



**NACIONALNI LABORATORIJ ZA
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO**

CENTER ZA OKOLJE IN ZDRAVJE

DAT.: \DANTE\in\COZIMBI\211d\PR17ZRSVN_Proteus_koncno

**OCENA TVEGANJA, KI GA PREDSTAVLJA NITRAT
ZA EKOSISTEME PODZEMNE VODE IN
ZA ČLOVEŠKO RIBICO
NA PROJEKTNEM OBMOČJU
LIFE KOČEVSKO**

Maribor, december 2017

Poročilo je dovoljeno reproducirati le v celoti in le za potrebe naročnika in investitorja.

Naslov: Ocena tveganja, ki ga predstavlja nitrat za ekosisteme podzemne vode
in za človeško ribico na projektnem območju LIFE Kočevsko

Izvajalec: Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano
CENTER ZA OKOLJE IN ZDRAVJE
Prvomajska ulica 1, 2000 MARIBOR

Naročnik: ZAVOD RS ZA VARSTVO NARAVE
Tobačna ulica 5
1000 LJUBLJANA

(za potrebe projekta LIFE Kočevsko (LIFE13 NAT/SI/000314))

Evidenčna oznaka: PR 48/6000/SSS/2017
Delovni nalog: Naročilnica št. 39/17 z dne 04.07.2017
Dejavnost: 2111d – Tveganja za okolje

Izvajalci naloge:
Vodja: Dr. Boris Kolar, univ.dipl.biol.

Maribor, 20.12.2017

Vodja naloge: CENTER ZA OKOLJE IN ZDRAVJE MARIBOR
Predstojnica:

Dr. Boris Kolar, univ.dipl.biol.

Vesna Hrženjak, dr.med,.spec. javnega zdravja



KAZALO

	Stran
POVZETEK.....	4
SUMMARY.....	5
1 UVOD.....	8
2 IDENTIFIKACIJA PROBLEMA.....	9
3 METODE DELA.....	12
4 REZULTATI.....	15
5 DISKUSIJA.....	16
6 SKLEP.....	18
7 VIRI.....	19
8 PRILOGE.....	20

POVZETEK

Cilj naloge s katero smo ocenili tveganja, ki ga predstavlja nitrat za ekosisteme podzemne vode na projektnem območju LIFE Kočevsko je bila identifikacija virov nitrata v podzemni vodi, predlog mejne koncentracijske vrednosti nitrata v podzemni vodi kot življenjskem okolju človeške ribice (*Proteus anguinus*), ter predlog omilitvenih ukrepov za izboljšanje stanja za zmanjšanje tveganja ki ga predstavlja nitrat v podzemni vodi. Opisali smo dva najpomembnejša vira emisij nitrata v podzemne vode. To sta živinoreja in komunalne odpadne, oziroma ne dovolj očiščene komunalne odpadne vode. Naloga obravnava identificirana pritiska na podzemne na projektnem območju LIFE Kočevsko, kot tudi na širšem območju, kjer kraška kamninska podlaga omogoča življenjsko okolje človeške ribice. Na osnovi podatkov iz literature smo povzeli naravno koncentracijo ozadja za nitrat v podzemni vodi obravnavanega območja, ki znaša 3,8mgNO₃⁻/L. Potencialno varno koncentracijo nitrata smo določali po dveh metodah, ki izhajata iz ocene tveganja za kemijske snovi. Iz podatkov o dolgodobni strupenosti nitrata za dvoživke smo izračunali predvideni varni okoljski koncentraciji na osnovi 5. percentile potencialno prizadetih vrst (ob uporabljenem varnostnem faktorju 1) ter z izračunom geometrijske sredine omenjenih koncentracijskih vrednosti (ob uporabljenem varnostnem faktorju 10). Vrednosti, ki so izračunane po obeh metodah, sta zelo podobni ter znašata 3,2 oziroma 3,5 mgNO₃⁻/L. V predlogu mejne koncentracije za nitrat za človeško ribico smo uporabili slednjo vrednost, ter jo povečali za naravno koncentracijo ozadja vključno z njenim predvidenim nihanjem. Vsota vrednosti je 9,2 mg NO₃⁻/L. Slednjo predlagamo kot mejno koncentracijsko vrednost za določitev ugodnega kemijskega stanja habitata človeške ribice. Zaradi podobne vrednosti naravne koncentracija ozadja velja izračunana mejna koncentracija nitrata za vsa območja poseljena s človeško ribico v Sloveniji. Za doseg predlagane mejne koncentracije nitrata bodo me drugim potrebni ukrepi za izboljšanje kmetijske prakse, spremembe kmetijske subvencijske politike, izobraževanje ter boljši nadzor nad emisijami nitrata iz živalskega gnoja. Potrebno bo tudi omejevanje ponikanja odpadnih voda, ki v procesu čiščenja ne dosegajo zadovoljive kvalitete na iztoku iz čistilne naprave.

SUMMARY

Introduction

The goal of the study was the assessment of risk that nitrate poses to the groundwater ecosystem in the project area of LIFE Kočevsko. In the scope of the study, we identified relevant sources of nitrates in the groundwater. We calculated the threshold concentration for nitrate for groundwater as a habitat of proteus (*Proteus anguinus*). Based on results, we proposed possible risk mitigation measures to reduce the impact of nitrate to the groundwater as a habitat of proteus.

Problem identification

The groundwater directive provides the groundwater quality standard (GQS) for nitrate of 50 mg NO₃/L (2006/118/ES). The guideline value is based on epidemiological evidence for methaemoglobinaemia in infants, which results from short-term exposure and is protective for bottle-fed infants and, consequently, other population groups (World Health Organization, 2011). The GQS aim to protect the groundwater as a source of drinking water not as an ecosystem. Several scientific publications provide the information that this value might not be safe for the aquatic ecosystems. It seems that amphibians in their developmental stages are more sensitive than humans (Rouse et al., 1999)(Marco et al., 1999).

The survey was focused on the LIFE Kočevsko project area, however, the broader view on the potential emission of nitrate to the proteus habitats is also presented. Two main sources of nitrate emissions to the groundwater were identified:

- Emissions from livestock farming and the potentially inappropriate use of manure,
- Effluents from the wastewater treatment plants that immediately sink to the Karst underground.

An intensive pig and cattle production estates are settled within the project area. In addition, spreading of manure from the intensive poultry production over the grassland might have a strong influence on the groundwater habitats of proteus populations.

Wastewater treatment effluents in the Karst region commonly sank directly to the underground and to groundwater. The effluents from the tertiary treatment plants are, in the most of cases, of a good quality (in regard to the organic pollution, nitrates and phosphorous). However, secondary treatment, as the most common method of treatment on the smaller plants, does not provide the adequate effluent quality. The treatment plant on the border of the project area near Ribnica na Dolenjskem that release the effluents into the sinker and to the groundwater is such an example.

