МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**ГОСТ 32536— 2020**

# МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

## Определение острой токсичности для дафний

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

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 «Российский научно-технический центр информации по стандартизации, метрологии и оценке соответствия» (ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 июня 2020 г. № 131-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 |
|---|---|---|
| Армения | AM | ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения |
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Казахстан | KZ | Госстандарт Республики Казахстан |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Россия | RU | Росстандарт |
| Таджикистан | TJ | Таджикстандарт |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 октября 2020 г. № 908-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32536—2020 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2021 г.

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному документу OECD Test № 202:2004 «Руководство по испытанию химических веществ. *Daphnia sp.* тест по оценке острой токсичности» («Guideline for Testing of chemicals — *Daphnia sp.* Acute Immobilisation Test», MOD) путем:

- включения раздела 1, библиографической ссылки, дополнительных фраз, которые выделены в тексте курсивом;
- изменения его структуры для приведения в соответствие с правилами, установленными в ГОСТ 1.5 (подразделы 4.2 и 4.3).

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой указанного международного документа приведено в дополнительном приложении ДА.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВЗАМЕН ГОСТ 32536—2013

*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, 2020

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

## Содержание

*1 Область применения* . . . . . 1
2 Термины и определения . . . . . 1
3 Принцип испытания . . . . . 1
4 Информация об исследуемом веществе . . . . . 1
5 Стандартные вещества . . . . . 2
6 Надежность метода . . . . . 2
7 Описание метода . . . . . 2
8 Проведение испытаний . . . . . 4
9 Испытание предельного значения . . . . . 5
10 Данные и отчет . . . . . 5
Приложение А (справочное) Некоторые химические характеристики воды, подходящей для проведения испытания . . . . . 7
Приложение В (справочное) Примеры модифицированной воды, подходящей для проведения испытаний . . . . . 8
Приложение С (справочное) Среды Элендт (Elendt) М4 и М7 . . . . . 9
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа . . . . . 11
Библиография . . . . . 13

## Введение

1. Руководства Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) по испытаниям химических веществ периодически пересматриваются с учетом научно-технического прогресса. Руководство OECD Test № 202 «*Daphnia sp.* Тест на острую иммобилизацию и тест на репродукцию», принятое в апреле 1984 г., состояло из двух частей: часть I — 24-часовой тест на острую иммобилизацию EC50 и часть II — тест на репродукцию (не менее 14 дней). В результате пересмотра теста на репродукцию в сентябре 1998 г. было принято и опубликовано Руководство по испытанию OECD Test № 211 «Тест на размножение *Daphnia magna*». Поэтому данная версия руководства OECD Test № 202:2004 ограничена испытанием на острую иммобилизацию.

2. В настоящем руководстве приведено испытание на острую токсичность для оценки воздействия химических веществ на дафний. Были использованы данные, приведенные в [1]—[3]. Основными отличиями по сравнению с более ранней версией являются: увеличение продолжительности испытания до 48 ч, представление дополнительной информации о рекомендуемых культурах и средах для испытания и проведение анализа на предельно допустимую концентрацию исследуемого вещества 100 мг/л.

МКС 75.080
11.020
11.120.01

**Поправка к ГОСТ 32536–2020 Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для дафний**

| В каком месте | Напечатано | Должно быть |
|---|---|---|
| Подпункт 8.1.3.2 | проводят аэрацию | не проводят аэрацию |

(ИУС № 11 2021 г.)

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 острой токсичности для дафний

Methods of testing the chemical products hazardous to the environment.
Determination of acute toxicity for daphnia

**Дата введения — 2021—07—01**

## *1 Область применения*

*Настоящий стандарт устанавливает требования к определению острой токсичности для дафний (Daphnia sp.) при воздействии химических веществ в течение 48 ч и к рекомендуемым средам для культивирования и проведения испытаний.*

## 2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **средняя эффективная концентрация $EC_{50}$:** Концентрация исследуемого вещества, которая приводит к угнетению подвижности 50 % дафний в течение установленного периода воздействия.

Примечание — При использовании другого определения необходимо привести его в отчете о проведении испытания со ссылкой на источник информации.

2.2 **иммобилизация (угнетение подвижности)** (immobilisation): Отсутствие способности у дафний плавать в течение 15 с после легкого взбалтывания содержимого испытательного сосуда (даже если они еще могут двигать сяжками).

## 3 Принцип испытания

Молодых дафний в возрасте менее 24 ч в начале испытания подвергают воздействию исследуемого вещества определенного диапазона концентраций в течение 48 ч. Иммобилизацию регистрируют через 24 и 48 ч и сравнивают с контрольными значениями. Проводят анализ результатов для вычисления $EC_{50}$ через 48 ч после воздействия. Определение $EC_{50}$ через 24 ч является факультативным.

## 4 Информация об исследуемом веществе

Должны быть известны растворимость в воде и давление паров исследуемого вещества и должен быть доступен надежный аналитический метод количественного определения вещества в исследуемых растворах с заявленной эффективностью извлечения и пределом определения. Полезная информация включает структурную формулу, чистоту вещества, стабильность в воде и на свету, распределение и результаты испытаний на способность к биоразлагаемости[1)].

[1)] См. *[4]*.

**Издание официальное**

## 5 Стандартные вещества

Для подтверждения надежности условий испытания может быть определено значение $EC_{50}$ для стандартного (эталонного) вещества. Для этого рекомендуется использовать токсические вещества, используемые в международных круговых испытаниях[1]. *Было установлено, что результаты этих межлабораторных испытаний для калия дихромата ($K_2Cr_2O_7$) дают через 24 ч значения $EC_{50}$ в диапазоне от 0,6 до 2,1 мг/дм$^3$.*

Испытания со стандартным веществом желательно проводить каждый месяц, но не менее двух раз в год.

## 6 Надежность метода

Для признания достоверности результатов испытания применяют следующие критерии качества:

- в контрольном испытании, включая контрольное испытание с растворителем, должно быть иммобилизовано не более 10 % дафний;
- концентрация растворенного кислорода в конце испытания должна составлять не менее 3 мг/дм$^3$ в контрольных и испытательных сосудах.

Примечание — Для первого критерия не более 10 % контрольных особей дафний должны демонстрировать иммобилизацию или другие признаки поражения или стресса, например обесцвечивание или аномальное поведение, такое как нахождение на поверхности воды.

## 7 Описание метода

### 7.1 Оборудование

7.1.1 Испытательные сосуды и другие устройства, контактирующие с исследуемыми растворами, должны быть изготовлены из стекла или другого химически инертного материала. Испытательные сосуды обычно представляют собой стеклянные пробирки или стаканы, которые должны быть очищены перед каждым использованием путем стандартных лабораторных процедур. Испытательные сосуды должны быть неплотно закрыты для уменьшения потерь воды из-за испарения и предотвращения попадания пыли в растворы. Испытания летучих веществ проводят в достаточно больших, полностью заполненных закрытых сосудах для предотвращения ограничения или слишком низкого уровня кислорода (см. раздел 6 и 8.3.1).

7.1.2 Кроме того, используют следующее оборудование:

- прибор для измерения содержания кислорода — оксиметр (с микроэлектродом или другого типа для измерения растворенного кислорода в небольших объемах);
- pH-метр;
- соответствующее устройство для регулирования температуры (термостатирования);
- оборудование для определения общей концентрации органического углерода (TOC);
- оборудование для определения химической потребности в кислороде (COD);
- оборудование для определения жесткости воды.

### 7.2 Подопытные организмы

Наиболее предпочтительным видом является *Daphnia magna* Straus, но могут использоваться и другие виды *дафний* (например, *Daphnia pulex*). В начале испытания возраст дафнии не должен быть более 24 ч, и для снижения изменчивости следует использовать дафний не из первого потомства. Дафнии должны быть получены из здоровой популяции (без симптомов стресса, таких как высокая смертность, присутствие мужских особей и эфиппий, задержки воспроизводства первого поколения, бесцветных особей и т. д.). Организмы, используемые для конкретного испытания, должны быть получены из культур одной и той же популяции дафний. Дафнии должны содержаться в условиях культивирования (свет, температура, среда), аналогичных тем, которые будут использованы при испытании. Если среда культивирования при испытании отличается от среды, используемой для обычного культивирования, то целесообразно предусмотреть период предварительной акклиматизации перед испытанием. Для этого

[1] См. [1], [6].

дафний содержат в воде, используемой для проведения исследования, при температуре исследования в течение не менее 48 ч до начала испытания.

### 7.3 Вода для содержания дафний и растворения

7.3.1 Природная вода (поверхностные или грунтовые воды), модифицированная вода или дехлорированная водопроводная вода считаются приемлемыми для содержания дафний и растворения, если дафнии выживают в ней во время культивирования, акклиматизации и проведения испытаний без признаков стресса. Вода, химические характеристики которой соответствуют требованиям, приведенным в приложении А, подходит для испытаний. Качество воды должно быть постоянным в течение всего периода испытаний. Модифицированная вода может быть приготовлена путем растворения определенного количества реагентов известной аналитической чистоты в дистиллированной или деионизированной воде. Примеры состава модифицированной воды приведены в документах[1)] и в приложении В. Необходимо отметить, что среды, содержащие известные комплексообразующие вещества, такие как М4 и М7 в приложении С, не следует использовать для испытания веществ, содержащих металлы. Значение pH воды должно находиться в диапазоне от 6 до 9.

Рекомендуемая жесткость воды для *Daphnia magna* составляет от 140 до 250 мг/дм$^3$ (в пересчете на $CaCO_3$), для других видов *Daphnia* можно использовать более низкие значения жесткости. Воду, используемую для разбавления, можно аэрировать перед использованием для испытания, чтобы концентрация растворенного кислорода достигла насыщения.

7.3.2 При использовании природной воды показатели качества следует измерять не менее двух раз в год или каждый раз в случае возможного изменения данных параметров (см. 7.3.1 и приложение А). Также необходимо определять содержание тяжелых металлов (например, Cu, Pb, Zn, Hg, Cd, Ni). При использовании дехлорированной водопроводной воды необходимо проводить ежедневный анализ содержания хлора. При использовании поверхностной или грунтовой воды необходимо измерять ее электрическую проводимость и содержание в ней общего органического углерода (TOC) или химического потребления кислорода (COD).

### 7.4 Растворы для испытания

7.4.1 Растворы выбранных концентраций для испытания обычно готовят разбавлением исходного раствора. Исходные растворы готовят путем растворения исследуемых веществ в воде. По возможности следует избегать использования растворителей, эмульгаторов или диспергирующих веществ. Однако в некоторых случаях такие соединения могут потребоваться для получения основного раствора нужной концентрации. Рекомендуемые растворители, эмульгаторы и диспергаторы приведены в нормативном документе[2)]. В любом случае содержание исследуемого вещества в растворе не должно превышать предела растворимости в воде, используемой для разбавления.

7.4.2 Испытание проводят без регулирования pH. Если значение pH не сохраняется в диапазоне от 6 до 9, то может быть проведено второе испытание с приведением pH основного раствора к pH используемой воды перед добавлением исследуемого вещества. Регулирование значения pH проводят таким образом, чтобы концентрация основного раствора не изменялась в значительной степени и не происходило химической реакции или осаждения исследуемого вещества. Наиболее приемлемыми реагентами для регулирования pH основного раствора исследуемого вещества являются соляная кислота (HCl) и едкий натр (NaOH).

Тест следует проводить без корректировки pH. Если pH не остается в диапазоне от 6 до 9, то можно провести второй тест, доводя значение pH исходного раствора до уровня pH разбавляющей воды перед добавлением исследуемого вещества. Регулировку значения pH следует проводить таким образом, чтобы концентрация исходного раствора не изменялась в какой-либо значительной степени и чтобы не возникала химическая реакция или осаждение исследуемого вещества. Предпочтительно использовать HCl и NaOH.

---

[1)] См. [1], [7].

[2)] См. [5].

## 8 Проведение испытаний

### 8.1 Условия воздействия

**8.1.1 Подопытные и контрольные группы**

8.1.1.1 Испытательные сосуды заполняют соответствующими объемами воды и растворами исследуемых веществ. Соотношение объемов воздуха и воды в сосуде должно быть идентичным для подопытных и контрольных групп. Затем в сосуды помещают дафний. Не менее 20 особей, разделенных на четыре группы (по пять особей в каждой), используют для каждой испытуемой концентрации и для контрольной группы. Для каждой особи дафний необходимо обеспечить не менее 2 $см^3$ исследуемого раствора (т.е. 10 $см^3$ для 5 дафний в одном испытательном сосуде). Испытание проводят с полустатическим обновлением или в проточной системе, когда концентрация исследуемого вещества нестабильна.

8.1.1.2 В дополнение к серии испытаний воздействия исследуемого вещества следует провести одну серию испытаний с водой-разбавителем, а также, при необходимости, с водой, содержащей солюбилизирующий агент (контроль растворителей) при уровнях, используемых при воздействии.

**8.1.2 Испытания по определению диапазона концентраций**

8.1.2.1 При отсутствии информации о токсичности исследуемого вещества для определения диапазона концентраций для окончательного испытания может быть проведено испытание по определению диапазона концентраций. Для этого дафний подвергают воздействию разных концентраций исследуемого вещества. Пять дафний подвергают воздействию каждой исследуемой концентрации в течение 48 ч, параллельные испытания не проводят. Период воздействия можно сократить (например, до 24 ч), если данные, необходимые для определения диапазона значимых концентраций, могут быть получены за меньшее время.

8.1.2.2 Для испытания следует использовать не менее пяти концентраций. Они должны быть расположены в геометрической прогрессии с коэффициентом разделения, не превышающим 2,2. При использовании менее пяти концентраций в отчете о проведении испытания необходимо привести обоснование. Самая высокая концентрация должна приводить к 100 %-ной иммобилизации, а самая низкая — не оказывать никакого заметного воздействия.

**8.1.3 Условия проведения испытания**

8.1.3.1 Температуру поддерживают в диапазоне от 18 °С до 22 °С, и для каждого отдельного испытания она должна быть постоянной с точностью ±1 °С. Рекомендуемая периодичность освещения: 16 ч — свет, 8 ч — темнота. Допускается проведение испытаний в полной темноте, особенно для исследуемых веществ, не стабильных на свету.

8.1.3.2 Во время испытания проводят аэрацию испытательных сосудов. Испытания проводят без регулирования значения pH. Во время испытания дафний не следует кормить.

**8.1.4 Продолжительность испытания**

Продолжительность испытания составляет 48 ч.

### 8.2 Наблюдения

Каждый испытательный сосуд проверяют на наличие иммобилизованных дафний через 24 и 48 ч после начала испытания. В дополнение к иммобилизации в отчет необходимо включать информацию о любых признаках аномального поведения или изменения внешнего вида.

### 8.3 Аналитические измерения

8.3.1 Измеряют содержание растворенного кислорода и значение pH в начале и в конце испытания в контрольной группе и в подопытной группе с максимальной концентрацией исследуемого вещества. Концентрация растворенного кислорода в контрольных группах должна соответствовать критериям, приведенным в разделе 6. Значение pH не должно изменяться более чем на 1,5 единицы в любом испытании. Температуру обычно измеряют в контрольных сосудах или в окружающем воздухе и регистрируют непрерывно во время испытания или как минимум в начале и в конце испытания.

8.3.2 Концентрацию исследуемого вещества определяют как минимум для наибольшей и наименьшей концентраций в начале и в конце испытания[1)]. Вычисление результатов рекомендуется про-

[1)] См. [5].

водить на основании измеренных концентраций. При наличии подтверждающих данных о том, что на протяжении всего испытания концентрация исследуемого вещества удовлетворительно поддерживается в пределах ± 20 % от номинального значения или измеренной начальной концентрации, результаты могут быть основаны на номинальных или измеренных начальных значениях.

## 9 Испытание предельного значения

Используя процедуры, описанные в настоящем стандарте, испытание предельного значения можно выполнить при концентрации исследуемого вещества 100 мг/дм$^3$ или соответствующей пределу его растворимости в испытательной среде (в зависимости от того, что ниже), чтобы продемонстрировать, что значение $EC_{50}$ больше этой концентрации. Испытание на предельное значение выполняют с использованием 20 дафний (желательно разделенных на четыре группы по пять особей в каждой) с одинаковым числом в контрольной(ых) группе(ах). Если в конце испытания процент иммобилизации превышает 10 %, проводят полное испытание. Любое наблюдаемое аномальное поведение должно быть зарегистрировано.

## 10 Данные и отчет

### 10.1 Данные

10.1.1 Данные должны быть обобщены в табличной форме, показывающей для каждой подопытной группы и каждой контрольной группы число использованных и иммобилизованных дафний при каждом наблюдении. Строят график зависимости процента иммобилизованных дафний через 24 и 48 ч в зависимости от испытуемых концентраций. Данные анализируют с использованием соответствующих статистических методов (например, пробит-анализ и т. д.) для вычисления наклонов кривых и $EC_{50}$ с пределом доверительной вероятности 95 % ($p$ = 0,95)[1)].

10.1.2 Если стандартные методы вычисления $EC_{50}$ не применимы к полученным данным, в качестве приблизительного значения $EC_{50}$ используют максимальную концентрацию, не вызывающую иммобилизации, и минимальную концентрацию, приводящую к 100 %-ной иммобилизации (рассматривают как среднее геометрическое значение этих двух концентраций).

### 10.2 Отчет о проведении испытания

10.2.1 Отчет о проведении испытания должен содержать следующую информацию.

10.2.1.1 Исследуемое вещество:

- агрегатное состояние и соответствующие физико-химические свойства;
- химические идентификационные данные, включая чистоту.

Вид исследуемых дафний:

- источник и вид дафний, поставщик (если известен) и используемые условия культивирования (включая источник, вид и количество пищи, частоту кормления).

10.2.1.2 Условия испытаний:

- описание испытательных сосудов: тип и вместимость сосудов, объем исследуемых растворов, число дафний в испытательном сосуде, число испытательных сосудов (параллельных опытов) на каждую концентрацию;
- методы приготовления основных и испытательных растворов, включая использование любого растворителя или диспергатора, используемые концентрации;
- характеристики воды: источник и параметры качества воды (значение pH, жесткость, отношение Ca/Mg, отношение Na/K, щелочность, проводимость и т. д.); состав модифицированной воды, при использовании;
- условия инкубации: температура, интенсивность и периодичность освещения, содержание растворенного кислорода, значение pH и т. д.

10.2.1.3 Результаты:

- число и процент дафний, для которых наблюдали иммобилизацию или любые негативные проявления (включая аномальное поведение) в контрольных группах и в каждой подопытной группе, для каждого периода наблюдения и описание природы наблюдаемых эффектов;

---

[1)] См. [8], [9].

- результаты и дата проведения испытаний с эталонными веществами, при наличии;
- номинальные испытуемые концентрации и результаты всех испытаний при определении концентрации исследуемого вещества в испытательном сосуде. Следует также сообщить об эффективности извлечения и пределе определения;
- все данные о физико-химических измерениях — температуре, значениях pH и растворенного кислорода, — сделанных во время испытания;
- значение $EC_{50}$ для иммобилизации через 48 ч с доверительными интервалами и графиками подобранной модели, используемыми для их вычисления, наклоны кривых «доза — ответ» и стандартное отклонение; статистические методы, используемые для вычисления $EC_{50}$ (приводят соответствующие данные об иммобилизации через 24 ч, если определяли);
- обоснование любого отклонения от метода по настоящему стандарту и влияние отклонений на результаты испытания.

**Приложение А**
**(справочное)**

## Некоторые химические характеристики воды, подходящей для проведения испытания

Таблица А.1 — Химические характеристики воды, подходящей для проведения испытания

| Вещество | Концентрация, не более |
|---|---|
| Взвешенные частицы | 20 мг/дм$^3$ |
| Общий органический углерод | 2 мг/дм$^3$ |
| Неионизированный аммоний | 1 мкг/дм$^3$ |
| Остаточный хлор | 10 мкг/дм$^3$ |
| Общее содержание фосфорорганических пестицидов | 50 нг/дм$^3$ |
| Общее содержание хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов | 50 нг/дм$^3$ |
| Общее содержание хлорорганических соединений | 25 нг/дм$^3$ |

**Приложение В**
**(справочное)**

## Примеры модифицированной воды, подходящей для проведения испытаний

Таблица В.1 — Приготовление модифицированной воды для проведения испытаний

| Основной раствор (однокомпонентное вещество) | | Объем основного раствора, $см^3$, добавляемый к 1 $дм^3$ воды*, для приготовления модифицированной воды |
|---|---|---|
| Вещество | Количество вещества, г, добавляемое к 1 $дм^3$ воды* | |
| Кальция хлорид $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ | 11,76 | 25 |
| Магния сульфат $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 4,93 | 25 |
| Натрия гидрокарбонат $NaHCO_3$ | 2,59 | 25 |
| Калия хлорид KCl | 0,23 | 25 |
| * Вода[1)] соответствующей чистоты, например деионизированная, дистиллированная или обратного осмоса с электропроводностью, не превышающей 10 мкСм/см. | | |

1) См. также [1].

**Приложение С**
**(справочное)**

## Среды Элендт (Elendt) М4 и М7

### С.1 Адаптация к средам Элендт М4 и М7

В некоторых случаях наблюдаются трудности при пересадке дафний в питательные среды М4 и М7. Данные трудности можно преодолеть путем постепенной адаптации, т. е. постепенной пересадкой дафний из собственной среды в 30 %-ную, потом в 60 %-ную и затем в 100 %-ную среды Элендт. Период адаптации может составлять до одного месяца.

### С.2 Приготовление сред М4 и М7

#### С.2.1 Приготовление объединенных растворов, содержащих микропримеси

Сначала в воде подходящей чистоты, например деионизированной, дистиллированной или обратного осмоса[1)] готовят отдельные исходные растворы (I) индивидуальных микропримесей в соответствии с таблицей С.1. Из этих исходных растворов (I) готовят исходные объединенные растворы (II) М4 и М7, содержащие все микропримеси (объединенные растворы).

Таблица С.1 — Приготовление исходных растворов микропримесей

| Исходный раствор (I) (одно вещество) | Количество вещества, добавляемого к воде, мг/дм$^3$ | Концентрация (по отношению к среде М4) | Исходный объединенный раствор (II) см$^3$/дм$^3$ ** | |
|---|---|---|---|---|
| | | | М4 | М7 |
| $H_3BO_3$ | 57190 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ | 7210 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| LiCl | 6120 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| RbCl | 1420 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| $SrCl_2 \cdot 6H_2O$ | 3040 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| NaBr | 320 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | 1230 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ | 335 | 20000-кратная | 1,0 | 0,25 |
| $ZnCl_2$ | 260 | 20000-кратная | 1,0 | 1,00 |
| $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ | 200 | 20000-кратная | 1,0 | 1,00 |
| KI | 65 | 20000-кратная | 1,0 | 1,00 |
| $Na_2SeO_3$ | 43,8 | 20000-кратная | 1,0 | 1,00 |
| $NH_4VO_3$ | 11,5 | 20000-кратная | 1,0 | 1,0 |
| $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$* | 5000 | 2000-кратная | — | — |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$* | 1991 | 2000-кратная | — | — |
| 21 Fe-EDTA* | — | 1000-кратная | 20,0 | 5,00 |

*Растворы $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$ и $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ готовят отдельно, затем объединяют и сразу помещают в автоклав. Получают раствор 21 Fe-EDTA.

**Для приготовления исходных объединенных растворов (II) добавляют следующие количества исходных растворов (I) в воду[1)] (см$^3$/дм$^3$).

[1)] См. [1]

**С.2.2 Приготовление сред М4 и М7**

Среды М4 и М7 готовят с использованием основных растворов (II), макронутриентов и витаминов в соответствии с таблицей С.2.

Таблица С.2 — Среды М4 и М7

| Компонент | Количество компонента, добавляемого в воду, мг/дм$^3$ | Концентрации (для среды М4) | Количество компонентов для приготовления среды, см$^3$/дм$^3$ | |
|---|---|---|---|---|
| | | | М4 | М7 |
| Исходные объединенные растворы (II), содержащие все микропримеси | | 20-кратная | 50 | 50 |
| Основной раствор макроэлементов (отдельные вещества) | | | | |
| $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ | 293800 | 1000-кратная | 1,0 | 1,0 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 246600 | 2000-кратная | 0,5 | 0,5 |
| KCl | 58000 | 10000-кратная | 0,1 | 0,1 |
| $NaHCO_3$ | 64800 | 1000-кратная | 1,0 | 1,0 |
| $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$ | 50000 | 5000-кратная | 0,2 | 0,2 |
| $NaNO_3$ | 2740 | 10000-кратная | 0,1 | 0,1 |
| $KH_2PO_4$ | 1430 | 10000-кратная | 0,1 | 0,1 |
| $K_2HPO_4$ | 1840 | 10000-кратная | 0,1 | 0,1 |
| Объединенный витаминный раствор* | | 10000-кратная | 0,1 | 0,1 |
| *Объединенный витаминный раствор готовят добавлением трех витаминов к 1 дм$^3$ воды: | | | | |
| Тиамина гидрохлорид | 750,0 | 10000-кратная | — | — |
| Цианокобаламин ($B_{12}$) | 10,0 | 10000-кратная | — | — |
| Биотин | 7,5 | 10000-кратная | — | — |

* Объединенный витаминный раствор хранят в замороженном состоянии небольшими порциями. Витамины добавляют к среде непосредственно перед использованием.

Примечание 1— Для предотвращения осаждения солей при приготовлении сред в мерную колбу вместимостью 1 дм$^3$ помещают от 500 до 800 см$^3$ деионизированной воды[1)] и добавляют порции основных компонентов раствора, затем доводят водой до метки.

*Примечание 2 — Состав среды М4 приведен в документе*[2)].

1) См. [1].

2) См. [10].

**Приложение ДА**
**(справочное)**

## Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа

Таблица ДА.1

| Структура настоящего стандарта | Структура международного документа OECD Test № 202:2004 |
|---|---|
| Введение (1—2) | Введение<br>1<br>2 |
| 1 Область применения | |
| 2 Термины и определения (приложение 1) | |
| 3 Принцип испытания (3) | Принцип испытания<br>3 |
| 4 Информация об исследуемом веществе (4) | Информация об исследуемом веществе<br>4 |
| 5 Стандартные вещества (5) | Стандартные вещества<br>5 |
| 6 Надежность метода (6) | Надежность метода<br>6 |
| 7 Описание метода (7—13)<br>7.1 Оборудование<br>7.1.1<br>7.1.2<br>7.2 Подопытные организмы<br><br>7.3 Вода для содержания дафний и растворения<br>7.3.1<br>7.3.2<br>7.4 Растворы для исследования<br>7.4.1<br>7.4.2 | Описание метода<br>Оборудование<br>7<br>8<br>Подопытные организмы<br>9<br>Вода для содержания дафний и растворения<br>10<br>11<br>Растворы для исследования<br>12<br>13 |
| 8 Проведение испытаний (14—23)<br>8.1 Условия воздействия<br>8.1.1 Подопытные и контрольные группы<br>8.1.1.1<br>8.1.1.2<br>8.1.2 Испытания по определению диапазона концентраций<br><br><br>8.1.3 Условия проведения испытания<br>8.1.3.1<br>8.1.3.2<br>8.1.4 Продолжительность испытания | Проведение испытаний<br>Условия воздействия<br>Подопытные и контрольные группы<br>14<br>15<br>Испытания по определению диапазона концентраций<br><br>16<br>17<br>Условия проведения испытания<br>18<br>19<br>Продолжительность испытания<br>20 |

*Окончание таблицы ДА.1*

| Структура настоящего стандарта | Структура международного документа OECD Test № 202:2004 |
|---|---|
| 8.2 Наблюдения<br><br>8.3 Аналитические измерения<br>8.3.1<br>8.3.2 | Наблюдения<br>21<br>Аналитические измерения<br>22<br>23 |
| 9 Испытание предельного значения (24) | Испытание предельного значения<br>24 |
| 10 Данные и отчет (25—27)<br>10.1 Данные<br>10.1.1<br>10.1.2<br>10.2 Отчет о проведении испытания | Данные и отчет<br>Данные<br>25<br>26<br>Отчет о проведении испытания<br>27 |
| * | Библиография |
| ** | Приложение 1 Термины и определения |
| Приложение А Некоторые химические характеристики воды, подходящей для проведения испытания | Приложение 2 |
| Приложение В Примеры модифицированной воды, подходящей для проведения испытания | Приложение 3 |
| Приложение С Среды Элендт (Elendt) М4 и М7 | Приложение 3 (продолжение) |
| Приложение ДА Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа | |
| Библиография | |

* Библиография размещена в конце настоящего стандарта.

** Приложение 1 размещено в разделе 2 настоящего стандарта.

Примечание — После заголовков разделов настоящего стандарта приведены в скобках номера аналогичных им параграфов международного документа.

## Библиография


[1] ISO 6341 (1996). Water quality — Determination of the inhibition of the mobility of *Dafnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) — Acute toxicity test. Third edition, 1996

[2] EPA OPPTS 850.1010 (1996). Ecological Effects Test Guidelines — Aquatic Invertebrate Acute Toxicity Test, Freshwater Daphnids

[3] Environment Canada. (1996) Biological test method. Acute Lethality Test Using *Dafnia spp.* EPS 1/RM/11. Environment Canada, Ottawa, Ontario, Canada

*[4] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Guideline 301: Ready biodegradability, 1992*

[5] Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures. OECD Environmental Health and Safety Publication. Series on Testing and Assessment. No. 23. Paris 2000

[6] Commission of the European Communities. Study D8369. (1979). Inter-laboratory Test Programme concerning the study of the ecotoxicity of a chemical substance with respect to Dafnia

[7] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Guideline 211: *Dafnia magna* Reproduction Test, adopted September 1998

[8] Stephan C.E. (1977). Methods for calculating an LC50. In Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation (edited by F.I. Mayer and J.L. Hamelink). ASTM STP 634 — American Society for Testing and Materials. Pp. 65—84

[9] Finney D.J. (1978). Statistical Methods in Biological Assay. 3rd ed. London, Griffin, Weycombe, UK

*[10] Elendt, B. P. (1990). Selenium deficiency in crustacea; an ultrastructual approach to antennal damage in Dafnia magna Straus. Protoplasma, 154, 25—33*

УДК 615.038/615.012/615.014/615.2:006.354 МКС 75.080 MOD
11.020
11.120.01

Ключевые слова: методы испытаний, химическая продукция, опасность для окружающей среды, дафнии, определение острой токсичности

БЗ 11—2020/259

Редактор *В.Н. Шмельков*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *М.В. Лебедевой*

Сдано в набор 23.10.2020. Подписано в печать 03.11.2020 Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32 Уч.-изд. л. 1,86.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

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

МКС 75.080
11.020
11.120.01

**Поправка к ГОСТ 32536–2020 Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для дафний**

| В каком месте | Напечатано | Должно быть |
|---|---|---|
| Подпункт 8.1.3.2 | проводят аэрацию | не проводят аэрацию |

(ИУС № 11 2021 г.)

gost.e-ecolog.ru