

Testování vzorků kalů odebraných v rámci Doškolovacího semináře Manažerů vzorkování odpadů 21. 10. 2014 v ČOV Liberec, akciové společnosti Severočeské vodovody a kanalizace

Úvod

Společnost Forsapi, s.r.o. společně se společností UNIVERZA-SoP, s.r.o. zajišťují vzdělávání pracovníků laboratoří a konzultačních společností zabývajících se odběrem a vyhodnocením zkoušek vzorků odpadů. Jednotlivé semináře jsou věnovány vzorkování a zkoušení vybraných druhů odpadů. V průběhu seminářů jsou testovány rozličné postupy vzorkování odpadů a v návaznosti na ně i praxe laboratoří s cílem postupné optimalizace a sjednocování metodiky (postupů) vzorkování a laboratorních prací tak, aby se zvyšovala spolehlivost informací o vlastnostech odpadů pro konečné uživatele.

S laskavostí vedení a pracovníků společnosti Severočeské vodovody a kanalizace, a.s. se dne 21. 10. 2014 uskutečnil doškolovací seminář zaměřený na vzorkování a zkoušení čistírenských kalů v čistírně odpadních vod SČVK a.s. v Liberci.

Cílem semináře bylo seznámit účastníky s podmínkami a charakteristikami provozu zařízení ČOV Liberec a porovnání výsledků odběru vzorků a laboratorních zkoušek na stanovení mikrobiologických ukazatelů v odvodněném kalu vznikajícím jako koncový odpad z čištění odpadních komunálních vod. V rámci teoretické části semináře se uskutečnila přednáška Ing. Ladislavy Matějů týkající se problematiky mikrobiologických zkoušek kalů a možných vlivů na výsledky zkoušek v důsledku nakládání s odebranými vzorky.

Účast na praktickém testování přijalo 9 laboratoří, které provádějí zkoušky odpadů v České republice. Velice těmto laboratořím děkujeme za jejich účast a za velmi vstřícný přístup.

Postup praktického testování

Rozsah testování

Obsahem testování stanovení mikrobiologických ukazatelů v kalech bylo:

- odběr terénního vzorku a příprava laboratorního směsného vzorku, popř. odběr prostých terénních vzorků, odpadu: *kaly z čištění komunálních odpadních vod (kat.č.19 08 05)* vzorkovací skupinou participující laboratoře a následným stanovením mikrobiologických ukazatelů (enterokoky a termotolerantní bakterie) v těchto vzorcích participujícími laboratořemi,
- mikrobiologické stanovení ukazatelů (v rozsahu enterokoky a termotolerantní bakterie) v uměle připravených vzorcích (naspikované vzorky připravené Státním zdravotním ústavem se sídlem v Praze, Laboratoř hygieny půdy a odpadů) participujícími laboratořemi.

Odběr a úprava vzorků

Pro účely testování laboratoří pro stanovení mikrobiologických ukazatelů připravili spolupořadatelé ze společnosti Severočeské vodovody a kanalizace, a.s. kontejner o objemu cca 12 m³ naplněný

odvodněným kalem z čištění komunálních odpadních vod (vzorkovaný objekt). Kontejner byl umístěn v objektu kalového hospodářství ČOV Liberec.

Účastníci semináře – členové vzorkovacích týmů laboratoří zajistili odběr terénních vzorků a přípravu laboratorních vzorků. Informace o odběru vzorků jsou uvedeny v tabulce 1.

Přestože předmětem testování nebyla kontrola vzorkujících, využili jsme příležitosti doškolovacího semináře a jako zpětnou vazbu jsme zkontrolovali dokumentaci a v tabulce jsou uvedeny údaje, které podle našeho názoru ve zpracované dokumentaci o odběru vzorku chyběly.

Tabulka 1: Specifikace odběru směšného laboratorního vzorku

označení laboratoře	směšný vzorek								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
počet dílčích vzorků	5	6	6	6	8	8	5	5	neuveďeno
hloubka odběru	0 až 0,4 m	povrchový odběr (3 dílčí vzorky) hloubkový odběr (3 dílčí vzorky) hloubka neuvedena	0 až 0,8 m	neuveďeno	neuveďeno	0 až 1 m	0 - 0,1 m (2 dílčí vzorky) 0 - 1 m (3 dílčí vzorky)	vzorky odebrány jiným subjektem	neuveďeno
vzorkovací zařízení	vzorkovací lopatka	neuveďeno	žlábkový vzorkovač	Edelmanův vzorkovač	neuveďeno	žlábkový vzorkovač	neuveďeno		půdní vrták, PE lopatka
úprava	terénní homogenizace	neuveďeno	terénní homogenizace	neuveďeno	neuveďeno	neuveďeno	neuveďeno		homogenizace, kvartace
vzorkovnice	LDPE pytlík	neuveďeno	sklo, sterilizovaná	plast.sáček	neuveďeno	sklo, sterilizovaná	neuveďeno		PE sáček
schéma bodů odběru	nákres	neuveďeno	nákres	nespecifikováno	nákres	nespecifikováno	nákres		nespecifikováno
dočasný do laboratoře	uveden datum i čas	uveden jen datum	uvedeno ne zcela jasně	uveden datum i čas	uveden datum i čas	neuveďeno	neuveďeno		uveden datum i čas
odkaz na SOP	ANO	NE (odkaz na operativní řízení jakosti)	ANO	ANO	ANO	ANO	NE	ANO	
poznámka	v dokumentaci rozpor v uváděných hloubkách odběru	v dokumentaci není uvedena hloubka odběru a vzorkovací zařízení a způsob přípravy směšného vzorku	v dokumentaci není jasně uvedeno předání vzorku do laboratoře	v dokumentaci není uvedena hloubka odběru, způsob přípravy směšného vzorku	v dokumentaci chybějí výše uvedené údaje	v dokumentaci chybějí výše uvedené údaje	nebyl vypracován standardní protokol o odběru	vzorek nebyl analyticky zpracován	

V dokumentaci některé posádky neuvedly hloubku odběru dílčích vzorků, použité vzorkovací zařízení, nedostatečně byla popsána příprava laboratorního vzorku z terénních vzorků. V některých protokolech o odběru vzorku chyběly informace o umístění bodů odběru, datum a čas dočasný do laboratoře. Jsou-li chybějící údaje součástí standardních operačních postupů a je na ně v dokumentaci odkazováno, je možné jejich absenci tolerovat, v opačném případě doporučujeme doplnit formuláře Protokolů o odběru vzorků odpadů a věnovat jejich vyplňování větší pozornost.

Laboratorní analýzy

Testování se účastnilo 9 zkušebních laboratoří akreditovaných ČIA, jedna laboratoř prováděla pouze odběr vzorků, mikrobiologické zkoušky nikoliv.

Každá z laboratoří stanovovala vybraná mikrobiologická stanovení (stanovení enterokoků a termotolerantních bakterií podle vyhlášky č. 382/2001 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě) ve směšném vzorku odebraném vlastní odběrovou skupinou a také ve dvojici uměle připravených vzorků (spiků). 6 laboratoří se navíc účastnilo rozšířeného programu zkoušení kalů a analyzovalo prosté vzorky s cílem ověřit proměnlivost mikrobiologických charakteristik kalu v kontejneru.

V tabulce 2 je uveden přehled zúčastněných laboratoří.

Tabulka 2: Přehled zúčastněných laboratoří (seřazených abecedně)

Název laboratoře	Adresa laboratoře
ABITEC, s.r.o.	Radiová 1182/7, 102 31 Praha 10
ALS Czech Republic s.r.o.	Na Harfě 336/9, 190 00 Praha 9
Aquatest a.s.	Geologická 4, 152 00 Praha 5
Bioanalytika CZ, s.r.o.	Píšťovy 820, 537 01 Chrudim
Eko-Lab Žamberk spol. s r.o.	Zemědělská 1004, 564 01 Žamberk
Orlická laboratoř s.r.o.	Lhotka 219, 560 03 Česká Třebová
Severočeské vodovody a kanalizace, a.s.	Přítkovská 1689, 415 50 Teplice
Státní zdravotní ústav se sídlem v Praze, NRC pro hygienu půdy a odpadu	Šrobárova 48, 100 42 Praha 10
Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě	Partyzánské náměstí č.7, 702 00 Ostrava

Stanovení mikrobiologických ukazatelů v uměle připraveném vzorku

Každá laboratoř účastníci se testování obdržela dvojici uměle připravených vzorků. Jednalo se o 10 g vzorek vysterylizovaného čistírenského kalu naspikovaný 10 ml inokula o definovaném obsahu mikroorganismů. Laboratoře obdržely jednotné formuláře pro zpracování výsledků.

Přehled výsledků stanovení je uveden v tabulce 3. Laboratoře jsou v tabulkách označeny čísly v náhodném pořadí. Ve všech následujících tabulkách má konkrétní laboratoř stejné označení.

Tabulka 3: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v uměle připravených vzorcích

Parametr		označení laboratoře	naspikovaný vzorek					
			1		2		3	
enterokoky	naměřená hodnota	KTJ/g	3,10E+05	3,50E+05	<50	8,70E+05	6,40E+04	6,70E+04
	spike	KTJ/g	3,70E+05	3,70E+05	<50	3,70E+05	3,70E+05	3,70E+05
	odchylka od spike	%	-1,38%	-0,43%	0,00%	6,67%	-13,69%	-13,33%
termotolerantní bct	naměřená hodnota	KTJ/g	6,80E+04	6,20E+04	<50	1,70E+05	7,00E+04	8,50E+04
	spike	KTJ/g	4,70E+05	4,70E+05	<50	4,70E+05	4,70E+05	4,70E+05
	odchylka od spike	%	-14,80%	-15,51%	0,00%	-7,79%	-14,58%	-13,09%

Parametr		označení laboratoře	naspikovaný vzorek					
			4		5		6	
enterokoky	naměřená hodnota	KTJ/g	3,98E+05	2,84E+05	<50	<50	4,90E+05	<50
	spike	KTJ/g	3,70E+05	3,70E+05	<50	3,70E+05	3,70E+05	<50
	odchylka od spike	%	0,57%	-2,06%	0,00%	-69,49%	2,19%	0,00%
termotolerantní bct	naměřená hodnota	KTJ/g	1,26E+05	1,27E+05	<50	1,90E+05	2,80E+05	<50
	spike	KTJ/g	4,70E+05	4,70E+05	<50	4,70E+05	4,70E+05	<50
	odchylka od spike	%	-10,08%	-10,02%	0,00%	-6,93%	-3,97%	0,00%

Parametr		označení laboratoře	naspikovaný vzorek					
			7		8			
enterokoky	naměřená hodnota	KTJ/g	3,70E+05	4,00E+05	1,40E+05	1,90E+05	<50	1,40E+05
	spike	KTJ/g	3,70E+05	3,70E+05	3,70E+05	3,70E+05	<50	3,70E+05
	odchylka od spike	%	0,00%	0,61%	-7,58%	-5,20%	0,00%	-7,58%
termotolerantní bct	naměřená hodnota	KTJ/g	9,50E+04	8,60E+04	3,00E+05	3,20E+05	<50	3,00E+05
	spike	KTJ/g	4,70E+05	4,70E+05	4,70E+05	4,70E+05	<50	4,70E+05
	odchylka od spike	%	-12,24%	-13,00%	-3,44%	-2,94%	0,00%	-3,44%

Testy byly vyhodnocovány stanovením relativní odchylky naměřené hodnoty od hodnoty spike. Odchylka byla vypočtena jako rozdíl dekadického logaritmu hodnoty spike a dekadického logaritmu

naměřené hodnoty. Relativní odchylka byla vyjádřena jako podíl odchylky a dekadického logaritmu hodnoty spiku.

Velikosti relativní odchylky naměřené hodnoty od hodnoty spiku se pro stanovení enterokoků pohybovaly mezi 0% až 13,7%. Pouze v jednom případě (laboratoř 5) byla relativní odchylka 70% (jedná se o zcela odlehlý - chybný výsledek).

Velikosti relativní odchylky naměřené hodnoty od hodnoty spiku se pro stanovení termotolerantních bakterií pohybovaly mezi 0% až 15,5%.

V tabulce 4 je uvedeno pořadí laboratoří v dosažení shody stanovení s deklarovanou hodnotou uměle připravených vzorků. Z dvojice absolutních hodnot relativních odchylek od spiku každé laboratoře byla vypočtena průměrná hodnota a pořadí laboratoří bylo určeno podle hodnoty průměru relativní odchylky od nejmenší k největší. Pořadí bylo samostatně stanoveno pro stanovení enterokoků a pro stanovení termotolerantních bakterií.

Tabulka 4: Pořadí laboratoří v dosažení shody při zkouškách uměle připravených vzorků

označení laboratoře	pořadí laboratoře	
	enterokoky	termotolerantní bakterie
1	2	8
2	5	4
3	7	7
4	4	5
5	8	3
6	3	1
7	1	6
8	6	2

Stanovení mikrobiologických ukazatelů ve směsném vzorku kalu

Výsledky mikrobiologických zkoušek byly přepočteny na sušinu vzorku. Laboratoře 2 a 5 v protokolech o zkouškách nevedly hodnoty sušiny vzorku. Pro výpočet byla v obou případech použita průměrná hodnota sušiny stanovená ostatními laboratořemi (bez zahrnutí sušiny uvedené laboratoří 3, která se liší od ostatních). V tabulce 5 jsou uvedeny výsledky mikrobiologických ukazatelů zjištěných jednotlivými laboratořemi ve laboratorních vzorcích kalů porovnané s mikrobiologickými kritérii pro použití kalů na zemědělské půdě dle přílohy č.4 k vyhlášce č. 382/2001 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.

Tabulka 5: Přehled výsledků stanovení mikrobiologických ukazatelů ve směsném vzorku kalu

parametr	typ vzorku označení laboratoře	směsný vzorek								Vyhláška 382/2001 Sb.	
		1	2	3	4	5	6	7	8	kategorie kalu	
počet dílčích vzorků	ks	5	6	6	6	8	8	5	5	I	II
sušina	%	23,90	23,75	29,77	22,50	23,75	24,50	23,91	23,92		
enterokoky	KTJ/g suš.	1,04E+04	3,20E+07	3,19E+03	4,14E+05	1,18E+04	4,49E+03	1,21E+04	5,43E+03	<10 ³	10 ³ - 10 ⁶
termotolerantní bct	KTJ/g suš.	4,60E+06	5,69E+06	3,69E+05	1,19E+06	8,42E+06	2,65E+06	<2,09E+02	1,30E+06	<10 ³	10 ³ - 10 ⁶

Ze srovnání výsledků s požadavky stanovenými v příloze č.4 k vyhlášce č.382/2001 Sb. vyplývá:

- stanovení enterokoků: vzorkovaný kal je možné na základě výsledků zkoušek všech laboratoří zařadit shodně (s výjimkou laboratoře 2) jako kal kategorie II,
- stanovení termotolerantních bakterií: s výjimkou laboratoře 3 a laboratoře 7 je vzorkovaný kal na základě výsledků zkoušek zařazen shodně – kal nevyhovuje požadavkům pro použití na zemědělskou půdu. Na základě výsledků laboratoře 3 by byl kal zařazen do kategorie II, dle laboratoře 7 jako kal kategorie I (v případě laboratoře 7 se pravděpodobně jedná o chybu stanovení).

Výsledky stanovení mikrobiologických ukazatelů uvedené v tabulce 5 byly dekadicky logaritmovány a byly hodnoceny podle jejich odlehlosti od průměrné hodnoty logaritmovaných výsledků při zohlednění celkové směrodatné odchylky souboru výsledků dle parametru Z-skóre:

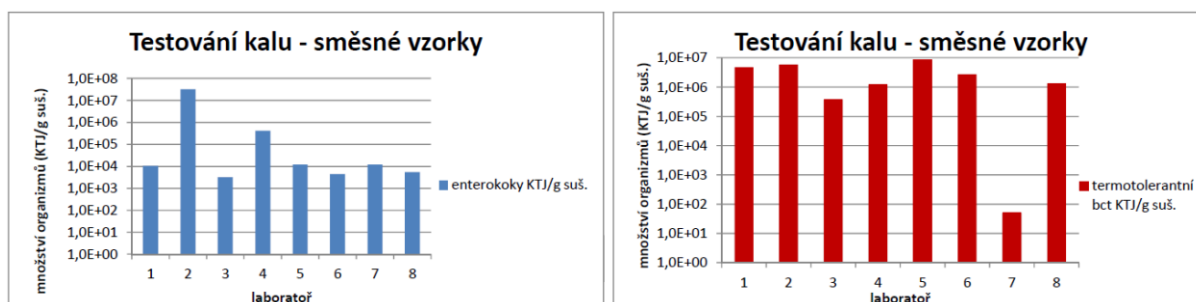
$$Z\text{-skóre}_i = (\text{dek.logaritmus naměřené koncentrace}_i - \text{průměrná hodnota dek.logaritmů jednotlivých stanovení}) / \text{celková směrodatná odchylka souboru logaritmovaných dat}$$

kde i – je označení laboratoře

Pro přehlednost jsou v tabulce 6 barevně rozlišeny výsledky Z-skóre v intervalech (<-3;-3; -2; -1; 1; 2; 3; >3). Na grafu 1 jsou znázorněny výsledky stanovení v logaritmovaném měřítku.

Tabulka 6: Přehled výsledků stanovení mikrobiologických ukazatelů ve smíšeném vzorku kalu a hodnot Z-skóre

parametr	typ vzorku	smíšený vzorek							
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7	8
enterokoky	KTJ/g suš.	1,04E+04	3,20E+07	3,19E+03	4,14E+05	1,18E+04	4,49E+03	1,21E+04	5,43E+03
	Z-skóre	-0,39	2,32	-0,79	0,85	-0,35	-0,68	-0,34	-0,61
termotolerantní bct	KTJ/g suš.	4,60E+06	5,69E+06	3,69E+05	1,19E+06	8,42E+06	2,65E+06	5,00E+01	1,30E+06
	Z-skóre	0,55	0,61	-0,13	0,19	0,72	0,41	-2,56	0,21



Obrázek 1: Výsledky mikrobiologických stanovení ve smíšeném vzorku kalu

Zjištěné hodnoty Z-skóre se pohybovaly v intervalu (-1; 1), tzn. že vzájemnou shodu výsledků zúčastněných laboratoří lze hodnotit jako velice dobrou. Za odlehlé výsledky je možné považovat:

- stanovení enterokoků laboratoří 2
- stanovení termotolerantních bakterií laboratoří 7

Stanovení mikrobiologických ukazatelů v prostých vzorcích kalu

Vedení laboratoří 1, 3, 5, 6, 7 a 8 umožnilo ověřit heterogenitu kalu uloženého v kontejneru na základě mikrobiologických stanovení v prostých vzorcích. Přehled výsledků mikrobiologických stanovení je uveden v tabulce 7. Laboratoře jsou označeny čísly v náhodném pořadí.

Tabulka 7: Přehled výsledků mikrobiologických ukazatelů v prostých vzorcích kalu

parametr	typ vzorku	prosté vzorky							
	označení laboratoře	1					3		
	název vzorku	1	2	3	4	5	1	2	
sušina	%	23,9	23,8	23,8	23,9	23,9	29,57	30,82	
enterokoky	KTJ/g	1,50E+03	1,40E+03	1,60E+03	1,50E+03	1,80E+03	8,20E+02	3,40E+02	
termotolerantní bct	KTJ/g	1,90E+06	1,50E+06	1,80E+06	1,80E+06	3,30E+06	8,90E+04	7,70E+04	

parametr	typ vzorku	prosté vzorky									
	označení laboratoře	5					6				
	název vzorku	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
sušina	%						24,1	24	26,5	25	24,5
enterokoky	KTJ/g	2,00E+03	2,50E+03	4,30E+03	3,10E+03	2,60E+03	1,00E+03	1,70E+03	1,10E+03	1,00E+03	1,10E+03
termotolerantní bct	KTJ/g	2,40E+06	2,10E+06	2,20E+06	1,00E+06	3,00E+06	6,30E+05	6,00E+05	6,00E+05	6,80E+05	6,60E+05

parametr	typ vzorku	prosté vzorky									
	označení laboratoře	7					8				
	název vzorku	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
sušina	%	23,47	23,48	23,31	23,74	23,81	23,83	23,41	23,44	23,32	24,12
enterokoky	KTJ/g	2,41E+03	2,10E+03	2,00E+03	2,00E+03	1,80E+03	2,40E+03	1,50E+03	1,70E+03	1,50E+03	2,00E+03
termotolerantní bct	KTJ/g	<50	<50	<50	<50	<50	2,40E+05	3,50E+05	2,00E+05	2,40E+05	1,70E+05

Výsledky mikrobiologických stanovení byly dekadicky zlogaritmovány a byly stanoveny průměrné hodnoty ukazatelů a hodnota relativní směrodatné odchylky stanovená ze zlogaritmovaných dat. Z hodnocení takto upravených výsledků vyplývá, že výsledky stanovení termotolerantních bakterií získané laboratoří 7 jsou odlehlé. Přehled statistických ukazatelů z vyhodnocení prostých vzorků je uveden v tabulce 8.

Tabulka 8: Základní charakteristiky výsledků stanovení v prostých vzorcích

parametr	typ vzorku	prosté vzorky		poznámka
	počet vzorků	27		
	statistická veličina	průměrná hodnota	relativní směrodatná odchylka	
sušina	%	23,97	3,01%	bez laboratoře 3
enterokoky	KTJ/g	1,64E+03	6,53%	
termotolerantní bct	KTJ/g	7,07E+05	8,51%	bez laboratoře 7

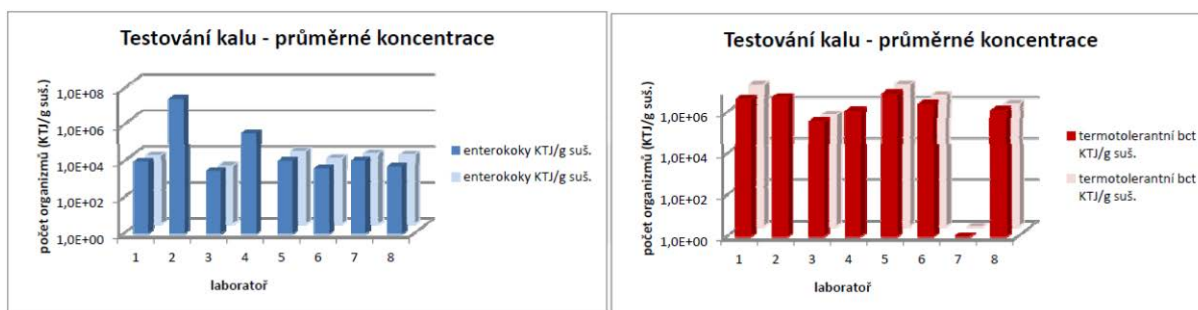
Rozptyl výsledků získaných zkouškami prostých vzorků vyjádřený relativní směrodatnou odchylkou dosahoval ve stanovení enterokoků 6,5%, ve stanovení termotolerantních bakterií (při vyloučení výsledků laboratoře 7) 8,5%. Z uvedeného vyplývá, že vzorkovaný kal byl z hlediska sledovaných mikrobiologických ukazatelů velice homogenní. Kal byl „čerstvý“ (vyprodukovaný v ČOV den před seminářem), nebyly pozorovány žádné významné rozdíly mezi výsledky stanovení v povrchových vzorcích (odebraných laboratoří 1) a v profilových vzorcích (odebraných do hloubky 0,8 až 1 m).

Zajímala nás rovněž shoda mezi výsledky směšného vzorku a průměrnou hodnotou určenou z výsledků stanovení v prostých vzorcích a spolehlivost zařazení odpadu do kategorie kalu dle přílohy č.4 k vyhlášce č.382/2001 Sb. Srovnání výsledků je uvedeno v tabulce 9 a dále na obrázku 2.

Tabulka 9: Srovnání výsledků mikrobiologických ukazatelů ve směsném vzorku kalu a průměrných koncentrací stanovených z prostých vzorků kalu

parametr	typ vzorku označení laboratoře	směsný vzorek								Vyhláška 382/2001 Sb.	
		1	2	3	4	5	6	7	8	kategorie kalu	
počet dílčích vzorků	ks	5	6	6	6	8	8	5	5	I	II
sušina	%	23,90	23,75	29,77	22,50	23,75	24,50	23,91	23,92		
enterokoky	KTJ/g suš.	1,04E+04	3,20E+07	3,19E+03	4,14E+05	1,18E+04	4,49E+03	1,21E+04	5,43E+03	<10 ³	10 ³ - 10 ⁶
termotolerantní bct	KTJ/g suš.	4,60E+06	5,69E+06	3,69E+05	1,19E+06	8,42E+06	2,65E+06	<2,09E+02	1,30E+06	<10 ³	10 ³ - 10 ⁶

parametr	typ vzorku označení laboratoře	průměrné hodnoty z prostých vzorků								Vyhláška 382/2001 Sb.	
		1	2	3	4	5	6	7	8	kategorie kalu	
počet dílčích vzorků	ks	5	-	2	-	5	5	5	5	I	II
sušina	%	23,90	-	29,77	-	23,75	24,50	23,91	23,92		
enterokoky	KTJ/g suš.	6,50E+03	-	1,77E+03	-	1,18E+04	4,71E+03	8,58E+03	7,48E+03	<10 ³	10 ³ - 10 ⁶
termotolerantní bct	KTJ/g suš.	8,28E+06	-	2,78E+05	-	8,49E+06	2,58E+06	<2,09E+02	9,74E+05	<10 ³	10 ³ - 10 ⁶



Obrázek 2: Srovnání výsledků mikrobiologických stanovení

Jak vyplývá z tabulky 9, s výjimkou stanovení termotolerantních bakterií laboratoří 8, byla naprostá shoda v zařazení odpadu do kategorie kalu dle přílohy č.4 k vyhlášce č.382/2001 Sb. jak na základě výsledků směsných vzorků, tak na základě výpočtem získané průměrné hodnoty přítomnosti sledovaných ukazatelů v prostých vzorcích. (Odpad podle stanovení laboratoří 8 ve směsném vzorku nevyhovuje požadavkům pro kal kategorie II, zatímco při využití stanovení prostých vzorků a hodnocení odpadu na základě logaritmického průměru je laboratoří 8 zařazen do kategorie II.) Z pohledu hodnocení odlehlosti výsledku termotolerantních bakterií laboratoří 8 nelze výsledky považovat za vzájemně odlehlé. Laboratoř 7 dosahovala ve stanovení termotolerantních bakterií odlehlé výsledky od ostatních laboratoří.

Závěr

Doškolovací seminář manažerů vzorkování odpadů se konal dne 21. 10. 2014 ČOV Liberec – zařízení organizace Severočeské vodovody a kanalizace a.s. a byl zaměřen na ověřování postupů odběru vzorků a laboratorních stanovení mikrobiologických ukazatelů v kalech z čištění komunálních odpadních vod. Teoretická část semináře byla věnována problémům spojeným s mikrobiologickým testováním – např. neexistují normy pro odběry vzorků pro potřeby mikrobiologických stanovení v kalech, legislativní předpisy se problematice věnují nedostatečně (nejasně definované počty vyžadovaných testů apod.).

V rámci doškolovacího semináře se uskutečnilo testování 8 zúčastněných laboratoří, které prováděly stanovení vybraných mikrobiologických ukazatelů ve vzorcích kalu a ve dvojici uměle připravených vzorků.

Z výsledků testování vyplývají následující závěry:

- Dokumentace odběru vzorků:
 - některé posádky neuvádějí v dokumentaci důležité údaje – např. hloubku odběru dílčích vzorků, použité vzorkovací zařízení, nedostatečně je popsána příprava laboratorního vzorku z terénních vzorků, v některých záznamech o odběrech vzorku chyběly informace o umístění bodů odběru v rámci vzorkovaného kontejneru, datum a čas dodání vzorku do laboratoře.
 - Jsou-li chybějící údaje součástí standardních operačních postupů (SOP) a tyto jsou v dokumentaci uvedeny (např. odkazem na ně), je možné absenci chybějících údajů tolerovat, v opačném případě doporučujeme doplnit formuláře protokolů o odběru vzorků a věnovat jejich vyplňování větší pozornost.
- Mikrobiologická stanovení v uměle připravených vzorcích:
 - Každá ze zúčastněných laboratoří ověřovala ve dvojici vzorků na přítomnost enterokoků a termotolerantních bakterií. Vzorky byly připraveny Laboratoří hygieny půdy a odpadů SZÚ Praha.
 - Výsledky byly vyhodnoceny pomocí stanovení relativní odchylky laboratoří naměřené hodnoty od hodnoty spiku.
 - Velikosti relativní odchylky se pro stanovení enterokoků pohybovaly mezi 0% až 13,7%, pouze v jednom případě (laboratoř 5) byla relativní odchylka 70%.
 - Velikosti relativní odchylky se pro stanovení termotolerantních bakterií pohybovaly mezi 0% až 15,5%.
 - Výsledky stanovení v uměle připravených vzorcích je možné považovat za velmi dobré a dokumentují, že zúčastněné laboratoře poskytují relevantní výsledky.
- Mikrobiologická stanovení ve směsném vzorku kalu:
 - Stanovení enterokoků: s výjimkou laboratoře 2 byl na základě výsledků všech laboratoří vzorkovaný kal zařazen shodně jako kal kategorie II (dle přílohy č.4 k vyhlášce č.382/2001 Sb.).
 - Stanovení termotolerantních bakterií: s výjimkou laboratoře 3 a laboratoře 7 byl na základě výsledků všech laboratoří vzorkovaný kal zařazen shodně – kal nevyhovuje použití na zemědělskou půdu. Na základě výsledků laboratoře 3 byl kal zařazen do kategorie II, dle laboratoře 7 jako kal kategorie I.
 - Hodnoty Z-skóre se u jednotlivých výsledků pohybovaly v intervalu (-1; 1), tzn. vzájemnou shodu výsledků laboratoří lze hodnotit jako velice dobrou. Za odlehlé výsledky je možné považovat stanovení enterokoků laboratoří 2 a stanovení termotolerantních bakterií laboratoří 7.
- Mikrobiologická stanovení v prostých vzorcích kalu:
 - Pomocí stanovení mikrobiologických ukazatelů v prostých vzorcích byla ověřována heterogenita kalu v kontejneru. Rozptyl výsledků prostých vzorků vyjádřený relativní směrodatnou odchylkou dosahoval ve stanovení enterokoků 6,5%, ve stanovení termotolerantních bakterií (při vyloučení výsledků laboratoře 7) 8,5%. Z uvedeného

vyplývá, že hodnocený materiál byl z hlediska sledovaných mikrobiologických ukazatelů velice homogenní a nebyly pozorovány žádné významné rozdíly mezi výsledky stanovení v povrchových vzorcích (laboratoř 1) a profilových vzorcích (odebraných do hloubky 1 m).

- Z testování vyplynulo, že laboratoře dosahovaly velmi dobrou vzájemnou shodu svých výsledků jak na základě stanovení ve směsném vzorku kalu, tak na základě výpočtu průměrné hodnoty z několika stanovení v prostých vzorcích kalu. Uvedená shoda vypovídá o homogenitě vzorkovaného materiálu.

Z teoretické části doškolovacího semináře a z vyhodnocení výsledků praktického testování odběru a analytických stanovení mikrobiologických ukazatelů vyplývají následující doporučení:

- Velikou pozornost je nutné věnovat podmínkám uchování vzorku při manipulaci, dopravě a při dalším nakládání se vzorkem. Vzorky na mikrobiologická stanovení musí být uchovávány v teplotě 2 až 5°C, při dodržení těchto teplot jsou vzorky dostatečně stabilizovány a nehrozí poškození (změny) mikrobiologických vlastností vzorků.
- Zamrazení vzorku může způsobit úhyn mikroorganismů, naopak vyšší teploty než doporučené rozmezí 2 až 5°C, může vyvolat namnožení mikroorganismů a tím i neobjektivitu výsledků zkoušek.
- Míra heterogenity vzorkovaného materiálu má obecně při vzorkování zásadní vliv na výběr vzorkovacího schématu (počet a umístění vzorků) a na reprezentativnost vzorkování. Proměnlivost mikrobiologických parametrů úzce souvisí s procesem vzniku odpadu a se stářím odpadu. Pokud je míra heterogenity neznámá, nelze hodnocení testovaného odpadu na základě 1 směsného vzorku považovat za spolehlivé.

Závěrem chceme poděkovat pracovníkům společnosti Severočeské vodovody a kanalizace, a.s. za umožnění realizace doškolovacího semináře, za pomoc při organizaci a zejména za vytvoření výborných pracovních podmínek v průběhu celého semináře.

Zpracovali dne 20.2.2015

Petr Kohout
Zdeněk Veverka