Methods

The threshold concentration of nitrate for proteus comprises from the predicted no-effect concentration (PNEC), the natural background concentration and the expected variation of the natural background concentration. The PNEC is extracted from selected long-term toxicity data of NaNO_3 and KNO_3 on amphibians available in scientific literature.

The calculation of predicted no-effect concentration (PNEC) calculation was performed following two methods:

- SSD (Species Sensitivity Distribution): the PNEC was calculated based on the 5th percentile of toxicity data by applying the assessment factor of 1.
- Geometric mean of toxicity data by applying the assessment factor of 10.

The natural background concentration for nitrate in Slovenia is $3,8 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$ (Mezga, 2014). This natural background concentration is estimated for all of the areas with identified proteus populations. Therefore, the calculated threshold concentration for nitrate in groundwater can be applied to all these sites. The deviation of the natural background concentration of nitrate was estimated to be 50% ($1,9 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$)

Results

Calculation of PNEC:

$$\text{PNEC}_{\text{SSD}} = \text{HC5}/\text{AF}$$

$$\text{PNEC}_{\text{SSD}} = 3,5 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}/1$$

$$\text{PNEC}_{\text{SSD}} = 3,5 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$$

$$\text{PNEC}_{\text{GEO}} = ((\text{NOEC}_1 + \dots + \text{NOEC}_{12})/12)/\text{AF}$$

$$\text{PNEC}_{\text{GEO}} = 31,9 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}/10$$

$$\text{PNEC}_{\text{GEO}} = 3,2 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$$

The expected background concentration of nitrate: $3,8 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$.

50 % of expected deviation of the natural background concentration: $1,9 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$.

Proposed threshold concentration for proteus: $9,2 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$.

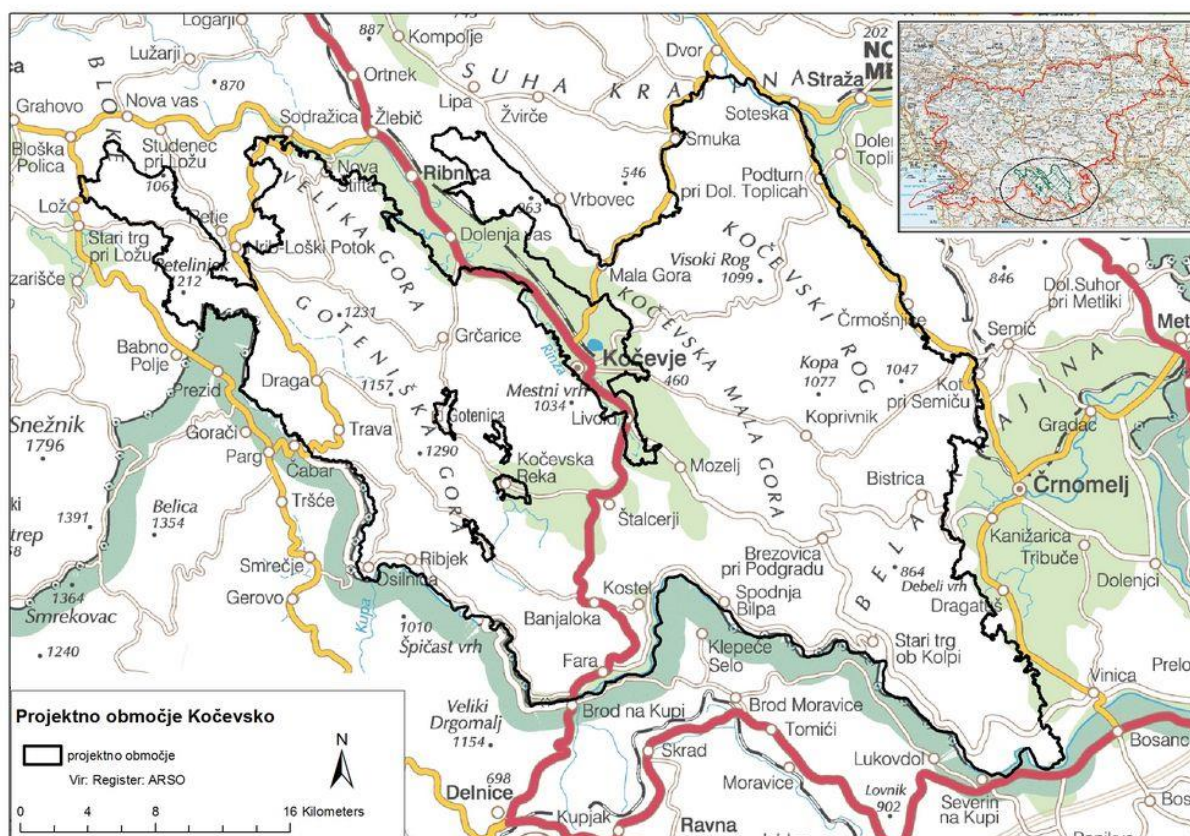
Conclusions

The proteus is one of the most remarkable representatives of stygofauna in Slovenia and probably in Europe. Emissions from agriculture and wastewater effluents can pose a threat to existing populations of this neotenic amphibian. In order to reduce the risk of nitrate to the proteus, we propose several risk mitigation measures that the risk manager should apply in the LIFE Kočevsko project area as well on other exposed location in the Karst region. The measures are as follows:

- To implement the threshold value of 9,2 mgNO₃-/L in groundwater as an environmental quality standard for good chemical status for proteus habitats.
- To implement appropriate measures in subvention policy to enhance good agricultural practice of use of the manure and penalize the pollution of environmental compartments with manure.
- To introduce a strict recording of manure application on the farms in the Karst region.
- The surveillance over the adequacy of dung pits, dung collection sites and possible leaks of slurry to the environment.
- A network of stakeholders, NGOs and public bodies that might have an interest, should be established and invited to identify and record all possible sources of nitrates in the groundwater
- To implement the legal terms that would prevent the release of untreated or insufficiently treated wastewater to sink directly to the Karst underground and groundwater.

1 UVOD

Zavod Republike Slovenije za varstvo narave je na dejavnosti Okoljske ocene tveganja, ki deluje v okviru Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano, naročil izdelavo naloge Ocene tveganja, ki ga predstavljajo nitrati za ekosistem podzemne vode in človeško ribico v sklopu projekta LIFE Kočevsko (LIFE13 NAT/SI/000314). Projektno območje obsega južni del Slovenije in sicer Kočevski Rog in Malo Goro na vzhodu, Veliko Goro in Goteniško Goro na zahodu ter mejno območje z republiko Hrvaško med Babnim poljem in Vinico na jugu. Projektno območje je prikazano na sliki 1. Zaključki naloge kot so na primer potencialni pritiski živinoreje na podzemne vode, ter emisije neočiščene ali slabo očiščene odpadne vode iz čistilnih naprav veljajo za vso območje Krasa. Tudi izračunana mejna koncentracija nitrata velja za vsa območja poseljena s človeško ribico v Sloveniji, saj je naravna koncentracija ozadja za nitrat na omenjenih območjih enaka, kot smo jo uporabili v nalogi.



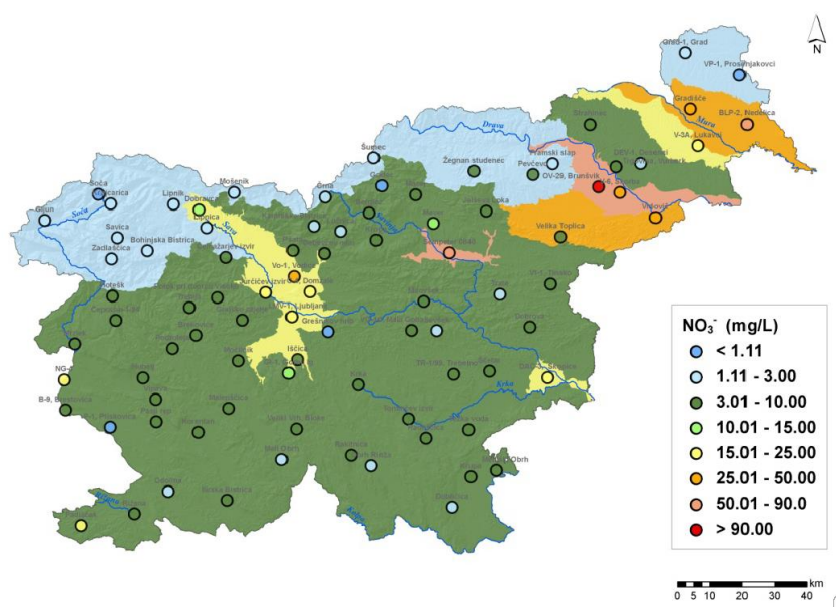
Slika 1: Projektno območje za izvedbo ocene tveganja, ki ga predstavlja nitrat za ekosisteme podzemne vode in za človeško ribico. (<http://life-kocevsko.eu/projektno-obmocje/>, n.d.).

2 IDENTIFIKACIJA PROBLEMA

Dušikov krog, katerega del je tudi nitrifikacija, zagotavlja v planetarnih razmerah ohranjanje dinamične ravnotežne koncentracije dušika v atmosferi, tleh in oceanih. V procesu nitrifikacije poteče oksidacija amonijaka preko nitrita v nitrat. Nitrat je osnovni makroelement, ki ga rastline kopnih ekosistemov, kot tudi rastline v vodnem okolju uporabljajo za svojo rast. Kot nitrat je v oceni tveganja označen nitratni ion NO_3^- z molekulsko maso $62,00 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (CAS 14797-55-8). Anion je v vodi topen in mobilan, zato ga padavinske vode izpirajo v podtalje ali v površinske vodotoke (World Health Organization, 2011).

Direktiva o podzemni vodi (2006/118/ES) določa okoljski standard kakovosti za nitrat, ki znaša $50 \text{ mg NO}_3/\text{L}$. Slednji je bil določen na osnovi epidemioloških dokazov za methemoglobinsko anemijo pri dojenčkih (World Health Organization, 2011). Namen te vrednosti je varovanje podzemne vode kot vira pitne vode. Vendar pa številni viri navajajo toksične koncentracijske vrednosti za nitrat, ki kažejo, da so dvoživke v svojih razvojnih stadijih občutljivejše od človeka (Rouse et al., 1999)(Marco et al., 1999).

V naravnem okolju so koncentracije nitrata odvisne od intenzivnosti razgradnih procesov na površini prsti, v vodi in v vrhnji, biološko aktivni plasti prsti. V Sloveniji je bila koncentracija naravnega ozadja ovrednotena na $3,81 \text{ mgNO}_3/\text{L}$ ($n = 91$)(Mezga, 2014). Na sliki 2 so prikazane pričakovane naravne koncentracije (koncentracije ozadja) nitrata v Sloveniji.



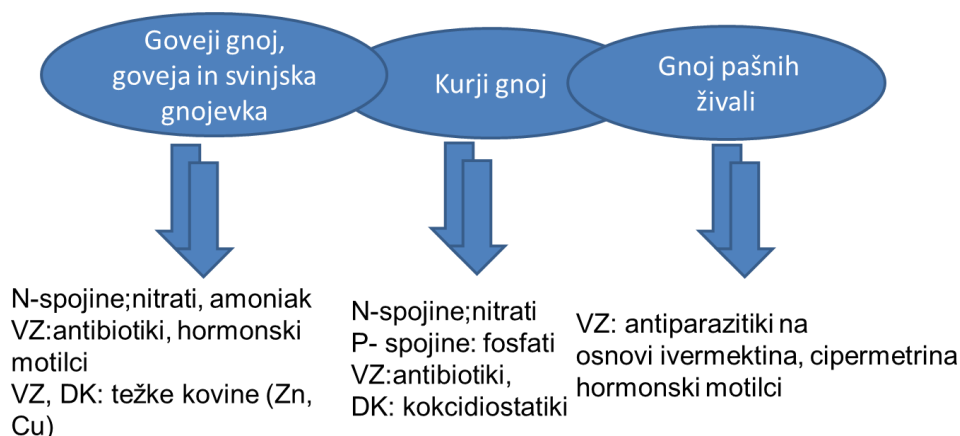
Slika 2: Pričakovane naravne koncentracije nitrata v plitvih podzemnih vodah v Sloveniji(Mezga, 2014)

V Sloveniji so povišane koncentracije nitrata glede na naravno ozadje posledica emisije neočiščene in nezadostno očiščene komunalne ali industrijske odpadne vode, starih bremen in izcedne vode iz deponij odpadkov ter kmetijske proizvodnje. Medtem, ko so emisije iz odlagališč ter komunalnih in industrijskih

virov praviloma točkovne, so emisije iz kmetijskih virov lahko tudi razpršene.

Območje Slovenskega krasa kot širši življenjski prostor človeške ribice ni primerno za intenzivno poljedelsko proizvodnjo. Podobno velja za projektno območje, kjer je kmetijska proizvodnja omejena predvsem na živinorejo. Različne vrste gnoja, ki nastajajo v intenzivni in ekstenzivni živinoreji so vir amonijaka, nitrata ter veterinarskih zdravil ter dodatkov k živalski hrani, v manjši meri pa tudi biocidov, ki so v rabi za vzdrževanje higiene v hlevih in živalih (Slika 3). Vse vrste gnoja lahko predstavljajo tveganje za akutne zastrupitve vodnega okolja zaradi prisotnosti amonijaka ter velike obremenitve z lahko razgradljivimi organskimi snovmi. Te ob onesnaženju zaradi velike porabe raztopljenega kisika povzročijo nenadno hipoksijo in posledično zadušitev življenjskih združb v vodnem telesu.

Za širše območje na katerem žive populacije človeške ribice ni javno objavljenih podatkov o obremenjevanju okolja z emisijami iz kmetijskih virov. Podatki iz statističnih regij ne nudijo prave slike, ob enem pa niso ažurirani (najnovejši so iz 2010). Mezga (Mezga et al., 2016) opozarja na možnost prekomernega obremenjevanja podzemnih voda z gnojem in gnojevko na območju skoraj vseh habitatov populacij človeške ribice na območju Nature 2000, kjer je ta vrsta v neugodnem stanju ohranjenosti. Na projektne območju je po razpoložljivih virih večje živinorejsko gospodarstvo (Govedoreja Kočevje), ki ima po lastnih podatkih na štirih lokacijah (Cvišlerji, Livold, Mlaka in Koblarji) približno 1 100 glav krav molznic in 1 400 glav ostale goveje živine. V Klinji vasi pri Kočevju je farma prašičev s kapaciteto med 24 000 in 26 000 pitancev, po rekonstrukciji pa naj bi vzrejali do 60 000 odojkov letno. Podatkov o številu glav in vrsti živali namenjenih za prehrano ljudi, ki jih vzrejajo zasebniki ni na razpolago.



Slika 3: Vrste gnoja kot mogoči viri emisij snovi, ki lahko predstavljajo nesprejemljivo tveganje za ekosisteme podzemnih voda.

Pomemben vir obremenitev podzemnih voda z nitrati pa tudi z drugimi onesnaževali so neprečiščene odpadne ali slabo očiščene odpadne vode. Po ocenah, ki temeljijo na podatkih iz leta 2015 (ARSO, n.d.) deluje na širšem kraškem območju 15 čistilnih naprav s postopkom terciarnega čiščenja pri čemer je

povprečna učinkovitost čiščenja odpadne vode 95 % po KPK (kemijsko porabo po kisiku), 76% glede na učinek čiščenja po fosforju in 79% učinek čiščenja po dušiku. Skupna količina očiščene vode v letu 2015 je bila 1367000m³. Dve od navedenih petnajstih čistilnih naprav s terciarnim postopkom čiščenja odpadne vode odvajata prečiščeno vodo neposredno v podtalje in sicer čistilna naprava v Sežani (6000 PE) in čistilna naprava v Kozini (2000 PE). Naprava v Sežani dosega 97%, 94% in 82% odstotek šiščenja glede na parametre KPK, fosfor in dušik, medtem ko naprava v Kozini dosega 97%, 89% in 93% uspešnost čiščenja za navedene parametre. Po podatkih Agencije Republike Slovenije za okolje je v letu 2015 na širšem območju, kjer bi lahko odpadne vode vplivale na populacije človeške ribice, delovalo 112 čistilnih naprav s postopkom sekundarnega čiščenja. Po tem postopku je učinkovitost čiščenja po fosforju in dušiku bistveno nižji, podatkov o učinkovitosti odstranjevanja hranil pa ni na razpolago. Izmed navedenih naprav jih 31 odvaja tretirane vode v podtalje.

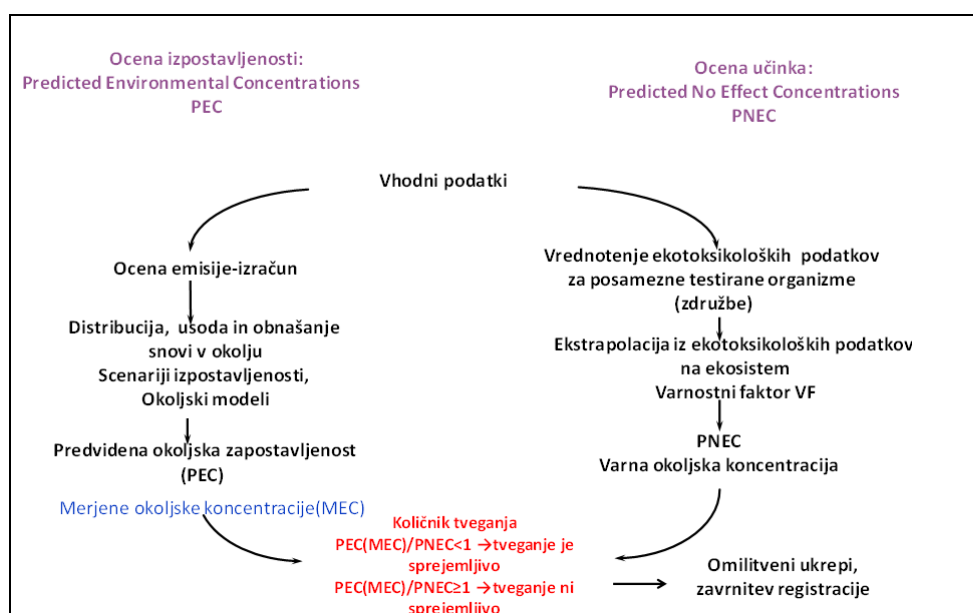
Na širšem projektnem območju so po podatkih iz Atlasa Okolja (<http://gis.arso.gov.si/atlasokolja/>) naslednje čistilne naprave (podatki veljajo za leto 2016):

- Kočevje: terciarni postopek čiščenja, projektirana velikost naprave 28000 PE, dejanska obremenitev 13373 PE, sprejemnik: Rinža,
- Ribnica: sekundarni postopek čiščenja projektirana velikost naprave 6500 PE, dejanska obremenitev 4071 PE, sprejemnik: Bistrica,
- Hrastje: sekundarni postopek čiščenja. projektirana velikost naprave 100 PE, dejanska obremenitev 560 PE, sprejemnik: podtalje
- Gotenica: sekundarni postopek čiščenja projektirana velikost naprave 350 PE, dejanska obremenitev 36 PE, sprejemnik: podtalje
- Škrilj: sekundarni postopek čiščenja, projektirana velikost naprave 300 PE, dejanska obremenitev 21 PE, sprejemnik: podtalje
- Stari Trg: sekundarni postopek čiščenja, projektirana velikost naprave 250 PE, dejanska obremenitev 50 PE, sprejemnik: podtalja

3 METODE DELA

Oceno tveganja smo pripravili na osnovi sheme, ki sledi okoljski oceni tveganja za kemikalije v kemijski zakonodaji REACH(ECHA, 2008) (slika 4). Osnovni koraki te so:

- Ocena izpostavljenosti: določitev koncentracij izpostavljenosti podanih kot vrednosti PEC (Predicted Environmental Concentration), oziroma vrednost MEC (Measured Environmental Concentration).
- Ocena učinka: predvidena varna koncentracija, kjer se učinek še ne izkaže PNEC(Predicted No Effect Concentration). Vrednost za PNEC je tudi osnova za določitev okoljskega standarda kakovosti (OSK). V primeru naše naloge je vrednost PNEC osnova za določitev mejne vrednosti za nitrat, ki jo predlagamo za določitev ugodnega kemijskega stanja habitata človeške ribice.
- Določitev koeficienta tveganja: razmerje $PEC(MEC)/PNEC$ kaže ali je tveganje sprejemljivo (razmerje je manjše od 1) oziroma nesprejemljivo (razmerje je enako ali večje od 1).



Slika 4: Osnovni koraki okoljske ocene tveganja

Zaradi posebnega okolja, ki ga predstavljajo podzemni ekosistemi, ter enega samega ciljnega organizma zaščite, smo izdelali »Ad Hoc« oceno tveganja in v okviru le te določili mejno vrednost koncentracijo nitrata v podzemni vodi kot okolju človeške ribice. Mejna vrednost je vsota vrednosti PNEC za nitrat, naravne koncentracije ozadja za nitrat na območju populacij človeške ribice ter predvidenega nihanja naravne koncentracije ozadja za nitrat.

Vrednosti PNEC za nitrat smo izračunali v skladu s tehničnim navodilom Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards(European Commission, 2011). To navodilo predvideva izračun PNEC kot ekstrapolacijo rezultatov ekotoksikoloških testov, ki so bili izvedeni na modelnih (surogatnih) organizmih. Ti

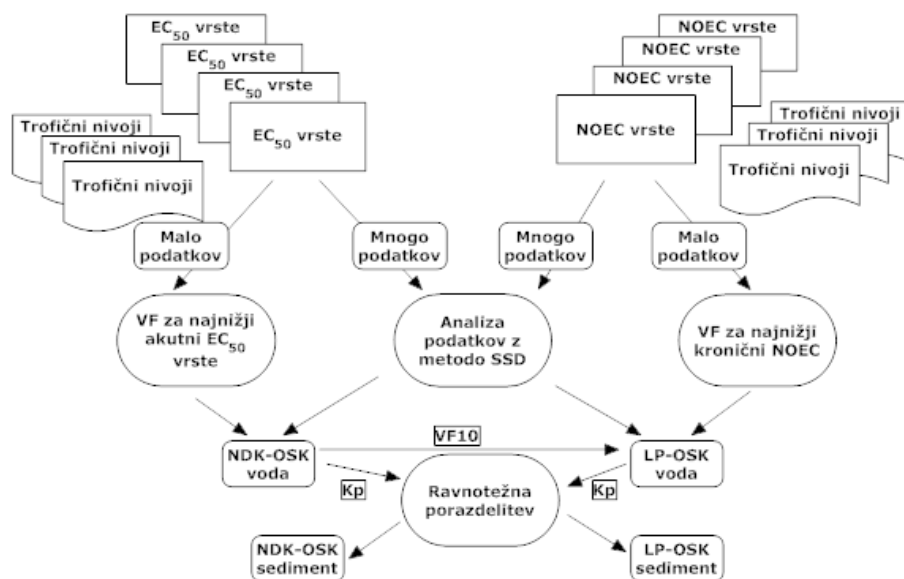
praviloma predstavljajo tri trofične nivoje: alge kot primarne proizvajalce ter vodne bolhe in ribe kot primarne potrošnike in potrošnike višjega reda. Zaradi omejenega nabora podatkov je pri izračunu ekološke vrednosti za PNEC vedno prisotna negotovost, ki jo premostimo z varnostnim faktorjem. Velikost tega je odvisna od negotovosti, ta pa od obsega in vrste razpoložljivih podatkov za določitev vrednosti PNEC. Cilj izračuna je vrednost PNEC z najnižjo stopnjo negotovosti. PNEC predstavlja koncentracijo, ki naj zaščiti 95% organizmov v ekosistemu.

Glede na obseg podatkov smo PNEC izračunali s pomočjo metode SSD (Species Sensitivity Distribution) na osnovi koncentracijskih vrednosti iz izbranih podatkov o dolgodobni toksičnosti nitrata za larvalne stadije dvoživk (PNEC_{SSD}). Ta zahteva večje število podatkov, zato je negotovost manjša, varnostni faktor, ki ga upoštevamo pa je med 5 in 1. Izbira varnostnega faktorja manjšega od 5 je v nalogi utemeljena. Slika 5 ponazarja različne metodologije za določitev okoljskih standardov kakovosti za vodno okolje in sediment. Za izračun smo uporabili program ETX 2.0 (Van Vlaardingen PLA, Traas TP, Wintersen AM, 2004). Rezultat PNEC_{SSD} smo primerjali z vrednostjo, ki smo jo določili iz geometrijske sredine razpoložljivih podatkov o dolgodobni toksičnosti (PNEC_{GEOMEAN}) ob uporabi varnostnega faktorja 10.

V okoljski oceni tveganja in določanja potencialne varne koncentracije smo iz prosto dostopne znanstvene literature zbrali razpoložljive ekotoksikološke podatke o dolgodobnem učinku nitrata na dvoživke. Podatke smo ovrednotili in jih zbrali v Prilogi I, tabela 1. Na zbranih osnovi podatkov ekotoksikoloških testov smo izračunali 5 % vseh koncentracij, ki še imajo dolgodobni učinek na razvojne stadije dvoživk. Zbrani ekotoksikološki podatki za dolgodobne učinke natrijevega nitrata na embrionalne in larvalne stadije dvoživk podajamo v tabeli 2 priloge I.

Pri izračunu smo upoštevali dejstvo, da je človeška ribica izjemno dolgoživa dvoživka, ki ostane vse življenje na nivoju neotenične ličinke, zato smo za izračun varne koncentracije uporabili le rezultate testnih organizmov na nivoju jajčeca ali ličinke. Podobno smo uporabili le rezultate testov, ki so bili izvedeni s natrijevim ali kalijevim nitratom, ne pa tudi rezultate testov v katerih je bila testna snov amonijev nitrat. Slednji je zaradi prisotnosti amonijaka bolj toksičen kot sta natrijev in kaliv nitrat.

Pri pripravi izračuna mejne vrednosti za koncentracijo nitrata smo upoštevali tudi naravno koncentracijo ozadja in pričakovanega nihanja le te.



Slika 5: Metode za določanje okoljskih standardov kakovosti. V izračunu smo upoštevali vrednosti NOEC ter jih analizirali z SSD metodo.

4 REZULTATI

Določitev predvidene varne okoljske koncentracije nitratov (PNEC - Predicted No Effect Concentration) metodo SSD smo uporabil podatke o dolgodobnih učinkih toksičnosti nitrata na embrionalne in larvalne stadije dvoživk. Izračunali smo 5 percentilo vseh koncentracij, ki smo jih zasledili v prosto dostopni znanstveni literaturi. Nabor podatkov zadovoljuje minimalne zahteve po normalni porazdelitvi. Rezultati izračuna so v prilogi II.

Rezultati izračuna PNEC:

$$PNEC_{SSD} = HC5/AF$$

$$PNEC_{SSD} = 3,5 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}/1$$

$$\mathbf{PNEC_{SSD} = 3,5 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}}$$

$$PNEC_{GEO\text{MEAN}} = ((NOEC_1 + \dots + NOEC_{12})/12)/AF$$

$$PNEC_{GEO\text{MEAN}} = 31,9 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}/10$$

$$\mathbf{PNEC_{GEO\text{MEAN}} = 3,2 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}}$$

Rezultat izračuna PNEC za nitrat po dveh različnih metodah so zelo podobni ($PNEC_{SSD} = 3,5 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$, $PNEC_{GEO\text{MEAN}} = 3,2 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$). Rezultat izračuna, ki smo ga uporabili kot osnovo za izračun potencialno varne vrednosti za nitrat v podzemni vodi je vrednost HC5, ki znaša $3,5 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$ zaradi nižje negotovosti. Izračunana 5 percentila koncentracij NOEC je zelo podobna pričakovani koncentraciji ozadja za nitrat v podzemni vodi. Pričakovana naravna koncentracija ozadja nitrata v podzemni vodi za predel Slovenije, kjer so evidentirane populacije človeške ribice je $3,8 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$. Zaradi le neznatne razlike med omenjenima vrednostnima predlagamo varnostni faktor 1. V izračunu upoštevana predvideno nihanje koncentracije ozadja, ki ga ocenjujemo do 50 % vrednosti pričakovane naravne koncentracije ozadja, kar znaša $1,9 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$.

Predlagana mejna vrednost za nitrat za človeško ribico v podzemni vodi ob upoštevanju naravne koncentracije ozadja znaša $9,2 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$.

5 DISKUSIJA

Izračunana mejna koncentracijska vrednost nitrata za človeško ribico v podzemni vodi ($9,2 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$) je pomembno nižja od okoljskega standarda kakovosti za nitrat v podzemni vodi ($50 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$). Slednji je namenjen predvsem varovanju pozemne vode kot vira pitne vode za človeka.

Iz letnega poročila o kemijskem stanju voda za leto 2015 Agencije Republike Slovenije za okolje (ARSO) (Agencije RS za okolje, 2015) je razvidno, da vrednosti za nitrat na kraških vodonosnikih praviloma ne presegajo vrednosti $25 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$. Izjema je območje Krškega polja, kjer so vrednosti lokalno povišane tudi nad $50 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$. Upravljevec z okoljskimi tveganji v tem primeru sprejema vrednosti nitrata, ki so enake ali nižje od $25 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$ kot ugodne. Vendar pa so le te v primerjavi z predlaganimi mejnimi vrednostmi nitrata za človeško ribico približno dva in pol krat višje.

V nalogi smo upoštevali naravno koncentracijo ozadja za nitrat, ki za obravnavano območje znaša $3,8 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$. Ocenjujemo, da naravna nihanja koncentracije naravnega ozadja nitrata niso višja kot 50% naravne koncentracije ozadja ($1,9 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$). Zato lahko štejemo vrednost $9,2 \text{ mgNO}_3^-/\text{L}$, ki je vsota vrednosti PNEC, naravne koncentracije ozadja, ter nihanja koncentracije ozadja za nitrat kot predlog mejne vrednosti nitrata za določitev ugodnega stanja za habitat človeške ribice.

O fiziološkem odgovoru človeške ribice na akutne in dolgodobne učinke toksičnega stresa je razmeroma malo znanega. Zaradi prilagoditev na dolgotrajno stradanje in občasno večjo ponudbo hrane domnevamo, da je človeška ribica, podobno kot ostala stigofavna (favna podzemnih voda), bolj občutljiva za dolgodobne učinke toksičnih stresorjev v primerjavi s podobnimi vrstami iz površinskih voda (Kolar and Finizio, 2017). Zaradi nezadostnega poznavanja fiziološkega odgovora izpostavljenih osebkov, ranljivosti celotnega ekosistema ter slabšanja varstvenega statusa človeške ribice v nalogi upoštevamo načelo previdnosti in načelo najslabšega primera. Po drugi strani pa smo v oceni upoštevali, da je nitrat naravno prisotna kemijska snov z ozadjem, ki je približno enak kot je spodnja 5. percentila testiranih ekotoksikoloških koncentracij brez toksikološkega učinka. Zato menimo, da je za določitev potencialno varne koncentracije nitrata v vodi primeren varnostni faktor 1.

Kmetijstvo in zlasti živinoreja predstavlja pomemben vir emisij nitrata v podzemni vodi. Kadar gnojenje ne sledi dobri kmetijski praksi in nitrata ne porabijo rastline, lahko pride do pronicanja slednjega v podzemne vode. Z občasnim monitoringom stanja pozemnih voda vedno ni mogoče zaznati nitrata kot pokazatelja onesnaženja. Zloraba gnojenja obdelovalnih in kmetijskih površin z namenom odlaganja odvečnih količin gnoja ali gnojevke iz kmetijske proizvodnje lahko privede do zastrupitve vodotokov ter podzemnih voda zaradi delovanja zelo strupenega amonijaka. Živalski gnoj in digestata iz bioplinarn pogosto vsebuje tudi ostanke veterinarskih zdravil in dodatkov k živalski krmii. Veterinarska zdravila lahko vsebujejo snovi, ki

delujejo na neciljne organizme pri izjemno nizkih koncentracijah, kot so na primer: hormonski motilci, antiparazitiki iz skupine avermektinov in piretroidov (cipermetrin) ter nekatera antimikrobna zdravila. Intenzivno perutninarstvo ni mogoče brez uporabe kokcidiostatikov, ki so lahko zelo obstojne snovi z več kot leto dni dolgo razpolovno dobo. Ker so ta nova onesnaževala le redko vključena v okoljski monitoring podzemnih voda, je prav koncentracija izmerjenega nitrata lahko indikator prisotnosti omenjenih snovi.

6 SKLEP

Človeška ribica je naš najbolj znamenit predstavnik stigofavne, ki v fazi neotenične ličinke preživi vse svoje življenje v vodnem okolju. Emisije nitrata iz kmetijskih virov in nezadostno očiščenih odpadnih voda so pomemben dejavnik tveganja za preživetje te vrste. Za zmanjšanje tveganja, ki ga predstavlja nitrat za človeško ribico na območju evidentiranih populacij predlagamo upravljavcu okoljskih tveganj:

- upoštevanje vrednosti 9,2 mgNO₃⁻/L za nitrate v podzemni vodi kot ciljno mejno vrednost za ugodno kemijsko stanje habitata človeške ribice,
- sprejem ustrezne subvencijske politike na področju kmetijstva, ki bo vzpodbujala dobro kmetijsko prakso na področju gnojenja ter kaznovala zlorabe,
- evidentiranje količine in časa uporabe organskih gnojil na KMG(kmetijska gospodarstva) za posamezne kmetijske površine ter poostren nadzor nad evidencami uporabe/oddaje gnoja in gnojevke na KMG na ranljivih območjih. Nadzor naj ne velja le za KMG v okviru programov KOPOP (Kmetijsko okoljsko podnebni program) in EK (ekološka kmetijstvo), temveč za vsa KMG na območju, ki poseljujejo populacije človeške ribice,
- stalni nadzor nad ustreznostjo gnojnih jam, gnojišč ter iztokov le teh v okolje,
- vključitev deležnikov in uporabnikov prostora v evidentiranje virov emisij nitrata (izcejanje iz deponij gnoja na prostem, iztoki iz gnojnih jam, iztoki kanalizacije ali nelegalno ponikanje odpadnih voda),
- Nadzor nad ponikanjem neočiščenih odpadnih voda in ponikanjem slabo očiščenih odpadnih voda iz čistilnih naprav. Tak nadzor je potreben zlasti na napravah, ki ne zagotavljajo terciarnega čiščenja oziroma ne zagotavljajo kvalitete vode, ki bi ob ostalih ustreznih parametrih omogočala zagotavljanje emisij v okviru predlagane mejne vrednosti za nitrat za človeško ribico.

7 VIRI

- Agencije RS za okolje. 2015. OCENA KEMIJSKEGA STANJA PODZEMNE VODE V SLOVENIJI V LETU 2015.
- ARSO. (n.d.). http://okolje.arso.gov.si/onesnazevanje_voda/vsebine/podatki-1.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R . 10 : Characterisation of dose [concentration] -response for environment May 2008.
- European Commission. 2011. Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards. <http://life-kocevsko.eu/projektno-obmocje/>. (n.d.). Retrieved from <http://life-kocevsko.eu/projektno-obmocje/>
- Kolar, B. & Finizio, A. 2017. Assessment of environmental risks to groundwater ecosystems related to use of veterinary medicinal products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 88, 303–309. <http://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.02.009>
- Marco, A., Quilchano, C. & Blaustein, A. R. 1999. Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18,12:, 2836–2839. <http://doi.org/10.1002/etc.5620181225>
- Mezga, K. 2014. Natural Hydrochemical Background and Dynamics of Groundwater in Slovenia. Nova Gorica.
- Mezga, K., Janža, M., Prestor, J., Koren, K. & Šram, D. 2016. Groundwater dependent ecosystems – groundwater status indicators. *Natura Sloveniae*, 18,1:, 35–42.
- Rouse, J. D., Bishop, C. A. & Struger, J. 1999. Nitrogen pollution: An assessment of its threat to amphibian survival. *Environmental Health Perspectives*, 107,10:, 799–803. <http://doi.org/10.1289/ehp.99107799>
- Van Vlaardingen PLA, Traas TP, Wintersen AM, A. T. 2004. ETX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data. Bilthoven, the Netherlands: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM).
- World Health Organization. 2011. Nitrate and nitrite in drinking-water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality, 37,4:, 227–231. <http://doi.org/10.1159/000225441>

8 PRILOGE

Priloga I: Tabela 1: Nabor vseh ekotoksikoloških podatkov, ki opisujejo akutne in dolgodobne učinek nitrata v obliki kalijevega nitrata (KNO_3), natrijevega nitrata ($NaNO_3$) in amonijevega nitrata (NH_4NO_3) na embrionalne in larvalne stadije dvoživk (2 strani)

Tabela 2: Nabor podatkov o dolgodobni strupenosti natrijevega nitrata ($NaNO_3$) na embrionalni in larvalne stadije dvoživk, ki smo jih uporabili za določitev potencialno varne koncentracije PNEC (1 stran)

Priloga II: Izračun SSD za dolgodobne učinke $NaNO_3$ na embrionalne in larvalne stadije dvoživk (2 strani)

Priloga I

Tabela 1: Nabor vseh ekotoksikoloških podatkov, ki opisujejo akutne in dolgodobne učinek nitrata v obliki kalijevega nitrata (KNO_3), natrijevega nitrata (NaNO_3) in amonijevega nitrata (NH_4NO_3) na embrionalne in larvalne stadije dvoživk

Vrsta	Življenjska oblika	Ekotoksikološki cilj/ dnevi	Oblika NO_3	Vrednost (mg/L)
<i>Ambystoma gracile</i>	larva	LC ₅₀ /15	KNO_3	23,39
<i>Rana pretiosa</i>	larva	LC ₅₀ /15	KNO_3	16,45
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	LC ₅₀ /10	NaNO_3	1236,2
<i>Pseudacris regilla</i>	embrio	LC ₅₀ /10	NaNO_3	578
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	LC ₅₀ /10	NaNO_3	266,2
<i>Rana aurora Rana</i>	embrio	LC ₅₀ /16	NaNO_3	636,3
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	LC ₅₀ /4	NaNO_3	1655,8
<i>Pseudacris regilla</i>	embrio	LC ₅₀ /3	NaNO_3	643
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	LC ₅₀ /4	NaNO_3	1749,8
<i>Xenopus laevis</i>	embrio	LC ₅₀ /4	NaNO_3	438
<i>Ambystoma maculatum</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO_3	9
<i>Ambystoma jeffersonianu</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO_3	9
<i>Rana sylvatica</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO_3	9
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO_3	65,6
<i>Pseudacris regilla</i>	embrio	NOAEL/10	NaNO_3	56,7
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO_3	30,1
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO_3	126,3
<i>Rana aurora Rana</i>	embrio	NOAEL/16	NaNO_3	29
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	NOAEL/40	NaNO_3	66
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO_3	65,5
<i>Xenopus laevis</i>	embrio	NOAEL/5	NaNO_3	24,8
<i>Rana temporaria</i>	larva	NOEC/70	NaNO_3	5
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	mort.	NaNO_3	22,6
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	rast	NaNO_3	9
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	razvoj	NaNO_3	9
<i>Rana pipiens</i>	paglavec	LC ₅₀ /3	NH_4NO_3	22,6
<i>Rana clamitans</i>	paglavec	LC ₅₀ /3	NH_4NO_3	32,4
<i>Bufo americanus</i>	paglavec	LC ₅₀ /3	NH_4NO_3	13,6
<i>Bufo americanus</i>	paglavec	LC ₅₀ /3	NH_4NO_3	39,3
<i>Rana pipiens</i>	larva	NOAEL	NH_4NO_3	30

Vrsta	Življenjska oblika	Ekotoksikološki cilj/ dnevi	Oblika NO ₃	Vrednost (mg/L)
<i>Pseudacris triseriata</i>	paglavec	NOEC/100	NH ₄ NO ₃	2,5-10
<i>Rana pipiens</i>	paglavec	NOEC/100	NH ₄ NO ₃	2,5-10
<i>Rana clamitans</i>	paglavec	NOEC/100	NH ₄ NO ₃	2,5 -10
<i>Pseudacris triseriata</i>	paglavec	LC ₅₀ /3	NH ₄ NO ₃	17
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	LC ₅₀ /3	NH ₄ NO ₃	385
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	LC ₅₀ /7	NH ₄ NO ₃	338
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	subkr. 30 d	NH ₄ NO ₃	23
<i>Trituris helevetica</i>	larva	Smrtnost; hitrost razvoja	NH ₄ NO ₃	11,3
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	LC ₅₀ /4	NH ₄ NO ₃	135
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	LC ₅₀ /10	NH ₄ NO ₃	55
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	LC ₅₀ /4	NH ₄ NO ₃	101
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	LC ₅₀ /10	NH ₄ NO ₃	53
<i>Rana pipiens</i>	paglavec	LOEC/100	NH ₄ NO ₃	10

Tabela 2: Nabor podatkov o dolgodobni strupenosti natrijevega nitrata (NaNO_3) na embrionalni in larvalne stadije dvoživk, ki smo jih uporabili za določitev potencialno varne koncentracije PNEC

Vrsta	Življenjska oblika	Ekotoksikološki cilj/ dnevi	Oblika NO_3	Vrednost (mg/L)
<i>Ambystoma maculatum</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO_3	9
<i>Ambystoma jeffersonianu</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO_3	9
<i>Rana sylvatica</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO_3	9
<i>Pseudacris regilla</i>	embrio	NOAEL/10	NaNO_3	56,7
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO_3	30,1
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO_3	126,3
<i>Rana aurora</i>	embrio	NOAEL/16	NaNO_3	29
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	NOAEL/40	NaNO_3	66
<i>Xenopus laevis</i>	embrio	NOAEL/5	NaNO_3	24,8
<i>Rana temporaria</i>	larva	NOEC/70	NaNO_3	5
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	rast	NaNO_3	9
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	razvoj	NaNO_3	9

Priloga II : Izračun SSD za dolgodobne učinke NaNO₃ na embrionalne in larvalne stadije dvoživk

Vhodni podatki:

1	9	<i>Ambystoma maculatum</i>	Unit: mg/l Type: NOEC
2	9	<i>Ambystoma jeffersonianu</i>	
3	9	<i>Rana sylvatica</i>	
4	66	<i>Xenopus laevis p</i>	
5	56,7	<i>Pseudacris regilla e</i>	
6	78,2	<i>Pseudacris regilla p</i>	
7	29	<i>Rana aurora</i>	
8	24,8	<i>Xenopus laevis e</i>	
9	5	<i>Rana temporaria</i>	
10	9	<i>Bufo bufo</i>	

Parameters of the normal distribution

Name	Value	Description
mean	1,28	mean of the log toxicity values
s.d.	0,43	sample standard deviation
n	10,00	sample size

HC5 results

Name	Value	log10(Value)	Description
LL HC5	1,04	0,018882	lower estimate of the HC5
HC5	3,50	0,544427	median estimate of the HC5
UL HC5	6,95	0,84182	upper estimate of the HC5
sprHC5	6,65	0,822938	spread of the HC5 estimate

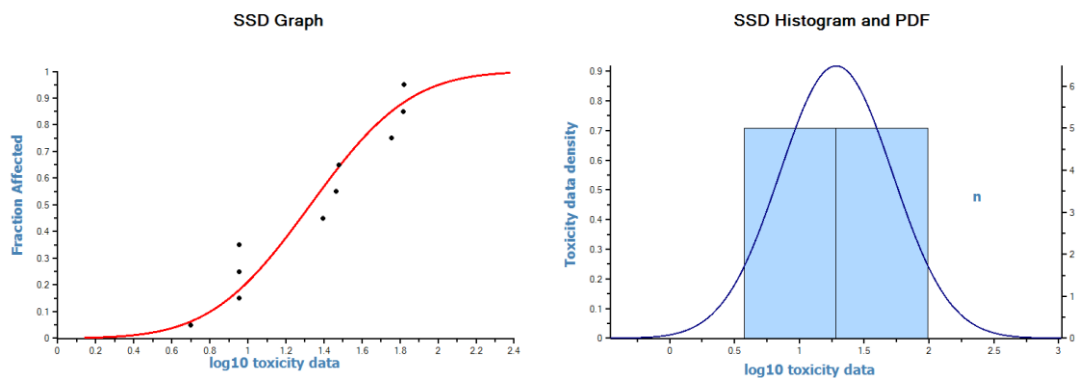
FA At HC5 results

Name	Value	Description
FA lower	0,61	5% confidence limit of the FA at standardised median logHC5
FA median	5,00	50% confidence limit of the FA at standardised median logHC5
FA upper	20,04	95% confidence limit of the FA at standardised median logHC5

Anderson-Darling test for normality

Sign. level	Critical	Normal?
0,1	0,631	Rejected
0,05	0,752	Accepted
0,025	0,873	Accepted
0,01	1,035	Accepted

Grafični prikaz določitve HC5



Izračun aritmetične sredine koncentracij NOEC

Vrsta	Življenjska oblika	Ekotoksikološki cilj/ dnevi	Oblika NO ₃	Vrednost (mg/L)
<i>Ambystoma maculatum</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO ₃	9
<i>Ambystoma jeffersonianu</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO ₃	9
<i>Rana sylvatica</i>	oplojena jajčeca	NOAEL	NaNO ₃	9
<i>Pseudacris regilla</i>	embrio	NOAEL/10	NaNO ₃	56,7
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO ₃	30,1
<i>Pseudacris regilla</i>	paglavec	NOAEL/10	NaNO ₃	126,3
<i>Rana aurora</i>	embrio	NOAEL/16	NaNO ₃	29
<i>Xenopus laevis</i>	paglavec	NOAEL/40	NaNO ₃	66
<i>Xenopus laevis</i>	embrio	NOAEL/5	NaNO ₃	24,8
<i>Rana temporaria</i>	larva	NOEC/70	NaNO ₃	5
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	rast	NaNO ₃	9
<i>Bufo bufo</i>	paglavec	razvoj	NaNO ₃	9
			mean	31,9