МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
32428—
2013**

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение хронической токсичности для рыб: 14-дневный тест

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 5 ноября 2013 г. № 61-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 798-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32428—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту OECD, Test No. 204 («Рыба, хроническая токсичность: 14-дневное исследование» («Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study», IDT)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение хронической токсичности для рыб: 14-дневный тест

Testing of chemicals of environmental hazard.
Fish prolonged toxicity test: 14-day study

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы измерения смертельных и других наблюдаемых эффектов воздействия вредных факторов на рыб, подвергнутых воздействию тестового вещества.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **полустатический тест** (Semi-static test): Тест, где тестовое вещество периодически обновляется (например, каждые 24 ч).

2.2 **динамический тест** (Flow-through test): Тест, при проведении которого в испытательных аквариумах вода непрерывно обновляется, тестовое вещество переносится водой.

2.3 **пороговый уровень смертельного эффекта** (Threshold level of lethal effect): Самая низкая концентрация тестового вещества в тестовом растворе, в котором наблюдается смертельный эффект.

2.4 **пороговый уровень наблюдаемых эффектов** (Threshold level of observed effects): Наименьшая концентрация тестового вещества вызывающая иной эффект, кроме смертельного, у значительного количества подопытных животных.

2.5 **NOEC (неэффективная наблюдаемая концентрация)** (no observed effect concentration): Самая высокая известная концентрация при проведении испытания, которая не имеет никакого статистически значимого смертельного или другого эффекта.

3 Основные положения

3.1 Вещество-эталон

Для данного испытания не рекомендуются вещества-эталоны. Однако если такое вещество-эталон использовалось, то должны быть приведены результаты.

3.2 Принципы и методы

Через равные промежутки времени в течение теста, который составляет по крайней мере 14 дней, определяют пороговые значения смертельного и других эффектов, а также NOEC. В случае необходимости период проведения испытания должен быть увеличен на 7—14 дней.

3.3 Условия достоверности теста

3.3.1 Смертность животных в конце теста не должна превышать 10 %.

Издание официальное

3.3.2 Концентрация растворенного кислорода в течение теста должна составлять по крайней мере 60 % от концентрации насыщения.

3.3.3 В полустатических тестах можно использовать аэрирование, если оно не приводит к значительной потере тестируемого вещества.

3.3.4 Необходимо подтвердить, что концентрация тестируемого вещества поддерживается на постоянном уровне (она должна составлять 80 % от номинальной концентрации) до завершения периода проведения испытания. Результаты должны быть основаны на средних концентрациях, если отклонение от номинальной концентрации больше 20 %.

4 Подготовка к испытанию

4.1 Оборудование

Используется следующее лабораторное оборудование:

- оборудование для определения температуры, pH, концентрации кислорода и жесткости воды;
- соответствующий прибор для регулирования температуры;
- тестовые емкости (аквариумы), изготовленные из химически инертного материала, и удовлетворяющие требованиям теста.

4.2 Растворы тестируемого вещества

4.2.1 Основные растворы соответствующих концентраций готовятся путем растворения требуемого количества тестируемого вещества в необходимом объеме разбавляющей воды. Для плохо растворимых веществ могут быть применены механические дисперсии или в случае необходимости дисперсии с помощью вспомогательных веществ, таких, как солюбилизаторы, имеющие низкую токсичность для рыб.

4.2.2 Концентрация органических растворителей, эмульгаторов или диспергаторов не должна превышать 100 мг/л в основном растворе.

4.2.3 Испытуемые растворы реактива выбранных концентраций подготовлены путем разбавления основного раствора.

4.2.4 Тест должен быть выполнен без регуляции pH. Если есть доказательства значимых изменений pH воды в тестовой емкости после внесения тестируемого вещества, то следует повторить тест, используя регуляторы pH основного раствора перед его внесением. Регуляция pH выполняется таким образом, чтобы степень концентрации основного раствора не изменялась в значительной степени, и исключалась химическая реакция или физическое осаждение тестируемого вещества. Для регулирования pH предпочтительно использовать HCl или NaOH.

4.3 Подопытные животные

4.3.1 Выбор видов рыб

Необходимо использовать один или несколько видов рыб на усмотрение лаборатории, в которой проводится испытание. Однако лучше использовать виды, рекомендованные для определения острой токсичности для рыб [1]. Используемые виды рыб должны быть отобраны на основе таких важных практических критериев, как, например, их доступность в течение года, неприхотливость в содержании, удобство проведения испытания и всех относящихся к тесту экономических, биологических или экологических факторов. Особи рыб должны быть здоровы и без патологий.

Рыбы, упомянутые в [1], исключительно просты в разведении и широко распространены в течение года. Они могут быть выведены и выращены в рыбоводческих хозяйствах или в лаборатории, при условиях, исключающих распространение заболеваний, в том числе паразитарных, и иметь известное происхождение. Эти рыбы доступны повсеместно.

Если при испытании используются другие виды рыб, то метод должен быть адаптирован к соответствующим условиям испытания.

4.3.2 Содержание рыб

Таблица 1 — Параметры содержания рыб

Акклиматизация:	Минимум 12—15 дней. Все рыбы должны быть экспонированы по крайней мере 7 дней перед тестом в той же самой воде, которая будет использована в эксперименте. Следует избегать любых действий, способных вызывать изменение поведения рыб
Вода:	Любая питьевая вода (дехлорированная в случае необходимости), природная вода хорошего качества, искусственно приготовленная вода [1]. Предпочтительна вода с общей жесткостью 50—250 мг $CaCO_3$ на литр и pH 6,0—8,5. Реактивы, используемые для приготовления разбавляющей воды, должны иметь аналитическую чистоту и растворяться в деионизированной или дистиллированной воде с удельной электропроводностью, равной или меньшей 10 μScm^{-1}
Свет:	Фотопериод составляет 12—16 ч ежедневно
Температура:	Соответственно виду [1]
Кислород	По крайней мере 80 % от насыщающей концентрации
Профилактическая чистка	Следует избегать профилактических чисток, если это невозможно, указать в результатах теста
Кормление:	1 раз в день
Смертность:	После периода адаптации в 48 ч, смертность регистрируют по следующим критериям: - смертность более 10 % популяции за 7 дней: замена животных - смертность от 5 до 10 % популяции: акклиматизацию продолжают дополнительные 7 дней - смертность менее 5 % популяции: продолжают эксперимент

5 Проведение испытания

5.1 Если в подготовке основного раствора тестового вещества используется растворитель, то необходимо проводить наблюдение над дополнительной группой контроля, подвергаемой действию самой высокой концентрации растворителя, используемой при испытании.

5.2 В динамическом тесте концентрация вещества в тестируемом растворе может быть определена в начале теста, в полустатическом тесте — в начале, сразу перед первым обновлением тестируемого раствора и в конце эксперимента. Кроме аналитических исследований могут быть использованы и другие методы, позволяющие продемонстрировать, что были выдержаны соответствующие концентрации тестируемого вещества.

5.3 Условия экспонирования

Таблица 2 — Условия проведения испытания

Продолжительность:	Обычно 14 дней, но может быть увеличена на одну или две недели
Аквариумы:	Могут быть использованы любые подходящие емкости
Загрузка:	Максимальная загрузка для полустатического теста рекомендуется 1,0 г рыбы на 1 л; более плотная загрузка возможна в динамическом тесте
Количество рыб	По крайней мере 10 для каждой концентрации и контроля
Тестовые концентрации	Выбранные тестовые концентрации позволяют определить как пороговые концентрации, так и другие наблюдаемые эффекты NOEC. Нет необходимости проводить испытание на концентрации вещества более 100 мг/л, если не было получено пороговое значение при этой концентрации
Вода:	Любая питьевая вода (дехлорированная в случае необходимости), природная вода хорошего качества, искусственно приготовленная вода [1]. Предпочтительна вода с общей жесткостью 50—250 мг $CaCO_3$ на литр и pH 6,0—8,5. Реактивы, используемые для приготовления разбавляющей воды, должны иметь аналитическую чистоту и растворяться в деионизированной или дистиллированной воде с удельной электропроводностью, равной или меньшей 10 μScm^{-1}

Окончание таблицы 2

Освещение	Фотопериод составляет 12—16 ч ежедневно
Температура:	Соответствующая виду (см. табл. 1 [1]) и постоянная в пределах ±2 °С
Концентрация кислорода	Не меньше 60 % от максимальной насыщающей концентрации в течение теста
Кормление:	Несколько раз в день (количество подаваемого корма не должно превышать общее количество, которое рыбы могут съесть немедленно) или ежедневно (количество корма остается постоянным, например 2 % от сухого веса, связанного с начальным весом рыбы)
Чистка:	В динамическом тесте аквариумы должны чиститься по мере необходимости, по крайней мере, 2 раза в неделю, в полустатическом — тестовая емкость (аквариум) заменяется на чистый каждый раз после замены воды.

5.4 Наблюдения

5.4.1 Наблюдаемые эффекты определены следующим образом.

Летальные эффекты: рыбы признаются мертвыми при отсутствии дыхательных движений и других реакций на небольшие механические раздражения.

Другие эффекты, кроме летальных, включают эффекты, наблюдаемые в размере и поведении рыб, которые явно отличаются от контрольных, например различные изменения в поведении, реакции на внешние раздражители, изменения внешнего вида рыбы, сокращение или прекращение питания, изменения в длине или весе тела рыбы.

5.4.2 Рыб осматривают, по крайней мере, один раз в день для констатации смерти. Мертвых рыб удаляют.

5.4.3 Необходимо ежедневно документировать все наблюдаемые эффекты, но как минимум, три наблюдения в неделю должны быть проведены.

5.4.4 Измерения pH, растворенного кислорода и температуры должны выполняться не реже двух раз в неделю.

5.4.5 До начала эксперимента вся популяция рыб должна быть взвешена и измерена. По завершении теста все оставшиеся в живых рыбы должны быть взвешены и измерены. Особи рыб не должны взвешиваться или измеряться во время теста, поскольку это может привести к повреждению и(или) смерти.

6 Результаты и отчет

6.1 Интерпретация результатов

Если стабильность или гомогенность тестируемых растворов не может быть соблюдена, то интерпретацию результатов необходимо проводить с осторожностью. Следует отметить, что результаты не являются воспроизводимыми.

6.2 Отчет о проведении теста

Отчет о проведении теста должен содержать следующую информацию:

- о тестируемом веществе: данные химической идентификации вещества;
- о подопытных организмах: научное название, размер, поставщик, любая предварительная обработка и т. д.

Условия проведения испытания:

- использованная испытательная процедура (полустатический, или динамический тест, аэрирование, плотность посадки рыбы, и т. д.);
- качественные характеристики воды (подготовка, включая дехлорирование, концентрация растворенного кислорода, pH, жесткость, температура, любая другая имеющаяся информация);
- концентрация растворенного кислорода, pH, температура и общая жесткость тестового раствора в каждый из рекомендуемых периодов наблюдения;
- методы подготовки маточного и тестовых растворов реактива, используемые концентрации;
- информация о способах поддержания концентрации тестового вещества в растворе;
- количество рыб в каждой тестовой концентрации.

Результаты:

- наблюдаемые эффекты для каждой тестовой концентрации в течение всего периода испытания, оформленные в таблицы;
- концентрации, вызвавшие смертельные или другие воздействия, могут быть представлены графически с указанием времени;
- пороговый уровень летального эффекта;
- пороговый уровень наблюдаемых эффектов;
- NOEC;
- совокупная смертность при каждой концентрации на каждый момент наблюдения, если возможно;
- смертность в контрольной группе;
- наблюдения за поведением рыб;
- инциденты в ходе испытания, которые, возможно, повлияли на его результаты;
- любые отклонения от стандарта.

Библиография

[1] OECD, Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, 1992

[2] OECD, Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study, 1984

[3] D.M.M. Adema, in Degradability, Ecotoxicity and Bioaccumulation, Chapter 5, Government Publishing Office, The Hague (1980)

[4] R. Bathe, Arch. Toxicol. Suppl. 2, 417—423 p. (1979)

УДК 658.382.3:006.354 МКС 71.040.50

Ключевые слова: химическая продукция, водная среда, метод испытаний, определение хронической токсичности

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 29.03.2019. Подписано в печать 19.04.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru