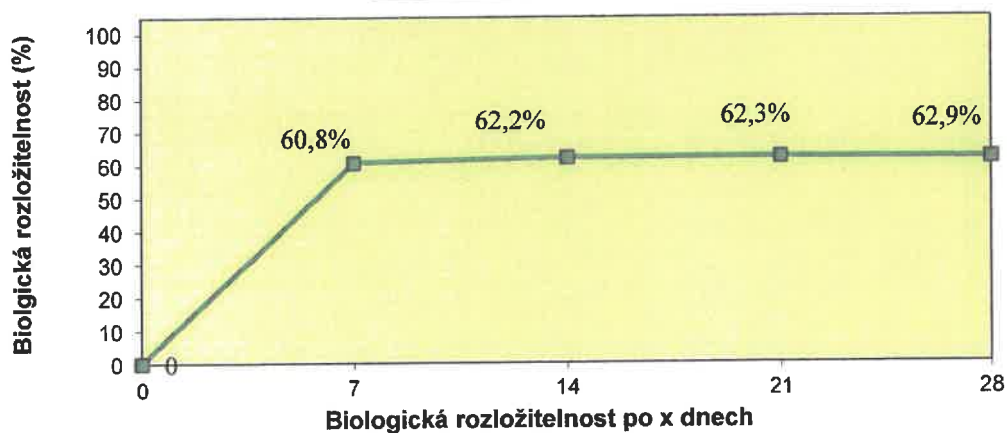
### Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku

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.	8,89	4,77	4,61	4,45	4,45
	2.	8,89	4,66	4,53	4,49	4,30
	Průměr	<b>8,89</b>	<b>4,72</b>	<b>4,57</b>	<b>4,47</b>	<b>4,38</b>
Slepé stanovení s inokulem	1.	8,91	8,66	8,61	8,52	8,47
	2.	8,91	8,72	8,66	8,56	8,50
	Průměr	<b>8,91</b>	<b>8,69</b>	<b>8,64</b>	<b>8,54</b>	<b>8,49</b>

### Biologická rozložitelnost:

Isokor LM DESCALING	Vypočtená biologická rozložitelnost po x dnech				
	0 dnů	7 dnů	14 dnů	21 dnů	28 dnů
1.nasazení	0%	60,0%	61,6%	62,6%	61,8%
2.nasazení	0%	61,7%	62,8%	62,0%	64,1%
Průměr těchto nasazení	<b>0%</b>	<b>60,8%</b>	<b>62,2%</b>	<b>62,3%</b>	<b>62,9%</b>

Biologická rozložitelnost  
Isokor LM DESCALING



## 2. Výsledky zkoušky - Referenční látka

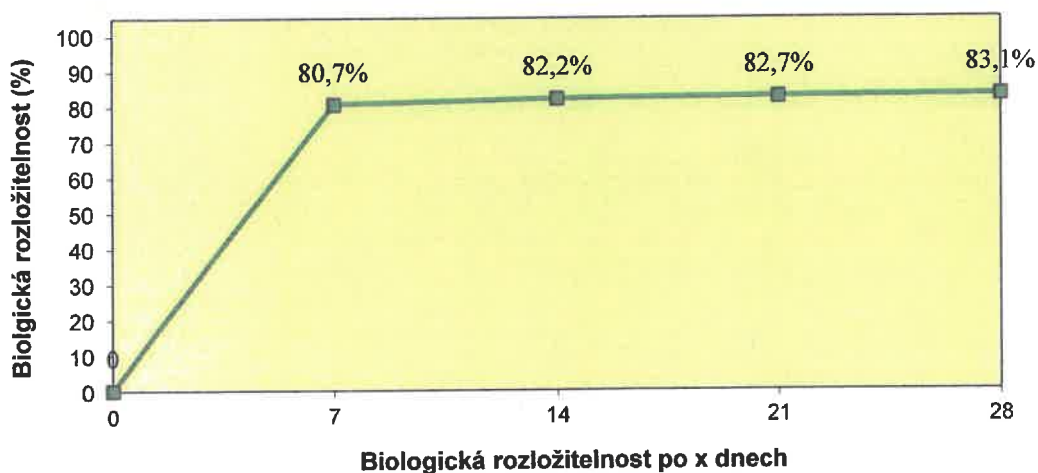
### Stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku

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.	8,91	3,48	3,43	3,12	3,12
	2.	8,91	3,41	3,15	3,21	3,05
	Průměr	<b>8,91</b>	<b>3,45</b>	<b>3,29</b>	<b>3,17</b>	<b>3,09</b>
Slepé stanovení s inokulem	1.	8,91	8,66	8,61	8,52	8,47
	2.	8,91	8,72	8,66	8,56	8,50
	Průměr	<b>8,91</b>	<b>8,69</b>	<b>8,64</b>	<b>8,54</b>	<b>8,49</b>

### 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%	80,2%	80,1%	83,4%	82,5%
2.nasazení	0%	81,2%	84,4%	82,0%	83,6%
Průměr těchto nasazení	<b>0%</b>	<b>80,7%</b>	<b>82,2%</b>	<b>82,7%</b>	<b>83,1%</b>

### Biologická rozložitelnost Benzoan sodný



## 4 Přehled výsledků

### Testovaný vzorek - Isokor LM DESCALING

**Biologická rozložitelnost**  
**stanovená dle OECD 301 D = 62,9% za 28 dnů.**

U testovaného vzorku došlo po 28 dnech k 62,9% 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 = 83,1% za 28 dnů.**

Referenční látka se dobře rozkládá. Po 28 dnech došlo celkově k 83,1% biologické rozložitelnosti. Již po 14 dnech testování bylo dosaženo 82,2 % 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 0,42 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 3,09 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 82,2 % 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 nenes zodpovědnost za údaje o vzorku dodané zákazníkem  
KONEC PROTOKOLU