ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ
В СФЕРЕ ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУ «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия»

_____ А.Н. Кичемасов

«___» _____ 2012 г.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ПИТЬЕВЫХ, ПРИРОДНЫХ И СТОЧНЫХ ВОД, ВОДНЫХ ВЫТЯЖЕК ИЗ ПОЧВ, ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД И ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ ПО ИЗМЕНЕНИЮ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ КУЛЬТУРЫ ВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛА (*CHLORELLA VULGARIS BEIJER*)

ПНД Ф Т 14.1:2:4.10-2004
Т 16.1:2.3:3.7-2004

Методика допущена для целей государственного экологического контроля

МОСКВА 2004 г.
(издание 2012 г.)

gost.e-ecolog.ru

СОДЕРЖАНИЕ

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ 2
1. ПРИНЦИП МЕТОДИКИ 2
2. ТРЕБОВАНИЯ К ПОКАЗАТЕЛЯМ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ 3
3. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ 4
4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ 5
5. ТРЕБОВАНИЕ К КВАЛИФИКАЦИИ ЛИЦ, ПРОВОДЯЩИХ БИОТЕСТИРОВАНИЕ 6
6. УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ 6
7. ПОДГОТОВКА К БИОТЕСТИРОВАНИЮ 6
7.1. Подготовка посуды для отбора, хранения проб и биотестирования. 6
7.2. Отбор, транспортировка, хранение и подготовка проб 7
7.2.1. Отбор, транспортировка и хранение проб воды 7
7.2.1.1. Подготовка проб воды к биотестированию. 10
7.2.2. Отбор, транспортировка, хранение и подготовка проб почвы. 11
7.2.2.1. Отбор, транспортировка, хранение проб. 11
7.2.3. Отбор, транспортировка, хранение проб почвы 11
7.2.4. Приготовление водной вытяжки из почв 13
7.2.5. Отбор, транспортировка и хранение проб осадков сточных вод, отходов. 16
7.2.6. Приготовление водной вытяжки из осадков сточных вод, отходов 21
7.2.7. Приготовление разбавлений исследуемых вод и водных вытяжек для биотестирования. 23
7.2.8 Подготовка тест-культуры водоросли. 25
8. ПРОВЕДЕНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ 26
9. ПОЛУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ОБРАБОТКА 27
9.1.Снятие результатов токсикологического эксперимента 27
9.2. Качество тестируемой воды. 27
9.3. Величина токсичной кратности разбавления (ТКР) 28
10. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ МЕТОДИКИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА 29
10.1. Контроль качества культуры водоросли хлорелла 29
10.2. Обработка (вычисление) результатов измерений (определений) 30
10.3. Оформление результатов измерений (определений) 31
10.4. Оценка приемлемости результатов, получаемых в условиях воспроизводимости 31
10.5. Контроль качества результатов измерений (определений) при реализации методики в лаборатории 31
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 33
Приложение 1 34
Приложение 2 35
Приложение 3 37
Приложение 4 38
Приложение 5 39
Приложение 6 40
Приложение 7 41
Приложение 8 42

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Настоящий документ устанавливает методику определения острой токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов производства и потребления по изменению оптической плотности тест-культуры зеленой протококковой водоросли хлорелла (Chlorella vulgaris Beijer) в лабораторных условиях. Оптическая плотность тест-культуры водоросли после 22 часов роста измеряется с помощью фотоэлектроколориметра.

1. ПРИНЦИП МЕТОДИКИ

Методика основана на регистрации различий в величине оптической плотности тест-культуры водоросли хлорелла, выращенной на среде, не содержащей токсических веществ (контроль) и тестируемых проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов производства и потребления (опыт), в которых эти вещества могут присутствовать. Измерение оптической плотности суспензии водоросли позволяет оперативно контролировать изменение численности клеток в контрольном и опытном вариантах острого токсикологического эксперимента, проводимого в специализированном многокюветном культиваторе. Критерием токсичности воды является снижение на 20% и более (подавление роста) или увеличение на 30% и более (стимуляция роста) величины оптической плотности культуры водоросли, выращиваемой в течение 22 часов на тестируемой воде по сравнению с ее ростом на контрольной среде, приготовленной на дистиллированной воде.

В экспериментах по определению острого токсического действия устанавливают токсичную концентрацию отдельных веществ или токсичную кратность разбавления вод и водных вытяжек, содержащих смеси веществ, вызывающие снижение на 20 % и более или увеличение на 30 % и более величины оптической плотности тест-культуры водоросли по сравнению с контролем за 22 часа световой экспозиции.

Контроль качества культуры водоросли хлорелла проводится один раз в квартал. Он осуществляется посредством определения ее чувствительности к «модельному» токсиканту – сульфату кадмия ($CdSO_4 \times 8/3H_2O$). При хорошем состоянии культуры водоросли и правильно поставленном эксперименте после 22 часов культивирования 50% подавление прироста по сравнению с контролем должно наблюдаться в диапазоне концентраций сульфата кадмия 0,06-0,24 мг/дм^3. При этом оптическая плотность культуры водоросли в контрольном варианте за этот период должна достигнуть величины 0,15±0,03.

2. ТРЕБОВАНИЯ К ПОКАЗАТЕЛЯМ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значения метрологических характеристик результатов измерений не превышают значений, приведенных в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Значения показателей повторяемости и воспроизводимости методики

Наименование объекта	Диапазон измерений, ед. оптической плотности	Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение результатов, полученных в условиях повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение результатов, полученных в условиях воспроизводимости), σ_R, %
Пробы питьевых, природных, сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов производства и потребления	от 0,005 до 0,200 вкл.	8	13

Таблица 2

Значения пределов повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности P = 0,95

Наименование объекта	Диапазон измерений, ед. оптической плотности	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между четырьмя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами, полученными в условиях воспроизводимости), R, %
Пробы питьевых, природных, сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов производства и потребления	От 0,005 до 0,200 вкл.	29	36

3. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ

Для проведения исследований по данной методике необходимы следующие средства измерений, материалы и реактивы:

3.1 Средства измерений

- фотоэлектроколориметр ИПС-03 (ТУ 4437-003-26218570-2006);
- термометр лабораторный шкальный с диапазоном измерения от 0 до 50°С с ценой деления шкалы 0,5 °С (ГОСТ 28498-90);
- весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г (ГОСТ 53228-2008);
- весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 1000 г (ГОСТ Р 53228-2008);
- гири (ГОСТ 7328-2001);
- pH-метр электронный любого типа;
- цилиндры вместимостью 25, 50, 100, 1000 $см^3$ второго класса точности (ГОСТ 1770-74)
- колбы мерные 2-25-2, 2-50-2, 2-100-2 (ГОСТ 1770-74);
- пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$ с ценой деления 0,1 $см^3$ (ГОСТ 29227-91);
- микропипетки 0,1 $см^3$, 0,2 $см^3$ с ценой деления 0,01 $см^3$ (ГОСТ 29227-91);
- перестраиваемая автоматическая пипетка на 1-5 $см^3$ (любого типа).

3.2 Вспомогательное оборудование

- многокюветный культиватор водорослей КВМ – 05, ТУ 3615-006-26218570-2007;
- культиватор КВ–05, ТУ 3615-006-26218570-2007;
- центрифуга лабораторная медицинская ЦЛН-1 с комплектом пробирок (ТУ 5-375-4261-76);
- холодильник бытовой, обеспечивающий замораживание (-20 ± 1°С) и хранение проб (от +2 до +4 °С);
- воронки лабораторные (ГОСТ 25336-82);
- стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 150, 200, 250, 1000 $см^3$ (ГОСТ 25336-82Е);

3.3 Реактивы и материалы

- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- калий азотнокислый х.ч. (ГОСТ 4217-77);
- калий фосфорнокислый однозамещенный 3-водный (ГОСТ 4198-75);
- магний сернокислый 7-водный (ГОСТ 4523-77);
- цитрат железа;
- кадмий сернокислый 8/3-водный (ГОСТ 4456-75);
- аммоний ванадиевокислый мета х. ч. (ГОСТ 9336-75);
- марганец хлористый х.ч. (ГОСТ 612-75);

- молибдена окись х.ч. (ТУ 6-09-4471-77);
- цинк сульфат 7-водный о.с.ч. 9-2 (ТУ 6-09-4219-76);
- кислота азотная х.ч. (ГОСТ 4461-77);
- кислота борная х.ч. (ГОСТ 9656-75);
- кислота соляная х.ч. (ГОСТ 3118-77);
- натрия гидрооксид х.ч. (ГОСТ 4328-77);
- вата хирургическая;
- марля медицинская
- культура зеленой водоросли *Chlorella vulgaris Beijer,* термофильный штамм, соответствующая критериям чувствительности к модельному токсиканту.

Примечание. *Допускается использование средств измерений, вспомогательных устройств и материалов другого типа, имеющих аналогичные характеристики.*

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

4.1. При работе с химическими веществами, загрязненными почвами, осадками сточных вод, отходами и сточными водами необходимо соблюдать требования техники безопасности по ГОСТ 12.1.007-76 "ССБ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности".

4.2. При подготовке проб загрязненных почв, осадков сточных вод и отходов необходимо пользоваться средствами индивидуальной защиты: специальной одеждой по ГОСТ 12.4.103-83, респираторами, очками защитными по ГОСТ Р 12.4.013-97, резиновыми перчатками по ГОСТ 20010-93.

4.3. К воздуху производственных помещений предъявляются санитарно-гигиенические требования по ГОСТ 12.1.005-88.

4.4. Безопасность при работе с электроустановками обеспечивается по ГОСТ Р 12.1.019-2009 и в соответствии с требованиями инструкций к оборудованию.

4.5. Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009-83.

4.6. Рабочие столы и поверхности должны содержаться в чистоте. В конце дня проводится влажная уборка рабочих поверхностей.

4.7 Утилизация проб объектов аналитического контроля, отходов, образующихся в процессе анализов, растворов реактивов, реактивов с просроченным сроком хранения производится согласно инструкции «Утилизация отходов», разработанной на основании Постановления Минприроды от 29.04.2008 № 43 «Об утверждении инструкции о порядке установления нормативов допустимых сбросов химических и иных веществ в водные объекты».

Ответственный за выполнение всех перечисленных процедур обращения с пробами менеджер по качеству.

4.8. Необходимо организовать обучение работающих безопасности труда по ГОСТ 12.0.004-90.

5. ТРЕБОВАНИЕ К КВАЛИФИКАЦИИ ЛИЦ, ПРОВОДЯЩИХ БИОТЕСТИРОВАНИЕ

К биотестированию допускаются специалисты, имеющие опыт работы в лаборатории, освоившие методические приемы водной токсикологии и уложившиеся в нормативы контроля при освоении методики.

6. УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Биотестирование проводится в лабораторных условиях в соответствии с ГОСТ 15150, помещение не должно содержать токсичных паров и газов.

Температура окружающего воздуха в лаборатории от +17 до +27°С. Атмосферное давление 84 – 106 кПа (630 – 800 мм рт. ст.). Освещение помещения может быть естественным или искусственным и не ограничено особыми требованиями.

7. ПОДГОТОВКА К БИОТЕСТИРОВАНИЮ

Для проведения биотестирования необходимо предварительно подготовить посуду, пробоотборники, места хранения отобранных проб, а также рабочие места для обработки доставленных в лабораторию проб и исследования их на токсичность. Все процедуры предварительной подготовки должны исключать попадание токсичных, органических и каких-либо других веществ с окружающих предметов или среды в исследуемую воду или в водные вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов.

7.1. Подготовка посуды для отбора, хранения проб и биотестирования производится согласно ФР.1.39.2007.03223 «Методике определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей».

Для отбора проб воды обычно используется посуда из полиэтилена, полипропилена или политетрафторэтана, а при наличии в воде нефтепродуктов, моющих средств и пестицидов - банки из темного стекла. Для отбора проб почв, осадков сточных вод и отходов используются банки из темного стекла или посуда из нержавеющей стали. Нельзя использовать посуду с хромовым покрытием.

Посуда из пластика и стекла для отбора проб и биотестирования должна быть химически чистой. Она промывается 10 %-ным раствором азотной кислоты. Стенки посуды осторожно смачиваются этим раствором, после чего на 2-3 часа посуда оставляется, затем она тщательно промывается водопроводной водой, нейтрализуется раствором пищевой соды и промывается 3-4 раза дистиллированной водой. Сильнозагрязненную, а также новую посуду промывают водой, заполняют 10 % раствором азотной кислоты и выдерживают не менее су-

ток, затем тщательно промывают раствором соды, водопроводной водой и не менее 3-4 раз дистиллированной водой. Посуду для отбора проб почв, осадков, сточных вод и отходов, изготовленную из нержавеющей стали, тщательно моют, очищают пищевой содой, промывают водопроводной водой и ополаскивают 3-4 раза дистиллированной водой. Для мытья посуды не разрешается пользоваться хромовой смесью, синтетическими поверхностно-активными веществами и органическими растворителями. Посуду для отбора проб и биотестирования за исключением мерной сушат в сушильном шкафу при 160 °С в течение 1 часа.

Вся грязная посуда, использованная при отборе проб, в процессе пробоподготовки и проведения биотестирования должна подвергаться стерилизации в сушильном шкафу (за исключением мерной) или кипячению в течение одного часа. Посуду для отбора и подготовки проб отходов, осадков сточных вод желательно подвергать автоклавированию (за исключением мерной) при 121 °С и давлении 1,05 кг/см^2 в течение 15 минут. Стекло, полипропилен и тефлон можно подвергать автоклавированию.

Химически чистая посуда для биотестирования должна храниться с закрытыми стеклянными притертыми пробками или завинчивающимися крышками в защищенных от пыли ящиках лабораторного стола или на закрытых полках, стеллажах и т.п.

7.2. Отбор, транспортировка, хранение и подготовка проб

7.2.1. Отбор, транспортировка и хранение проб воды

Для проведения исследования на токсичность отбирают не менее 500 см^3 водной пробы. Отбираемый объем должен быть в два раза больше требуемого для хранения дубликата пробы до конца биотестирования.

Методы отбора, транспортировки, хранения, подготовки к выполнению биотестирования должны обеспечить неизменность состава проб в интервале времени между отбором проб и их анализом.

Процедуры отбора поверхностных, грунтовых и сточных вод должны соответствовать ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб».

Отбор проб поверхностных вод осуществляют также в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05-85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков».

Отбор сточных вод осуществляют также в соответствии с требованиями ПНД Ф 12.15.1-08 «Методические указания по отбору проб для анализа сточных вод».

Отбор проб в поверхностных проточных и непроточных водоемах осуществляют в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05-85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков».

Для пробоотбора используют устройства в соответствии с требованиями ГОСТ 17.1.5.04-81 «Охрана природы. Гидросфера. Приборы и устройства для

отбора, первичной обработки и хранения проб природных вод. Общие технические условия».

Пробы отбирают вручную специальными приспособлениями или автоматическими пробоотборниками, при этом емкости для проб должны быть из нетоксичного материала, легко выниматься из пробоотборника для очистки и мытья.

Для отбора глубинных проб воды из озер, водохранилищ, прудов и рек используют батометры системы Молчанова, Рутнера или Скадовского-Зернова.

Для отбора проб с глубины 0,5 м и более используют бутыль с привязанной пробкой, которую помещают в футляр, или пробоотборник с грузом. Футляр снабжен петлей, к которой привязывают веревку с размеченными отрезками, указывающими глубину погружения. На требуемой глубине с помощью привязанной к пробке веревки выдергивают пробку из горла бутыли. После заполнения бутыли водой (на поверхности воды не появляются пузырьки воздуха) ее поднимают на поверхность.

Отбор проб питьевых вод осуществляют в соответствии с ГОСТ Р 51593-2000 «Вода питьевая. Отбор проб».

Отбор питьевых вод перед поступлением в распределительную сеть производят из кранов на водоводах, расположенных на входе в установку обеззараживания.

Пробы питьевой воды в источнике водоснабжения с глубины 0,5 м отбирают пробоотборником любого типа объемом (300-500) $см^3$.

Водопроводную воду отбирают из-под крана, многократно ополоснув его отбираемой водой, после 10-минутного слива при полностью открытом кране. Кран антисептической обработке не подвергается.

Отбор природных и сточных вод производят в местах наибольшего перемешивания. Сточные воды отбирают на средней глубине потока, где твердые частицы равномерно распределены.

Очищенные сточные, а также питьевые воды на стадии водоподготовки отбирают до системы хлорирования.

При исследовании сточных вод на токсичность не допускается отбор разовой пробы. Количество необходимых порций выбирают на основе опыта проведения анализа. Предпочтительно отбирать среднесуточную пробу каждый час в течение 24 часов, после тщательного перемешивания всего объема отобранной пробы для исследования берется необходимое количество воды. Среднесуточная проба составляется из равных объемов сточных вод, отобранных через равные определенные промежутки времени.

Допустимое минимальное количество отбираемых единичных проб для последующего смешения - три, с интервалом между отборами не менее часа.

При взятии проб измеряют температуру воды. Для этого используют термометры с ценой деления 0,5 °С. Для определения температуры на месте взятия пробы 1 $дм^3$ воды наливают в склянку, нижнюю часть термометра погружают в

воду и через 5 мин отсчитывают показания, держа термометр вместе со склянкой на уровне глаз. Точность определения (±0,5) °С.

Не допускается консервирование проб, предназначенных для исследования на токсичность.

Отобранные пробы наливают в банки или флаконы, предварительно дважды ополаскивая их отбираемой водой, заполняют их до краев и закрывают без пузырьков воздуха пришлифованными стеклянными пробками или полиэтиленовыми крышками. Под полиэтиленовые крышки подкладывают стерильные тефлоновые прокладки или прокладки из алюминиевой фольги. Пробы упаковывают в деревянные ящики для переноски проб и прокладывают бумагой или ветошью. Для лучшей сохранности в жаркую погоду пробы транспортируют в контейнерах-холодильниках при температуре от +4 °С до +10 °С. В холодный период года контейнеры должны быть снабжены термоизолирующими прокладками, обеспечивающими предохранение проб от промерзания. При транспортировке не следует держать пробы на свету.

При отборе пробы составляют протокол по утвержденной форме (см. Приложение 1). На бутыль наклеивают водостойкую этикетку или пишут несмываемым водой маркером с указанием номера пробы, места, даты и времени ее отбора.

При отборе проб необходимо соблюдать технику безопасности. На крупных водотоках и водоемах следует соблюдать навигационные правила и правила эксплуатации используемого судна. Постоянные точки контроля следует выбирать в местах, которые были бы доступны в любое время года и где отсутствуют какие-либо опасности. На очистных сооружениях отбор проб осуществляют в специально предназначенных местах, маркированных и освещаемых в темное время суток. Отбор проб воды производят бригадой, состоящей минимум из двух человек. Перед работой бригада должна быть проинструктирована о мерах предосторожности при выполнении программы работ в зависимости от места отбора, климатических условий и т.д.

Пробы, поступающие в лабораторию для исследования, регистрируют в журнале учета с обязательным указанием числа емкостей и номера протокола отбора проб для каждой пробы.

Биотестирование проб воды проводят не позднее 6 часов после их отбора. При невозможности проведения анализа в указанный срок пробы воды охлаждают (от +2 °С до +4 °С). Хранить пробы следует в темноте не более 24 часов после отбора. О продолжительности хранения проб воды делают отметку в протоколе биотестирования. В исключительных случаях, при отсутствии летучих органических веществ, допускается глубокая заморозка проб (-18 °С) и их хранение до двух недель, а при стабильности проб - до 2 месяцев (следует помнить, что после размораживания токсичность воды может измениться). В случае предполагаемого замораживания пробы при ее отборе не следует заполнять сосуды полностью, чтобы избежать их разрыва. Если пробы требуется отстаивать, центрифугировать или фильтровать, то эти процедуры должны предшествовать замораживанию.

7.2.1.1. Подготовка проб воды к биотестированию

Подготовка проб воды к биотестированию производится согласно рекомендациям «Методики определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей» ФР.1.39.2007.03223.

Перед биотестированием предварительно охлажденные или замороженные пробы доводят до температуры 20 ±2 °С. При наличии в сточных водах крупнодисперсных включений (с диаметром частиц более 3,5 мкм) их следует удалить отстаиванием в течение 30-120 мин, фильтрованием или центрифугированием. Взвешенные частицы в исследуемой на токсичность воде могут искажать результаты биотестирования, так как снижают интенсивность возбуждающего света и флуоресценции водорослей. Фильтрация пробы производится через наиболее пористые обеззоленные фильтры «белая лента» (недопустимо использовать «синюю ленту», так как она задерживает коллоидные вещества, что занижает результаты биотестирования).

Природные воды фильтруют через мембранные фильтры с диаметром пор 3.5 мкм (фильтр перед применением должен быть промыт и простерилизован кипячением в дистиллированной воде не менее 10 мин) или через обеззоленные фильтры «белая лента».

Центрифугирование является предпочтительным методом удаления взвешенных частиц перед биотестированием. Воду, предназначенную для исследования на токсичность, центрифугируют 10 мин при скорости вращения от 4000 до 4500 обор/мин.

Активный хлор, используемый для обеззараживания питьевых и сточных вод, является токсическим веществом, поэтому перед биотестированием питьевых вод, а также при необходимости анализа сточных вод после системы хлорирования хлор следует удалить из исследуемой воды отстаиванием пробы с открытой крышкой при температуре от +2 до +4 °С не менее 24 часов.

Проба воды, подлежащая биотестированию, должна иметь pH 7,0-8,5. Если pH пробы выходит за указанные пределы, то в отдельном эксперименте устанавливается токсичность, вызываемая водородным показателем. Затем определяется токсичность воды после нейтрализации пробы. Подкисление осуществляют 10%-ным раствором HCl, подщелачивание – 10 %-ным раствором NaOH. После нейтрализации пробы аэрируют 10-20 мин для стабилизации pH. Регулирование pH не должно вызывать химической реакции с веществами, присутствующими в пробе (выпадение осадка, комплексообразование) и не должно более чем на 5 % изменять концентрацию исследуемых вод.

В протоколе биотестирования указывают токсичность проб после нейтрализации и без нейтрализации. *Заключение о токсичности вод дается по пробе без нейтрализации.* Данные о токсичности проб после нейтрализации указываются в протоколе для принятия правильного природоохранного решения по снижению неблагоприятного воздействия вод на объекты окружающей среды с применением методов нейтрализации водородного показателя.

При исследовании грунтовых или других вод с содержанием железа двухвалентного более 1 мг/дм^3 (валовая форма) необходимо предварительное отстаивание проб не менее 24 часов при температуре от +2 до +4 °С. Затем осветленная вода сифонируется и анализируется на токсичность

7.2.2. Отбор, транспортировка, хранение и подготовка проб почвы

7.2.2.1. Отбор, транспортировка, хранение проб

Методы отбора, транспортировки, хранения, подготовки к выполнению биотестирования должны обеспечить неизменность состава проб почвы в интервале времени между отбором и их анализом.

Отбор проб грунта, транспортировка и хранение осуществляется в соответствии с ГОСТ 12071-84 «Грунты. Отбор, упаковка, транспортирование и хранение образцов», ГОСТ 27753.1-88 «Грунты тепличные. Методы отбора проб».

Отбор проб почвы, их транспортировка и хранение осуществляется в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 17.4.4.02-84 «Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа», ГОСТ 28168-89 «Почвы. Отбор проб», а также согласно рекомендациям ФР.1.39.2007.03223 «Методики определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей».

7.2.3. Отбор, транспортировка, хранение проб почвы

Методы отбора, транспортировки, хранения, подготовки к выполнению биотестирования должны обеспечить неизменность состава проб почвы в интервале времени между отбором и их анализом.

Отбор проб грунта, транспортировка и хранение осуществляют в соответствии с ГОСТ 12071-84 «Грунты. Отбор, упаковка, транспортирование и хранение образцов», ГОСТ 27753.1-88 «Грунты тепличные. Методы отбора проб».

Отбор проб почвы, их транспортировка и хранение осуществляют в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 17.4.4.02-84 «Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа», ГОСТ 28168-89 «Почвы. Отбор проб», а также согласно рекомендациям «Методики определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей» ФР.1.39.2007.03223.

При отборе проб почвы должна быть определена протяженность и топография зон загрязнения. Участки для отбора проб почвы должны хорошо отражать структуру района исследования: почвенный покров, материнскую породу, рельеф, геологические и гидрологические характеристики.

Необходимым условием отбора проб почвы является предохранение их от вторичного загрязнения (в том числе атмосферных осадков) на всех этапах отбора и подготовки проб к биотестированию.

Для сравнимости результатов необходимо, чтобы приемы выбора пунктов и способ отбора проб почвы были идентичны при каждом исследовании почвы на токсичность.

Для характеристики загрязнения почвы на определенной площади отбирают объединенные пробы почвы. Объединенную пробу составляют путем смешивания единичных проб почвы, отобранных в разных точках данной пробной площадки размером не менее 10×10 м (100 м^2), которая располагается в типичном для данной территории месте. На каждые 20 га площади закладывают не менее одной пробной площадки. При обследовании площади менее 0,5 га размер площадки уменьшают, и он составляет 5×5 м.

Объединенную пробу составляют из 5-10 или 15-20 единичных проб (в зависимости от однородности исследуемого участка), равномерно размещенных на пробной площадке. Объем единичных проб почвы должен быть одинаков, поэтому для пробоотбора используют почвенный щуп. Щуп — это узкий металлический желоб, заостренный с одного конца и имеющий рукоятку для удобства пользования. Примерные размеры щупа: длина 1,25-1,5 м; диаметр 15-20 мм. Желоб в щупе составляет 3/4 его общей длины.

Взятие смешанного образца проводят следующим образом: лопатой делают прикопку на глубину до 30-40 см, отмечают мощность и цвет верхнего горизонта или слоя и изменения в цвете и состоянии от поверхности вглубь, после чего со стенки берут образец на полную глубину горизонта (слоя) массой 1-2 кг, предварительно очистив поверхность почвы от растений. Отбирают также образец поверхностной пробы до глубины 5-10 см той же массы.

Единичные пробы ссыпают на крафт-бумагу или клеенку, тщательно перемешивают, квартуют (сокращают) в 3-4 раза (почву разравнивают на бумаге в виде квадрата, делят на четыре части, две противоположные части отбрасывают, две оставшиеся части перемешивают). Оставшуюся после квартования почву делят на 6-9 квадратов, из центра которых отбирают примерно одинаковое количество почвы, обеспечивая захват всей толщины слоя, в банки из стекла с герметичной крышкой. Таким образом, получают объединенную пробу, масса которой приблизительно 2 кг (1 кг на анализ и 1 кг для хранения дубликата). При отборе проб почвы составляют протокол по утвержденной форме (см. Приложение 1). На банку, контейнер наклеивают несмываемую водой этикетку с указанием номера пробы, места, даты и времени ее отбора.

Транспортируют пробы при температуре окружающего воздуха от +4 °С до +28 °С.

Пробы, которые поступают в лабораторию, регистрируют в журнале учета с обязательным указанием числа емкостей и номера протокола отбора проб для каждой пробы.

Пробы почв анализируют не позднее 12 ч от момента отбора. При невозможности обеспечения данного условия, объединенные пробы в естественно-

влажном состоянии хранят в холодильнике (в банках с притертой или плотно завинченной крышкой) не более одной недели при температуре от +2 °С до +4 °С. Пробы почв не консервируют.

Для проведения контрольных измерений токсичности фоновых образцов почвы проводят отбор почвы на фоновых (незагрязненных) участках обследуемых областей.

При отборе проб почвы для приготовления фоновых образцов используют типичные для данного региона почвы, характерные по агрохимическим свойствам.

7.2.4. Приготовление водной вытяжки из почв

Приготовление водной вытяжки из почв производится согласно рекомендациям «Методики определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей»; ФР.1.39.2007.03223. В лаборатории отобранные на токсикологический анализ почвы сначала разрыхляют вручную металлическим шпателем и освобождают от материала, заведомо относящегося к инородным (случайным) механическим включениям (возможные промышленные, строительные, бытовые отходы и т.п.), а также галечника, обломков камней, корневищ, веток. Решение об изъятии таких включений из подготавливаемой пробы принимают на основе изучения полевого описания конкретного места ее отбора; эти сведения должны являться обязательной частью сопроводительной документации к пробам, направленным на токсикологический анализ.

Перед биотестированием пробы доводят до воздушно-сухого состояния, просеивают сквозь сито с размером ячей 1 мм. Для этого пробу подсушивают в вытяжном шкафу или в хорошо проветриваемом помещении, размещая ее (в зависимости от массы и естественной влажности) в стеклянных кристаллизаторах подходящей вместимости, на стекле или на чистых листах плотной бумаги.

Размещенные таким образом пробы почвы выдерживают открытыми не менее 2-х часов при комнатной температуре и влажности воздуха (ГОСТ 5180-84 "Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик"). Подготовленную пробу распределяют на ровной поверхности слоем толщиной не более 1 см и отбирают ложкой или шпателем из 5-ти точек методом конверта. Не допускается предназначенные для исследования на токсичность пробы почв подвергать тепловой обработке, поэтому гигроскопическая влажность почвы определяется в отдельном образце.

Проба с массой приблизительно 200 г делится на две равные части: для биотестирования и для определения гигроскопической влажности после высушивания до постоянной массы, что необходимо для пересчета воздушно-сухой пробы на массу абсолютно-сухой по формуле:

$$\Delta M_{возд.сух.} = \frac{\Delta M_{абс.сух.}}{K_{гг}},$$

где $\Delta M_{абс.сух}$ - масса абсолютно-сухого образца, г; $\Delta M_{возд.сух.}$ - масса воздушно-сухого образца почвы, г; $K_{ср}$ - коэффициент пересчета массы воздушно-сухой пробы на массу абсолютно-сухой (среднее расчетное значение из трех измерений).

Для определения массовой доли почвы в воздушно-сухой пробе необходимо:

1. Взвесить три пустых высушенных бюкса с крышками и зафиксировать их массы (M_o), затем взвесить эти же бюксы с навесками воздушно-сухой пробы (около 1 г) и зафиксировать их массы ($M_{возд.сух.i}$).

2. Установить открытые бюксы с воздушно-сухими пробами в сушильный шкаф. Пробы выдержать в сушильном шкафу в течение 3 ч при температуре от 105 до 115 °С. Закрыть бюксы притертыми крышками, перенести их в эксикатор и выдержать там до полного остывания (около 40 мин). Взвесить бюксы с навесками абсолютно-сухой пробы и зафиксировать их массы ($M_{абс.сух.i}$). После взвешивания пробы почвы следует повторно высушить в течение 2 ч, затем охладить в эксикаторе и снова взвесить. После первого и второго высушивания допустимое расхождение в массе не должно превышать 0,005 г. В противном случае высушивание следует повторить. Точность взвешивания для всех экспериментов должна составлять 0,001 г.

3. Рассчитать значения коэффициента пересчета K_i для каждого эксперимента по формуле:

$$K_i = \frac{M_{абс.сух.i} - M_{oi}}{M_{возд\ сух.i} - M_{oi}},$$

где K_i - коэффициент пересчета в i-том измерении; $M_{абс.сух.i}$ - масса бюксы с абсолютно-сухим образцом в i-м измерении, г; $M_{возд\ сух.i}$ - масса бюксы с воздушно-сухим образцом в i-м измерении, г; M_{oi} - масса пустой бюксы в i-м измерении, г.

4. Так как по результатам измерений получено три значения коэффициента, производят расчет его среднего значения ($K_{ср.}$) по формуле:

$$K_{ср.} = \frac{K_1 + K_2 + K_3}{3}.$$

Далее, среди трех величин K_i рассчитывают размах (R) полученных значений с учетом максимальной (K_{max}) и минимальной (K_{min}) величин по формуле:

$$R = \frac{K_{max} - K_{min}}{K_{ср}} \cdot 100\%.$$

Если полученное значение $R > 10$ %, то эксперимент повторяют, устранив причину неудовлетворительных результатов.

Водную вытяжку из почвы для биотестирования готовят в соотношении: 1 часть почвы (с учетом гигроскопической влажности) и 4 частей дистиллированной воды (pH 7,0-7,5). Вода не должна содержать CO_2, так как в его присутствии растворяются карбонаты кальция и магния по причине образования растворимых бикарбонатов, которые увеличивают сухой остаток и общую щелочность водной вытяжки и тем самым искажают результаты биотестирования. Для уда-

ления углекислого газа из дистиллированной воды ее предварительно кипятят 30 мин, а затем охлаждают и аэрируют.

Для приготовления водной вытяжки из почвы взвешивают 100–200 г пробы почвы в воздушно-сухом состоянии, пересчитав ее массу на массу абсолютно-сухой. Масса пробы на стадии перед приготовлением водной вытяжки должна быть достаточной для получения необходимого объема экстракта при проведении биотестирования во всех предполагаемых разведениях с учетом контрольных испытаний. Навеску почвы помещают в колбу емкостью 1000 $см^3$ и приливают 4-кратное количество дистиллированной воды.

Далее на аппарате для встряхивания жидкости полученную смесь в течение 2-х часов встряхивают, после чего отстаивают в течение 30 мин. Надосадочная жидкость сифонируется, а затем профильтровывается через бумажные обеззоленные фильтры «белая лента» или через мембранные фильтры с диаметром пор 3,5 мкм (фильтры предварительно промывают и кипятят в дистиллированной воде не менее 10 мин). Бумажный фильтр помещают в воронку Бюхнера диаметром 15-20 см.

Перед тем как вылить вытяжку на фильтр, содержимое склянки или колбы встряхивают, чтобы взмутить присутствующие взвешенные частицы почвы. На фильтр стараются перенести всю взвесь. При выливании струю суспензии направляют на боковую двойную стенку бумажного фильтра, но не на дно фильтра, так как при выливании на дно бумага может легко порваться. Фильтрация осуществляется с помощью вакуумного водяного или электрического насоса. Для фильтрации применяется слабый вакуум (не более 20 мм рт. ст.). Первые порции фильтрата часто бывают мутными и их несколько раз фильтруют до прозрачного раствора.

В процессе подготовки проб водной вытяжки к биотестированию для их осветления и освобождения от взвешенных частиц можно применять центрифугирование (10 минут при 4000 - 4500 обор/мин).

При повышенной мутности водной вытяжки из почв (гумусированные, дерново-подзолистые, торфяные, лесная подстилка и др. почвы) допускается отстаивание в холодильнике до 5 суток.

При устойчивом появлении окраски и повышенной мутности водной вытяжки, получаемой из некоторых типов почв (например, гумусированные, дерново-подзолистые, торфяные и др. почвы) водную вытяжку из них готовят в соотношении: 1 часть почвы (с учетом гигроскопической влажности) и 10 частей дистиллированной воды.

Вытяжка из почв должна иметь величину pH в диапазоне 7,0-8,5. При необходимости вытяжку перед серийным разбавлением предварительно нейтрализуют. После нейтрализации пробы аэрируют 10-20 мин для стабилизации pH. Непосредственно перед началом биотестирования пробы доводят до температуры в диапазоне от +18 °С до +25 °С.

Приготовление разведений водной вытяжки для биотестирования проводят по п. 7.3.

7.2.5. Отбор; транспортировка и хранение проб осадков сточных вод, отходов

Методы отбора, транспортировки, хранения, подготовки к выполнению биотестирования должны обеспечить неизменность состава проб осадков, отходов в интервале времени между отбором и их анализом.

Отбор проб осадков сточных вод на песковых, шламовых, иловых площадках производится согласно рекомендациям «Методики определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей» (ФР.1.39.2007.03223).

Если осадок на площадке представлен однородной массой, площадку разделяют на 4 равные части. Отбирают 4 пробы из центра каждого квадрата лопатой послойно с глубины 0-5 см, 5-10 см и до конечной глубины площадки (до песка или бетонного покрытия) не менее 1000 г каждой пробы.

Если осадок на площадке находится в твердом и жидком состоянии, отбор осуществляют из разных участков, разделяя их на квадраты и отбирая из центра каждого квадрата твердые осадки, как описано ранее, а жидкие - пробоотборником с разной глубины заполненной жидкими осадками площадки из 3 горизонтов: с поверхности, середины и со дна заполнения. Жидкие и твердые осадки отбирают в разные емкости.

Жидких осадков отбирают 1 дм^3 (0,5 дм^3 для анализа и 0,5 дм^3 для хранения дубликата).

Пробы твердых осадков тщательно перемешивают и 3-4 раза квартуют как указано для почв. Вес объединенной пробы должен быть 1 кг (0,5 кг для анализа и 0,5 кг для хранения дубликата).

Пробы осадков сточных вод не подлежат консервированию.

Пробы осадков сточных вод, поступившие в лабораторию на исследование, должны быть документально оформлены и маркированы. Необходимыми сопроводительными документами являются бланк описания осадка и протокол пробоотбора (см. Приложение 1).

Пробы, поступающие в лабораторию для исследования на токсичность, регистрируют в журнале учета с обязательным указанием числа емкостей и номера протокола отбора проб для каждой пробы.

Хранят пробу в холодильнике не более одной недели в стеклянной банке с притертой или плотно завинченной крышкой.

Пробоотбор отходов может быть связан с отбором следующих групп отходов, классифицируемых: а) по типу образования: отходы производства (промышленные/производственные отходы - ПО), отходы потребления (твердые бытовые отходы - ТБО), смешанные отходы (смесь ПО и ТБО); б) по агрегатному состоянию: твердые (пылеобразные, порошкообразные, зернистые, шлаки, гранулированные, кусковые), пасто-, смоло- и студнеобразные (текучие, пластичные, вязкие), полужидкие (шламообразные), эмульсии, суспензии, пульпы жидкие; в) по степени однородности: гомогенные и гетерогенные.

Время взятия и периодичность пробоотбора отходов имеет существенное значение для производств, использующих сырье переменного состава или перешедших на иной вид сырья, изменяющих технологический режим процесса или его технологическую (конструкционную) схему, а также для органических ПО и ТБО. При осуществлении производственного экологического контроля за отходами частота отбора проб определяется планом-графиком, согласованным с территориальными органами государственного контроля.

Отбор проб ПО производят не реже 1 раза в год при условии неизменности технологического процесса и используемого сырья, а также в любое другое время для осуществления контрольных проверок возможных технологических сбоев. При переходе на иные сырьевые ресурсы или при изменении технологии вновь образующиеся отходы нуждаются в установлении нового класса токсичности (опасности) по результатам нового пробоотбора.

Отбор проб ТБО, а также отходов, образующихся при их сжигании (инсинерации, пиролизе) и компостировании, необходимо проводить на предприятии не реже 4 раз в год (1 раз в квартал).

Для определения морфологического состава ТБО и отбора проб необходимо:

- выявить компоненты, входящие в состав ТБО;
- определить процентное содержание каждого компонента в общей массе отхода;
- произвести отбор проб для лабораторных исследований (проба должна полностью отражать морфологический состав образующегося отхода).

При установлении морфологического состава отхода ТБО следует учитывать компоненты, образующиеся в результате потребления, но не являющиеся специфичными для данного предприятия (не образующиеся в результате технологического процесса).

Определение морфологического состава ТБО, образующегося в результате деятельности предприятия, можно осуществлять по двум схемам:

а) в случаях, если предприятие имеет собственный контейнер для ТБО определение морфологического состава пробы производится непосредственно из контейнера. Для этого контейнер с отходами переворачивают, высыпают содержимое и производят сортировку на отдельные компоненты.

Примерный перечень компонентов, входящих в ТБО: бумага, картон; пищевые отходы; дерево; пластмасса; стекло; черный металл; цветной металл; текстиль; кожа, резина; камни, штукатурка; прочее;

б) в случаях, если предприятие не имеет собственного контейнера для ТБО, можно организовать временный (не менее 5 рабочих дней) раздельный сбор отхода по отдельным компонентам или накопление общей массы отхода с последующей сортировкой. В первом случае необходимо предусмотреть для каждого компонента индивидуальное место (тару) сбора и хранения.

Массу каждого выявленного компонента взвешивают на весах, а затем определяют его процентное содержание в общей массе отхода.

Процедуру определения морфологического состава проводят работники предприятия. Данные о морфологическом составе отхода и этапы его определения оформляют на фирменном бланке предприятия с указанием лиц, проводивших сортировку отхода, и подписью ответственного исполнителя.

Отбор проб для лабораторных исследований проводят следующим образом: из массы каждого компонента отхода отбирают некоторый объем всевозможных составляющих этого компонента, упаковывают в отдельный пакет и снабжают этикеткой.

Объем проб каждого компонента должен быть не менее 500 г, если его доля в общей массе отхода составляет более 30 %; не менее 300 г, если доля компонента составляет более 10 %; не менее 100 г, если доля компонента в общей массе отхода — менее 10 %.

Пробы должны поступить в лабораторию с сопроводительной документацией не более чем через 12 ч после отбора.

Отбор проб ПО может осуществляться периодически и непрерывно. Выбираемый способ пробоотбора зависит от количества образующегося отхода в единицу времени (за один производственный цикл, сутки, год), аппаратурного оформления технологического процесса, методов сбора и накопления отхода, предполагаемой токсичности (на основании сопоставления с изученными отходами аналогичных производств).

При периодическом пробоотборе объединенную пробу отбирают из нескольких точечных проб, отобранных в одно и то же время из одного и того же источника образования или накопления отходов (из бункера, хвостохранилища, ковша, шламонакопителя, отвала, свалки, карьера и др.). Единичные пробы отбирают в местах хранения или захоронения отходов по равномерной сети опробования.

Отбор проб производят из горных выработок (расчисток, закопушек, канав, шурфов) или скважин, пройденных с помощью буровых станков, установок или приспособлений различных конструкций. Кроме того, в местах хранения отходов, являющихся источником образования пыли, проводят измерения загрязнения воздушной среды.

В зависимости от целей исследования различают периодический пространственный, периодический глубинный и периодический смешанный пробоотбор. При периодическом пробоотборе, как правило, имеют дело с большим исходным объемом отхода (более 1 т).

Для осуществления пространственного пробоотбора намечают пробную площадку в виде квадрата со сторонами не менее 10 м. Затем отбирают с поверхности по схеме конверта 5 единичных проб (ГОСТ 17.4.4.02-84). На каждые 20 га накопителя (хранилища, свалки) закладывают не менее одной пробной площадки. Если территория накопителя составляет менее 0,5 га, размер пробной площадки должен быть не менее 5×5 м. Из единичных проб, отобранных с одной пробной площадки, приготавливают одну объединенную промежуточную пробу. Смесь объединенных промежуточных проб образует объединенную пробу, направляемую на исследование.

Осуществляя глубинный пробоотбор, руководствуются ориентировочной глубиной хранилища и количеством одноразово загружаемых в него отходов.

Смешанный пробоотбор заключается в отборе проб из кучи. При отборе проб из кучи отбирают одну единичную пробу с ее вершины (если это возможно осуществить), не менее четырех единичных проб из равноудаленных друг от друга точек основания кучи и произвольное количество точечных проб с ее боковой поверхности. Общее число проб, отбираемое из кучи высотой до 2 м, должно быть не менее 9. При увеличении высоты кучи на 1 м минимально необходимое число проб увеличивается на 4.

При непрерывном пробоотборе объединенная проба отхода образуется из нескольких (не менее 2-х) единичных проб, отобранных в одном и том же месте через одинаковые промежутки времени (час, сутки, месяц).

Количество отбираемых отходов может выражаться в единицах массы (грамм, килограмм) или в единицах объема (литры). Единицы массы используют для характеристики количества твердых сыпучих отходов. Единицы объема наиболее применимы для выражения количеств жидких и полужидких отходов. Количество пастообразных отходов может быть охарактеризовано как единицами массы, так и единицами объема.

Количество и необходимый объем отбираемой пробы отхода зависит от его агрегатного состояния, влажности, степени однородности и его зернистости (для сыпучих отходов).

Объединенная проба отхода может быть приготовлена из N-го количества единичных проб или из N-го количества объединенных промежуточных проб (в случае закладки нескольких пробных площадок на территории протяженных хранилищ). Недопустимо образование объединенной пробы одновременно из единичных и объединенных промежуточных проб.

Объединенная проба отхода может быть приготовлена по принципу средневзвешенности или среднепропорциональности.

По принципу средневзвешенности объединенная проба отхода образуется путем смешения одинакового массового количества вещества. Обычно так поступают, имея дело с сыпучими твердыми и пастообразными отходами с влажностью от 30 % до 70 %.

По принципу среднепропорциональности объединенная проба приготавливается из одинаковых объемов отходов. Наиболее часто таким образом готовят пробу полужидких отходов и паст с высокой влажностью (> 70 %).

Отбор единичных проб проводят по равномерной сетке, размер которой выбирают в соответствии с нормативными документами, действующими на предприятии, на котором образуется отход, или определяется необходимым числом единичных проб. Число единичных проб рассчитывается, исходя из степени изменчивости нормируемых компонентов в данных отходах и заданной погрешности их определения.

Чтобы отобрать представительную единичную пробу, необходимо знать объем разового образования отходов на предприятии. Например, если образуется 10 мешков отходов, то достаточно отобрать пробу в одном мешке, произ-

вольно выбрав его из 10 мешков, если отходы однородны. Но иногда требуется подтвердить эту однородность и отобрать пробу из нескольких мешков одной партии, т.е. для подтверждения представительности выбранных точек пробоотбора производят выборочное обследование точек пробоотбора.

Единичные пробы отходов перед объединением тщательно гомогенизируют. Обращаясь с твердыми сыпучими и пастообразными отходами, используют металлические шпатели. Полужидкие отходы гомогенизируют встряхиванием.

Для механизированной проходки скважин применяют буровые станки и установки различных способов бурения (вращательного, ударно-канатного, пневмоударного, шнекового) и самых различных конструкций, обеспечивающих представительный отбор проб. Шурфы проходят вручную и механизированным способом. Для ручной проходки скважин применяют буры и щупы различных конструкций.

Отбор сыпучих отходов из тары (вагон, кузов автомобиля, контейнер и др.) производят с помощью щупа. Отбор единичных проб производят погружением щупа в опробуемую массу до середины или на всю высоту тары.

Массу единичных проб устанавливают в зависимости от состава отбираемого отхода и размера максимальных частиц (кусков). Расхождение по массе отдельных единичных проб не должно превышать 20 %.

Отобранные единичные пробы соединяют в объединенную пробу или сразу после пробоотбора, или после отдельной их подготовки до определенного этапа квартования, а затем объединяют в нужных пропорциях.

Сокращение пробы в зависимости от исходной массы объединенной пробы и размера частиц (кусков) проводят строго по выбранной схеме сокращения. Для сокращения объединенной пробы применяют метод квартования с предварительным сбрасыванием на конус. Объединенная проба отхода (при отсутствии специальных требований) должна составлять не менее 5 кг (2,5 кг для анализа и 2,5 кг для хранения дубликата).

Пробы отходов не подлежат консервированию, хранятся в холодильнике (в банках с притертой или плотно закрытой крышкой) не более одной недели.

Пробы отходов, поступившие в лабораторию на исследование, должны быть документально оформлены и маркированы. Необходимыми сопроводительными документами являются бланк описания отхода и протокол пробоотбора (см. Приложение 1). Маркировка отходов осуществляется в произвольной форме, но с обязательным занесением обозначений в лабораторный журнал.

При проведении отбора проб отходов должны соблюдаться меры, исключающие загрязнение окружающей среды от применения бурового оборудования. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88. При подготовке проб должны соблюдаться меры, исключающие запыление окружающей среды и правила захоронения (складирования) материала пробы, полученного в результате сокращения объединенной пробы.

7.2.6. Приготовление водной вытяжки из осадков сточных вод, отходов

Водная вытяжка из осадков сточных вод и отходов готовится из соотношения «твердая фаза : жидкость», равным 1 : 10 в соответствии с «Методикой определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей» ФР.1.39.2007.03223.

В качестве жидкости используется дистиллированная вода с pH 7,0-7,5.

Твердые отходы и осадки сточных вод. Пробу тщательно перемешивают перекатыванием на гладкой, гибкой и плотной подстилке, затем пользуются совком. Для пробоподготовки пробы требуется 2,5 кг отходов, пробы осадков сточных вод - 1 кг. Общий объем отобранной пробы (5 кг отходов или 2 кг осадков) делят на представительные половины, одну из частей возвращают в сосуд для хранения, оставшуюся часть разрыхляют и тщательно просматривают. В случае обнаружения частиц более 10 мм, их осторожно измельчают с помощью металлического шпателя до размера менее 10 мм. Недопустимо механически размалывать смесь. Затем пробу высушивают до воздушно-сухого состояния, как указано в п. 7.2.4. При плохом высыхании отхода экспозицию высушивания увеличивают до 24 часов.

После этого пробу сокращают 3-4 раза методом квадратирования. Тщательно перемешанную пробу разравнивают на гладкой ровной поверхности на крафт-бумаге, клеенке или полиэтиленовой пленке и с помощью линейки или специальной решетки делят на равные квадраты. Затем из квадратов в шахматном порядке отбирают порции, обеспечивая захват всей толщины слоя, и объединяя порции в пробу с минимальной абсолютно-сухой массой 200 г представительной пробы, которую делят на две части и используют для биотестирования и определения влажности.

Влажность осадков и отходов определяют по п. 7.2.4. Измеренную характеристику влажности используют для расчета массы воздушно-сухой пробы, предназначенной для приготовления водной вытяжки. Обычно используют 120-200 г воздушно-сухой массы пробы. После выщелачивания 100 г абсолютно-сухой массы пробы будет получено приблизительно 900 см водной вытяжки. Учитывая это, рассчитывают общее необходимое минимальное количество отбираемой порции с учетом процедуры сокращения пробы. Масса пробы на стадии перед приготовлением водной вытяжки должна быть достаточной для получения необходимого объема экстракта для проведения биотестирования во всех предполагаемых разведениях. Пробу осадков, отходов в воздушно-сухом состоянии взвешивают так, чтобы абсолютно-сухая масса была (100±1) г. Записывают массу и содержание влаги и помещают в сосуд для выщелачивания.

Шламы. Шламы с большим содержанием твердой фазы, не разделяющиеся самостоятельно, обрабатывают так же, как твердые отходы. Отдельно

определяют содержание влаги. Массу шлама, эквивалентную (100±1) г абсолютно-сухой массы, используют для приготовления водной вытяжки.

Шламы с большим содержанием жидкости (влажность более 70 %) обрабатывают следующим образом. Жидкость фильтруют через вакуумный фильтр (0,45 мкм) и собирают 300 г влажно-твердого материала. Если такого количества пробы недостаточно для получения 200 г абсолютно-сухого вещества, собирают столько, сколько необходимо. Пробы высушивают до воздушно-сухого состояния по п. 7.2.4. При плохом высушивании экспозицию увеличивают до 24ч.

Пробу делят на две части, в одной определяют содержание влаги, а другую часть, составляющую (100±1) г абсолютно-сухой массы, переносят в сосуд для выщелачивания. В рабочем журнале регистрируют массу остатка и содержание влаги в нем. Твердые шламы выщелачивают дистиллированной водой с pH 7,0-7,5 в пропорции 1:10.

Жидкие отходы. Отходы и осадки сточных вод, жидкие и содержащие менее 1 % взвешенного материала, не подвергают выщелачиванию, а испытывают прямо на экотоксичность методами биотестирования после фильтрации через фильтр «белая лента» или центрифугирования.

Выполнение процедуры подготовки экстракта выщелачивания. В сосуд для выщелачивания, где находится взвешенная воздушно-сухая масса отхода или осадка сточных вод с абсолютно-сухой массой (100±1) г, добавляют дистиллированную воду. Воду добавляют в сосуд для выщелачивания в соотношении «сухая масса : жидкость» 1 : 10. Обычно это 1000 $см^3$ воды на 100 г абсолютно-сухой массы. Если используют меньшее количество пробы, то уменьшают количество дистиллированной воды. Нельзя использовать для выщелачивания менее, чем 20 г твердого вещества и 200 $см^3$ воды. Объемы воды более 10 $см^3$ измеряют мерным цилиндром, объемы меньше 10 $см^3$ - мерной пипеткой.

Смесь слабо перемешивают на мешалке в течение 7-8 часов таким образом, чтобы твердое вещество находилось во взвешенном состоянии. Недопустимо измельчение частиц отходов или осадков при перемешивании. Используют большую лопасть механической мешалки или магнитной мешалки, а скорость перемешивания должна быть наименьшей, при которой материал поддерживается во взвешенном состоянии (не более 70 об./мин). После окончания перемешивания раствор с осадком оставляют на ночь (12-18 ч) для отстаивания. Затем жидкость над осадком сифонируют.

Если после отстаивания жидкость становится прозрачной, фильтрование не требуется; если же имеется какой-либо видимый взвешенный материал, то жидкость фильтруют. В случае применения фильтрования это отмечают в рабочем журнале. Фильтрацию осуществляют через фильтр «белая лента» на воронке Бюхнера. Для фильтрации применяют слабый вакуум (не более 20 мм рт. ст.) с помощью водяного или электрического насоса такой же мощности. Вакуум выключают немедленно после прохождения всей жидкости через фильтр во избежание дегазации фильтрата. Для осветления водной вытяжки и освобождения ее от взвешенных частиц можно применять центрифугирование (10 мин при

4000-4500 обор/мин). В исключительных случаях при повышенной мутности водной вытяжки из отхода после фильтрации допускается ее отстаивание в холодильнике до 5 суток. Затем жидкость над осадком сифонируют.

Полученный экстракт выщелачивания исследуют на токсичность. Процедуру биотестирования начинают не позднее, чем через 6 ч после приготовления вытяжки из осадка, отхода. Если это невозможно, допускается хранение экстракта в холодильнике не более 48 ч при температуре 4 °С.

Перед биотестированием измеряют pH, температуру в полученном экстракте. Водная вытяжка из осадков сточных вод или отходов должна иметь pH = 7,0-8,5. При необходимости пробы нейтрализуют. После нейтрализации пробы аэрируют 10-20 мин для стабилизации pH.

Регулирование pH не должно вызывать химической реакции с веществами, присутствующими в пробе (выпадение осадка, комплексообразование), и не должно более, чем на 5 % изменять концентрацию исследуемой пробы.

При необходимости уточнения результатов биотестирования по влиянию фактора pH на усиление токсичности водных вытяжек из отходов, когда установлено, что их pH выходит за пределы диапазона 7,0-8,5, эксперимент расширяют и определяют токсичность исследуемых проб после нейтрализации и без нейтрализации.

В протоколе биотестирования указывают токсичность проб после нейтрализации и без нейтрализации. Заключение о токсичности водной вытяжки из отходов дается (и устанавливается класс опасности отхода) по пробе водной вытяжки без нейтрализации. Данные о токсичности проб после нейтрализации указываются в протоколе для принятия решения о необходимости нейтрализации отхода при его размещении в объектах окружающей среды и возможности перевода отхода в менее опасный класс после его нейтрализации, если для данного вида отхода это технически осуществимо.

Перед биотестированием температуру пробы доводят до температуры в диапазоне от +18 °С до +25 °С. Данные регистрируют в журнале. Приготовление разведений водной вытяжки для биотестирования проводят по п. 7.3.

Если осадки сточных вод или отходы были разделены на жидкую и твердую фракции, то результаты исследования жидкой фракции и экстракта выщелачивания из твердой фракции указывают в отчете отдельно. Если одна из этих частей была признана экотоксичной, экотоксичным признают весь отход.

При выявлении разной токсичности в пробах жидких и твердых осадков, отобранных с одной иловой площадки, решение принимается по пробе, вызывающей проявление максимальной токсичности.

7.2.7. Приготовление разбавлений исследуемых вод и водных вытяжек для биотестирования

Для приготовления разбавлений исследуемых вод используется дистиллированная вода. Предварительно перед приготовлением необходимых разбавлений вод для исследования подготавливают соответствующей емкости посуду, в которой будут готовить растворы. Объем используемой посуды должен на 1/3

превышать необходимый объем приготавливаемого разбавления исследуемых вод.

Перед приготовлением разбавлений нужно подготовить, по возможности, два одинаковых сосуда: один для разбавления, а другой для хранения раствора (может случиться, что в ближайшие часы процедуру биотестирования необходимо будет повторить). Как во время приготовления разбавлений, так и при их хранении бутыли или другая посуда обязательно должны быть закрыты предварительно подобранными пробками и снабжены надписями о приготовленной концентрации исследуемых вод. Приготовление растворов, разбавлений, проведение биотестирования выполняются при комнатной температуре. Температура дистиллированной и исследуемой воды должна быть также доведена до комнатной температуры перед приготовлением разбавлений.

Поверхностные, пресные, грунтовые и сточные воды анализируются в 100, 33, 11, 3,7 и 1,2%-ной концентрациях (ряд разбавлений, кратных трем). После получения предварительных результатов биотестирования при необходимости готовятся и анализируются дополнительные разбавления. В процессе приготовления разбавлений пробы тщательно перемешивают.

При выполнении практического биотестирования используют, в основном, два наиболее важных показателя, характеризующих содержание исследуемой воды в разбавленном дистиллированной водой растворе: во сколько раз исследуемая вода разбавлена и каково ее процентное содержание в разбавлении. Данные показатели заносят в рабочий журнал.

Подготовленная к биотестированию вода в объеме 100 $см^3$ переносится в стеклянный стакан емкостью 100-200 $см^3$. Для получения ряда разбавлений анализируемой пробы, кратным трем, в четыре аналогичных стакана добавляется по 48 $см^3$ дистиллированной воды. После этого в первый из них переносится 24 $см^3$ тестируемой воды, во второй, третий и четвертый – по 24 $см^3$ из первого, второго и третьего стаканов, соответственно, вода объемом 24 $см^3$ из последнего стакана отбрасывается. Наряду с разбавленной тестируемой водой в отдельные стаканы вносится 48 $см^3$ исходной воды для тестирования и 48 $см^3$ контрольной (дистиллированной) воды. Таким образом, получим 6 следующих вариантов тестируемой пробы воды объемом 48 $см^3$ каждая, включая контрольную пробу:

1. Исходная (не разбавленная) проба воды, 100%
2. Проба, разбавленная в 3 раза, 33%
3. Проба, разбавленная в 9 раз, 11%
4. Проба, разбавленная в 27 раз, 3,7%
5. Проба, разбавленная в 81 раз, 1,2%
6. Контрольная проба, 0%.

Если изначально известно, что сточные воды обладают гипертоксичностью, то проба предварительно разбавляется в 9 раз. После этого также готовится ряд ее разбавлений, кратных трем (9, 27, 81, 243, 729 раз).

При работе с водными вытяжками из отходов производства и потребления следует приготовить ряд разбавлений кратных 10-ти. Для этого подготов-

ленная к биотестированию вытяжка в объеме 100 см^3 переносится в стеклянный стакан емкостью 100-200 см^3. Для получения ряда разбавлений анализируемой пробы, кратных десяти, в четыре аналогичных стакана добавляется по 43 см^3 дистиллированной воды. После этого в первый из них переносится 5 см^3 водного экстракта, во второй, третий и четвертый – по 5 см^3 из первого, второго и третьего стаканов, соответственно, объем 5 см^3 из последнего стакана отбрасывается. Наряду с разбавленной тестируемой водой в отдельные стаканы вносится 48 см^3 исходной вытяжки для тестирования и 48 см^3 контрольной (дистиллированной) воды. Таким образом, получим 6 следующих вариантов тестируемых пробы объемом 48 см^3 каждая, включая контрольную пробу:

1. Исходная (не разбавленная) водная вытяжка, 100%
2. Вытяжка, разбавленная в 10 раза, 10%
3. Вытяжка, разбавленная в 100 раз, 1%
4. Вытяжка, разбавленная в 1000 раз, 0,1%
5. Вытяжка, разбавленная в 10000 раз, 0,01%
6. Контрольная вода.

7.2.8 Подготовка тест-культуры водоросли

Перед биотестированием культура водоросли Chlorella vulgaris, выращенная на 50% среде Тамия (см. Приложение 2) в культиваторе КВ-05, профильтровывается через 4 слоя марли или вату и разбавляется до оптической плотности 0,125±0,005 50% средой Тамия. Регистрация оптической плотности культуры тест-объекта проводится с помощью измерителя плотности суспензии ИПС-03. Он позволяет проводить регистрацию оптической плотности в круглых 2-см кюветах («пенициллинках»), в которых выращивается тест-культура водоросли при биотестировании токсичности воды. Конструктивные особенности данного прибора позволяют значительно снизить светорассеивающую составляющую ослабления света, что позволяет надежно регистрировать оптическую плотность суспензионных (мутных) сред, какой является культура клеток водоросли хлорелла.

Если накопительная культура, выращенная в культиваторе КВ-05, имеет большую плотность, то ее сначала следует разбавить 50% средой Тамия до указанного диапазона, а затем, разделив на величину 0,125, определить степень ее дальнейшего разбавления для получения культуры водоросли с требуемой для засева в тестируемую воду оптической плотностью (0,125±0,005).

Общий объем засеваемой суспензии водоросли данной плотности должен быть не менее 20 см^3 на каждый используемый в работе многокюветный культиватор КВМ-05. Если одновременно планируется проведение биотестирования нескольких проб воды, то количество культиваторов КВМ-05 должно соответствовать их числу, а объем тест-культуры водоросли необходимо увеличить кратно числу анализируемых проб воды.

8. ПРОВЕДЕНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Для биотестирования используют альгологически чистую культуру водорослей Chlorella vulgaris Beijer, находящуюся в экспоненциальной стадии роста (через одни сутки после пересева в культиватор КВ-05). Для поддержания экспоненциальной стадии роста водорослей пересев осуществляется ежедневно (см. Приложение 2).

Приготовленная согласно п. 7.2.8 тест-культура водоросли вносится по 2 $см^3$ в 6 стаканов с 48 $см^3$ контрольной и тестируемых проб воды или вытяжки из отходов. При этом в результате 25-кратного разбавления засеваемой культуры содержание элементов питания в тестируемой воде, необходимых для обеспечения роста клеток водоросли, будет соответствовать 2% среде Тамия, а исходная оптическая плотность тест-культуры водоросли будет равна 0,005.

Содержимое каждого стакана разливается по 6 $см^3$ во флаконы-реакторы (по 4 флакона на каждый вариант тестируемой воды, включая контрольную пробу). При работе с автоматической пипеткой с рабочим объемом 1-5 $см^3$ допустимо вносить во флаконы по 5,5 $см^3$ тестируемой воды.

Ростовые характеристики культуры водоросли хлорелла определяются в многокюветном культиваторе КВМ-05. Прибор позволяет в одинаковых и контролируемых условиях по температуре, интенсивности света, снабжению CO_2 (0,03%) и перемешиванию одновременно выращивать 24 пробы культуры водорослей. При оптимальном режиме (Т=36±0,5^0 С, средней интенсивности света 60 $Вт/м^2$) увеличение оптической плотности контрольной культуры водоросли и, следовательно, численности клеток за 22 часа составляет 25–35 раз ($D_{конечная}$ = 0,150±0,03). Таким образом, за это время действие загрязняющих веществ, содержащихся в пробах, проявится примерно в пяти поколениях клеток водоросли.

Все 24 заправленных флакона закрываются чистыми полиэтиленовыми пробками, в которых для обеспечения оптимального газообмена со средой и предотвращения излишнего испарения культуральной жидкости сделаны отверстия диаметром 6 мм. Перед использованием пробки необходимо залить кипящей водой, выдержать в ней 10 минут, а затем, слив воду, просушить фильтровальной бумагой. После этого флаконы с пробками строго по вариантам устанавливаются в предварительно включенный в сеть культиватор КВМ-05. Флаконы загружаются в приостановленную кассету по ходу ее вращения, т.е. против часовой стрелки. В конце первого часа эксперимента после стабилизации температуры во флаконах проверяется ее значение в контрольном варианте. Для этого термометр вводится через отверстие в пробке внутрь одного из контрольных флаконов. Чтобы точнее и быстрее произвести замер температуры необходимо сделать несколько помешивающих движений в измеряемой среде. Если температура оказалась ниже или выше рекомендованной (36±0,5^0 С), то прибор необходимо настроить на поддержание требуемой температуры с помощью регулятора. Измерение температуры надо проводить в одном и том же флаконе, не выключая сам культиватор.

9. ПОЛУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ ОБРАБОТКА

9.1. Снятие результатов токсикологического эксперимента

Через 22 часа культивирования выключить культиватор КВМ-05 из сети и провести измерение оптической плотности суспензии водоросли во всех флаконах. Для этого флаконы надо извлечь из культиватора и разместить в штативе. Затем, поочередно устанавливая флаконы в измеритель ИПС-03, провести замеры их оптической плотности. Эксперимент можно считать успешным, если величины оптической плотности в контрольных флаконах были не ниже 0,120. Если оптическая плотность тест-культуры в этих флаконах регулярно превышает величину 0,180, следует на 1-2 часа сократить время эксперимента.

О степени острого токсического воздействия тестируемой воды на водоросли судят по разнице величины оптической плотности тест-культуры в контрольных и опытных вариантах после 22 часов выращивания в культиваторе КВМ-05. С этой целью для каждого разведения по результатам четырех параллельных определений вычисляют среднее значение оптической плотности по формуле:

$$X=\sum X_i / n, \quad (9.1)$$

где X— среднее значение оптической плотности; X_i– значения оптической плотности в i-том параллельном определении; n – количество параллельных определений.

Если для одного из флаконов конкретного варианта опыта получено явно выпадающее значение оптической плотности (чаще всего из-за недостаточной чистоты флакона), то оно может быть отброшено, а средняя величина плотности определяется из трех оставшихся значений.

Рассчитывают относительную (в %) разницу величины оптической плотности для каждого разведения по сравнению с контролем (I):

$$I=(X_к - X_о) / X_к \times 100\ \%, \quad (9.2)$$

где $X_к$ и $X_о$ – средние значения оптической плотности в контроле и в опыте, соответственно.

Критерием токсичности пробы воды является снижение средней величины оптической плотности по сравнению с контрольным вариантом на 20% и более в случае подавления роста тест-культуры или ее повышение на 30% и более при стимуляции ростовых процессов.

9.2. Качество тестируемой воды устанавливается на основе ее токсикологических характеристик через величину токсичной кратности разбавления вод и водных вытяжек согласно табл. 3. Для этого из результатов биотестирования разведений пробы воды, кратных трем, выбирают то разбавление, для которого рассчитанный по формуле (9.2) индекс отклонения (I) превысил критерий токсичности воды. При этом процент отклонения в величине оптической плотности по сравнению с контролем, проявляющийся в виде подавления роста, приводятся со знаком (+), а его стимуляции - со знаком (–).

Если в ряду разбавлений имеются отклонения в оптической плотности как в ту, так и другую сторону, то качество воды устанавливается по наибольшей величине разбавления, для которой превышен критерий токсичности. Если критерий токсичности не превышен ни при одном разбавлении воды, включая ее исходный неразбавленный вариант, то проба считается нетоксичной.

Таблица 3

Токсикологические характеристики качества испытуемой воды

Величина разбавления тестируемой воды, при которой превышен критерий токсичности	Качество воды
1 (неразбавленная)	слаботоксичная
3	среднетоксичная
9	токсичная
27	сильнотоксичная
81	гипертоксичная

Пример №1: Значения отклонения в % от контроля средней величины оптической плотности тест-культуры водоросли для 1, 3, 9, 27 и 81-кратного разбавления тестируемой воды составили, соответственно: 83, 65, 37, 25 и 7. Тогда, руководствуясь табл. 2, качество воды определяется как «сильнотоксичная», поскольку критерий токсичности (20% подавление) превышен для 27-кратного разбавления.

Пример №2: Значения отклонения в % от контроля средней величины оптической плотности тест-культуры водоросли для 1, 3, 9, 27 и 81-кратного разбавления тестируемой воды составили, соответственно: 24, –5, –36, –22 и –8. Тогда, согласно табл. 2, качество воды определяется как «токсичная», поскольку критерий токсичности (30% стимуляция) превышен для 9-кратного разбавления.

*9.3. **Величина токсичной кратности разбавления (ТКР)*** вод и водных вытяжек, если превышен критерий токсичности в виде 20% подавление роста, рассчитывается по формуле:

$$ТКР=10^{\frac{(\lg Рб - \lg Рм) \times (Iм - 0{,}2)}{Iм - Iб} + \lg P_м}, \qquad (9.3)$$

Если превышен критерий токсичности в виде 30% стимулирования роста, то расчет ТКР проводится по формуле:

$$ТКР=10^{\frac{(\lg Рб - \lg Рм) \times (Iм - 0{,}3)}{Iм - Iб} + \lg P_м}, \qquad (9.4)$$

где Рб – величина разбавления (большая), при которой индекс отклонения был ниже критерия токсичности; Рм – величина разбавления (меньшая), при которой индекс отклонения был выше критерия токсичности; Iб и Iм – величины соответствующих этим разбавлениям индексов отклонения в росте, выраженных в долях.

В качестве $P_б$ и $P_м$ берется та пара наибольших разбавлений, между которыми имеет место переход индекса (9.2) величины установленного критерия токсичности.

Пример №3: Значения отклонения в долях от контроля средней величины оптической плотности тест-культуры водоросли для 1, 3, 9, 27 и 81-кратного разбавления тестируемой воды составили, соответственно: 0,83; 0,65; 0,37; 0,25; и 0,07 (см. пример №1). Анализ этих данных показывает, что переход через критерий токсичности в виде 20% подавления роста (в долях это 0,2) имеет место между разбавлениями тестируемой воды в 27 ($P_м$) и 81 ($P_б$) раз. Тогда, руководствуясь формулой (9.3), сначала рассчитывается показатель степени выражения, а затем величина ТКР:

$$\frac{(\lg 81-\lg 27)\times(0,25-0,2)}{0,25-0,07}+\lg 27=\frac{(1,91-1,43)\times 0,05}{0,18}+1,43=1,56$$

$ТКР = 10^{1,56} = 36$ раз

Пример №4: Значения отклонения в долях от контроля средней величины оптической плотности тест-культуры водоросли для 1, 3, 9, 27 и 81-кратного разбавления тестируемой воды составили, соответственно: 0,24; –0,05; –0,36; –0,22 и –0,08 (см. пример №2). В этом случае переход через критерий токсичности в виде 30% стимуляции роста (в долях это 0,3) имеет место между разбавлениями тестируемой воды в 9 ($P_м$) и 27 ($P_б$) раз. Тогда, руководствуясь уже формулой (9.4), рассчитывается степенной показатель выражения и величина ТКР:

$$\frac{(\lg 27-\lg 9)\times(0,36-0,3)}{0,36-0,22}+\lg 9=\frac{(1,43-0,95)\times 0,06}{0,14}+0,95=1,16$$

$ТКР = 10^{1,16} = 14$ раз

Аналогичным образом проводится расчет токсической кратности разбавления и для других кратностей разбавлений тестируемых природных и сточных вод.

При оценке токсичности водных вытяжек из отходов производства и потребления с целью установления класса опасности этих отходов следует руководствоваться критериями, установленными государственными нормативными документами.

10. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ МЕТОДИКИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

10.1. Контроль качества культуры водоросли хлорелла проводится один раз в квартал. Он осуществляется посредством определения ее чувствительности к «модельному» токсиканту - сульфату кадмия ($CdSO_4 \times 8/3\ H_2O$). Для этого в культиватор КВМ-05 вместо разбавлений тестируемой воды вносят растворы $CdSO_4 \times 8/3\ H_2O$ в концентрациях 0,03; 0,06; 0,12; 0,24; 0,48 мг/дм^3, что в расчете на ион кадмия составит 0,013; 0,026; 0,052; 0,104 и 0,208 мг/дм^3, соответственно. При хорошем состоянии культуры водоросли и правильно поставленном эксперименте после 22 часов культивирования 50% подавление приро-

та (снижение индекса отклонения (9,2) до 50%) должно наблюдаться в диапазоне концентраций сульфата кадмия 0,06-0,24 мг/дм^3 (в расчете на соль). При этом оптическая плотность культуры водоросли в контрольном варианте за этот период должна достигнуть величины 0,15±0,03. Этот же показатель может быть использован для текущего контроля состояния тест–культуры водоросли.

Определение диапазона реагирования тест-организма на эталонный токсикант проводится в соответствии с процедурой биотестирования, описанной в п. 8, в четырех повторностях для каждой концентрации токсиканта.

Если концентрация сульфата кадмия, вызвавшая острую токсичность, находится в интервале 0,06-0,24 мг/дм^3, то чувствительность культуры водоросли хлорелла соответствует необходимым требованиям, и она может быть использована для биотестирования.

Если концентрация модельного токсиканта, вызвавшая острую токсичность, не находится в данном интервале, то следует проверить точность приготовления исследуемых растворов, условия проведения опытов. Если ошибки при проведении опытов исключены, необходимо сменить культуру тест-организмов, т.е. взять новую культуру водорослей в учреждениях, где она имеется или осуществить пересев водорослей с соблюдением условий стерильности.

10.2. Обработка (вычисление) результатов измерений (определений)

За результат определения в пробе принимают среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать значения, рассчитанного по формуле (10.1):

$$\overline{X} = \frac{X_1 + X_2 + \ldots X_4}{4}$$

$$\left| X_{\max(4)} - X_{\min(4)} \right| \le r \cdot 0{,}01 \cdot \overline{X}, \quad (10.1)$$

где r – относительное значение предела повторяемости для четырех результатов параллельных определений, приведенное в табл. 2, в %.

При невыполнении условия (2) необходимо дополнительно получить еще четыре результата параллельных определений. Если при этом расхождение ($X_{max(4)} - X_{min(4)}$) результатов восьми параллельных определений равно или меньше критического диапазона $CR_{0,95(8)}$, то в качестве окончательного результата принимают среднее арифметическое значение результатов восьми параллельных определений, $\overline{X}(8)$. Значения критического диапазона для восьми результатов параллельных определений рассчитывают по формуле (3):

$$CR_{0,95}(8) = Q(0,95;\ 8) \cdot \sigma_r \cdot 0{,}01 \cdot \overline{X}(8), \quad (10.2)$$

где $Q(0,95)$ – коэффициент, зависящий от числа результатов единичных определений, полученных в условиях повторяемости и доверительной вероятности $P=0,95$; для восьми результатов параллельных определений $Q(0,95;\ 8) = 4,29$;

σ_r – значение показателя повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение результатов полученных, в условиях повторяемости), в %.

Если расхождение (X_{max} – X_{min}) больше $CR_{0,95(8)}$, то в качестве окончательного результата измерения может быть принята медиана упорядоченного ряда результатов восьми параллельных определений. Кроме того, целесообразно выяснить причины появления неприемлемых результатов параллельных определений и устранить их.

10.3. Оформление результатов измерений (определений)

Результаты определений регистрируют в протоколе испытаний, который оформляют в соответствии с ГОСТ Р ИСО МЭК 17025 – 2009.

Примечание – При необходимости (в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-6, раздел 5.2) для результата измерения $\overline{X}$ указывается количество параллельных определений и способ установления результата измерений.

10.4. Оценка приемлемости результатов, получаемых в условиях воспроизводимости

Расхождение между результатами измерений, полученными в двух лабораториях $|\overline{X}_1 - \overline{X}_2|$, не должно превышать величины, рассчитанной по формуле (10.3):

$$|\overline{X}_1 - \overline{X}_2| \le R \cdot 0{,}01 \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (10.3)$$

где $\overline{X}_1$, $\overline{X}_2$ – результаты измерений, полученные в условиях воспроизводимости; $\overline{\overline{X}}$ – среднее арифметическое значение результата измерений, полученных в условиях воспроизводимости; R – относительное значение предела воспроизводимости, приведенное в табл. 2, в %.

При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее значение. При невыполнении условия приемлемости результатов, полученных в условиях воспроизводимости, могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно разделу 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6 и МИ 2881.

10.5. Контроль качества результатов измерений (определений) при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает контроль стабильности результатов измерений (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности).

Оперативный контроль процедуры измерений проводят на основе контроля внутрилабораторной прецизионности.

Контроль внутрилабораторной прецизионности осуществляют путем сравнения результатов измерений определяемого компонента в пробе, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности. Расхождение между ре-

зультатами измерений $|\overline{X}_1 - \overline{X}_2|$ не должно превышать величины, рассчитанной по формуле (10.3):

$$|\overline{X}_1 - \overline{X}_2| \le R_\pi \cdot 0{,}01 \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (10.4)$$

где $\overline{X}_1$, $\overline{X}_2$ – результаты полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности, в %; $\overline{\overline{X}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности, в %; R_π – относительное значение предела внутрилабораторной прецизионности, в %.

Значение R_π может быть приведено в Протоколе установленных показателей качества результатов анализа при реализации методики выполнения измерений в лаборатории. При невыполнении условия (4) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (4) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам и устраняют их.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. - М.: Изд-во МГУ, 1970. - 488 с.

ГОСТ Р 51593-2000. Вода питьевая. Отбор проб.

ГОСТ Р 51592-00 "Вода. Общие требования к отбору проб".

ГОСТ 17.1.5.04-81 Охрана природы. Гидросфера. Приборы и устройства для отбора, первичной обработки и хранения проб природных вод. Общие технические условия.

ГОСТ 17.4.3.01-83 Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб.

ГОСТ 17.4.4.02-84 Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.

ГОСТ 12071-84 Грунты. Отбор, упаковка, транспортирование и хранение образцов.

ГОСТ 5180-84 Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик.

ГОСТ 2517-85 Нефть и нефтепродукты. Методы отбора проб.

ГОСТ 17.4.3.03-85 (СТ СЭВ 4469-84) Почвы. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ.

ГОСТ 26423-85 - ГОСТ 26428-85 Почвы. Методы определения катионно-анионного состава водной вытяжки.

ГОСТ 17.1.5.05-85 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков.

ГОСТ 27753.1-88 Грунты тепличные. Методы отбора проб.

ГОСТ 28168-89 Почвы. Отбор проб.

ГОСТ Р 8.563-2009 ГСИ Методики выполнения измерений.

ГОСТ Р 50.2.008-2001 ГСИ. Методики количественного химического анализа. Содержание и порядок проведения метрологической экспертизы.

Григорьев Ю.С.Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (Chlorella vulgaris Beijer) ПНД Ф Т 14,1:2:4,10-04 16,1:2,3:3,7-04 / Москва, 2004 (издание 2007).

Жмур Н.С., Орлова Т.Л. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. ФР.1.39.2007.03223. Москва, "Акварос" 2007, 44 стр.

МУ 2.1.7.730-99. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест. - Минздрав России, М., 1999.

Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. Учебно-методическое пособие. - М.: Изд-во МГУ, 1978. - 340 с.

Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. РЭФИА, НИА-Природа, Москва, 2002, 118 с.

Приложение 1
(рекомендуемое)

ФОРМА ПРОТОКОЛА ОТБОРА ПРОБ
ПРОТОКОЛ ОТБОРА ПРОБ № ___

1	Дата и время отбора			
2	Цель пробоотбора			
3	Место отбора (наименование точки отбора)			
4	Объект отбираемой пробы	Вода, почва, осадки сточных вод, отходы *(нужное подчеркнуть)*		
5	Вид пробы	Разовая, среднесуточная, точечная, объединенная *(нужное подчеркнуть)*		
6	Вид отбора пробы	Параллельный, последовательный *(нужное подчеркнуть)*		
7	Используемый пробоотборник	Стеклянный, эмалированный, нержавеющая сталь, бур почвенный, щуп, лопата *(нужное подчеркнуть)*		
8	Номер на емкости			
9	Материал емкости	полиэтилен, стекло, нержавеющая сталь *(нужное подчеркнуть)*		
10	Наличие и способ опломбирования емкости			
11	Проба отобрана для проведения анализа	На токсичность методом биотестирования		
12	Условия отбора	t,°C	pH	
Примечание				

Отбор проб проведен в присутствии _____ _____
подпись *расшифровка подписи*

Исполнитель _____ _____
подпись *расшифровка подписи*

Приложение 2

(обязательное)

Выращивание культуры водоросли хлорелла

Выращивание культуры водоросли производится в разработанном в КрасГУ культиваторе КВ-05. В качестве реактора используется прозрачная бутыль из бесцветного стекла емкостью 400 $см^3$, широко используемая в медицине при переливании препаратов. В реактор заливается суспензия водоросли в объеме 125±10 $см^3$. Для обеспечения углекислым газом емкость с суспензией непрерывно вращается вокруг своей продольной оси. Благодаря этому поддерживается близкое к равновесному содержание CO_2 в культуральной среде за счет активного растворения содержащейся в воздухе углекислоты.

В процессе культивирования суспензия водоросли облучается светом лампы накаливания 40 Вт, 220В, установленной в приборе над реактором. Постоянная температура среды, равная 36,0±0,5°С, поддерживается автоматическим включением и выключением встроенного вентилятора по команде блока термостабилизации прибора.

Питательная среда Тамия для культивирования водоросли хлорелла

Компоненты среды	Концентрация				
	100% среда Тамия, в г/$дм^3$	50% среда Тамия			2% среда Тамия
		в среде для культивирования, г/$дм^3$	концентрированные растворы для приготовления среды		в среде для биотестирования , г/$дм^3$
			готовить, в г на 200 $см^3$	добавлять на 1 $дм^3$, в $см^3$	
KNO_3	5,0	2,5	20	25	0,1
$MgSO_4 \times 7H_2O$	2,5	1,25	10	25	0,05
$KH_2PO_4 \times 3H_2O$	1,25	0,625	5	25	0,025
Железо лимоннокислое	0,003 (растворять при кипячении)	0,0015	0,6	0,5	0,00006 (60 мкг)
Микроэлементы	по 1,0 $см^3$ ра-ров А и Б		раствор А раствор Б	по 0,5 $см^3$ ра-ров А и Б	

Растворы А и Б готовятся отдельно, раствор А (H_3BO_3 – 2,86 г/$дм^3$; $MnCl_2 \times 4H_2O$ – 1,81 г/$дм^3$; $ZnSO_4 \times 5\ H_2O$ – 0,222 г/$дм^3$) и раствор Б (MoO_3 – 17,64 мг/$дм^3$; NH_4VO_3, – 22,96 мг/$дм^3$, растворять при нагревании). Затем отдельно стерилизуют каждый раствор 30 мин кипячением, охлаждают, плотно закрывают притертой пробкой и хранят в холодильнике при температуре от +2 до +4 °С до трех месяцев.

Культура водоросли выращивается на 50% питательной среде Тамия, состав которой представлен в таблице. Питательная среда и растворы всех солей готовятся на дистиллированной воде. Для избежания образования осадка навеску каждого вещества сначала растворяют в небольшом количестве воды (50-100

$см^3$), а затем растворы сливают вместе в указанной последовательности и доливают воду до объема 1 $дм^3$.

При систематическом потреблении культуры водоросли питательную среду удобнее готовить не из навесок солей, а из их концентрированных растворов (см. табл.). При приготовлении 1 $дм^3$ 50% питательной среды Тамия эти растворы последовательно вносятся в указанном объеме в 0,5 $дм^3$ дистиллированной воды. Затем добавляются заранее приготовленные растворы микроэлементов и лимоннокислого железа, а общий объем среды доводится дистиллированной водой до 1 $дм^3$. Растворы солей и микроэлементов, а также приготовленная питательная среда хранятся в холодильнике при 2-4 °С не более 3 месяцев.

Засев водоросли в культиватор КВ-05 производится с начальной оптической плотностью 0,010±0,002. Для этого в 100±5 $см^3$ 50 % питательной среды вносится 5±0,5 $см^3$ суспензия водоросли с оптической плотностью 0,200±0,010, профильтрованной через 3-4 слоя марли или вату. Культура выращивается в полустационарном режиме, который достигается ее ежедневным пересевом в свежую среду. При перерывах в работе свежевыращенную культуру водоросли можно хранить в холодильнике при температуре 2-4°С в течение 2-4 месяцев. При возобновлении работ по биотестированию хранящуюся культуру водоросли следует активировать одни сутки в культиваторе КВ-05, как указано выше.

Приложение 3

(рекомендуемое)

Регистрация результатов измерении оптической плотности тест-культуры водоросли хлорелла

Пример записи в рабочем журнале результатов измерений

№ пробы	Время биотестирования, в часах	Степень разбавления тестируемых вод, количество раз	№ повторности	Оптическая плотность	Среднее значение оптической плотности	Процентное отклонение от контроля	Оценка качества водной среды; оказывает (не оказывает) острое токсическое действие	Предел повторяемости для 4-х результатов параллельных измерений, n=4, в %
Контроль	22	0	1 2 3 4	0,152 0,140 0,161 0,147	0,150	0	-	14
1	22	1 (без разбавления)	1 2 3 4	0,091 0,082 0,096 0,080	0,087	42	оказывает	18
2	22	3	1 2 3 4	0,099 0,103 0,110 0,095	0,101	33	оказывает	15
3	22	9	1 2 3 4	0,110 0,120 0,121 0,119	0,117	22	оказывает	9
4	22	27	1 2 3 4	0,125 0,130 0,131 0,139	0,131	13	не оказывает	11
5	22	81	1 2 3 4	0,140 0,155 0,145 0,149	0,147	2	не оказывает	10

Приложение 4

(рекомендуемое)

ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТ-ОБЪЕКТА

В качестве тест-организма используется одноклеточная зеленая водоросль Chlorella vulgaris Beijer.

Отдел:	Chlorophyta
Класс:	Euchlorophyceae
Порядок:	Chlorococcales
Семейство:	Chlorellaceae
Подсемейство:	Chlorelloideae
Род:	Chlorella Beijer
Вид:	Chlorella vulgaris Beijer

Клетки водоросли шаровидные или эллиптические диаметром 2-10 мкм (иногда больше), с тонкой оболочкой без слизи, одним или двумя ядрами и одним чашеобразным хлоропластом. Размножение бесполое - автоспорами, образующимися в результате деления содержимого материнской клетки. Количество автоспор от 2 до 32 в зависимости от условий выращивания. Деление происходит, как правило, один раз в сутки, однако в условиях интенсивной культуры она способна и к более активному размножению (4-8 делений в сутки). Такой интенсивный рост обеспечивает термофильный штамм этой водоросли, для которого оптимальной температурой культивирования является 36,0 ± 0,5 °С.

В данных условиях регулярно пересеваемая культура водоросли хлорелла за счет опережающего рост ее клеток может на протяжении длительного времени сохраняться альгологически чистой без применения специальных приемов очистки и стерилизации.

Приложение 5

(рекомендуемое)

Ведение рабочего журнала

Форма записи результатов биотестирования в рабочем журнале

1	Дата, время отбора проб	10^{00} ч, 26 января 2012 г.
2	Наименование объекта	Городские очистные сооружения
3	Место отбора	После вторичных отстойников
4	Вид отобранной пробы (поверхностная пресная, грунтовая, питьевая, сточная, водная вытяжка из почв, донных отложений, отходов	Сточная вода
5	Время хранения пробы до начала биотестирования	4 ч
6	Используемые тест-организмы, возраст, условия выращивания	Chlorella vulgaris, суточная культура, выращенная в культиваторе КВ-05 на 50% среде Тамия
7	Место биотестирование и условия	Многокюветный культиватор водорослей КВМ-05, температура 36±0,3 °С, начальная оптическая плотность тест-культуры водорослей 0,005
8	Питательная среда для выращивания тест-культуры водоросли при биотестировании	2% среда Тамия, pH = 7,0-8,5
9	Продолжительность биотестирования	22 часа
10	Метод биотестирования	Измерение оптической плотности тест-культуры водоросли после выращивания на контрольной и опытной воде
11	Повторности для каждой концентрации	4
12	Исследуемые концентрации сточных вод	100; 33; 11; 3,7; 1,2 %
13	Соответствующая степень разбавления сточных вод	Разбавления в 1 (без разбавления) 3, 9, 27, 81 раз
14	t, pH в исследуемой воде	Измерения перед началом биотестирования, все показатели в пределах оптимальных значений, установленных в методике
15	Величина токсической кратности разбавления	36 раз
16	Качество воды	Сильнотоксичная

Приложение 6

(рекомендуемое)

ПРОТОКОЛ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Наименование организации:
Наименование объекта:
Биотестируемая среда:
Условия отбора и транспортировки проб:
Кем взяты пробы:
Дата отбора проб:
Дата доставки проб:
Используемая МВИ:

РЕЗУЛЬТАТЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

№ п/п	Дата биотестирования	Место отбора проб	Тестируемая проба	Оценка тестируемой пробы	Качество воды	Величина токсической кратности разбавления
				оказывает острое токсическое действие (указать кратность разведения) или не оказывает	(слаботоксичная среднетоксичная токсичная сильнотоксичная гипертоксичная)	

Биотестирование проводил _____ _____
подпись *расшифровка подписи*

Заключение

Начальник организации _____ _____
подпись *расшифровка подписи*

Приложение 7

000733

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
(Росстандарт)
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Уральский научно-исследовательский институт метрологии»
(ФГУП «УНИИМ»)
Государственный научный метрологический институт

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики (метода) измерений

№ 224.0048/01.00258/2012

Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (Chlorella vulgaris beijer) для определения токсичности питьевых, природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления,

наименование методики, включая наименование измеряемой величины и, при необходимости, объекта измерений, дополнительных параметров и реализуемый способ измерений

предназначенная для использования в лабораториях служб государственного экологического контроля,

область использования

разработанная ФГАОУ ВПО "Сибирский федеральный университет" (660041, г Красноярск, пр. Свободный, 79)

наименование и адрес организации (предприятия), разработавшей методику

и содержащаяся в документе организации "Методика определения токсичности питьевых, природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов производства и потребления по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (Chlorella vulgaris beijer)", год утверждения 2012, на 42 стр.

обозначение и наименование документа, содержащего методику, год утверждения, число страниц

Методика аттестована в соответствии с ФЗ № 102 "Об обеспечении единства измерений" и ГОСТ Р 8.563-2009.

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке методики измерений и экспериментальных исследований

теоретических и (или) экспериментальных исследований

В результате аттестации методики измерений установлено, что методика измерений соответствует требованиям, предъявляемым ГОСТ Р 8.563-2009

нормативно-правовой документ в области обеспечения единства измерений (при наличии) и ГОСТ Р 8.563

Показатели точности измерений приведены в приложении на 1 л.

Зам. директора по научной работе С.В.Медведевских

Зав. лабораторией В.Л. Панева

Дата выдачи 23.03.2012

Рекомендуемый срок пересмотра методики измерений:

Россия, 620000, г. Екатеринбург, ул. Кра
Тел.: (343) 350-26-18, факс: (343)

Приложение 8

На 1 листе
Лист 1 из 1

Приложение к свидетельству № 224.0048/01.00258/2012
об аттестации методики измерения оптической плотности культуры водоросли хлорелла (Chlorella vulgaris Beijer) для определения токсичности питьевых, природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления

1. Условия биотестирования:

Объект токсикологического анализа	Пробы питьевых, природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов производства и потребления
Тест-культура	Водоросль хлорелла (Chlorella vulgaris Beijer) – термофильный штамм одноклеточной зеленой водоросли с величиной оптической плотности 0,125 ± 0,005 ед. в 50 % среде Тамия
Модельный токсикант	Сульфат кадмия ($CdSO_4 \times 8\ H_2O$) с массовой концентрацией от 0,06 до 0,24 мг/дм^3.
Контрольная проба	2 см^3 тест культуры водоросли хлорелла + 48 см^3 дистиллированной воды (pH 7.0-8,5).
Общие требования к процедуре биотестирования	количество контрольных проб – 4 количество опытных проб – 4 время наблюдения – 22 часа

2. Результаты метрологической аттестации методики:

Диапазон измерений, ед. оптической плотности	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, σ_r,%	Показатель воспроизводимости*) (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R %	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между четырьмя результатами параллельных определений), r_t %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами, полученными в двух лабораториях), R, %
от 0,005 до 0,200 вкл.	8	13	29	36

*) Значение показателя воспроизводимости установлено на основе результатов межлабораторного эксперимента, проведенного в 3-х лабораториях

3 При реализации методики в лаборатории обеспечивают:

- контроль стабильности результатов анализа (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности);
- оперативный контроль процедуры анализа (на основе оценки внутрилабораторной прецизионности при реализации отдельно взятой контрольной процедуры).

Алгоритм контроля исполнителем процедуры анализа приведен в документе на методику выполнения измерений.

Процедуры контроля стабильности результатов анализа регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Вед. инженер ФГУП «УНИИМ»,
эксперт-метролог
(сертификат RUM 02.33 00219-2) Белобородова Г.И.

gost.e-ecolog.ru