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 $\mu Scm^{-1}$ |
| 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:<br>- смертность более 10 % популяции за 7 дней: замена животных<br>- смертность от 5 до 10 % популяции: акклиматизацию продолжают дополнительные 7 дней<br>- 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 $\mu Scm^{-1}$ |

*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.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru