
**Качество воды. Определение
токсического воздействия осадка на
рост *Myriophyllum aquaticum***

*Water quality — Determination of the toxic effect of sediment on the
growth behavior of Myriophyllum aquaticum*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава



Ссылочный номер
ISO 16191:2013(R)

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2013

Все права сохраняются. Если не задано иначе, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия офиса ISO по адресу, указанному ниже, или членом ISO в стране регистрации пребывания.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие.....	iv
Введение	v
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	2
4 Сущность метода.....	3
5 Помехи	4
6 Реактивы	4
7 Аппаратура.....	5
8 Испытание с контрольным веществом.....	6
9 Испытуемый организм	7
10 Проведение испытания	7
10.1 Выращивание предкультуры <i>Myriophyllum aquaticum</i> для контактного испытания	7
10.2 Приготовление контрольной пробы	7
10.3 Отбор проб, хранение и подготовка проб для испытания	7
10.4 Проведение испытания	8
10.5 Условия экспонирования	8
10.6 Измерения	9
11 Оценивание.....	10
11.1 Скорость роста r	10
11.2 Среднее значение в испытании и на контрольный сосуд ($r_{V,T}$, $r_{V,C}$)	10
11.3 Среднее значение в испытании и контрольной пробе ($r_{S,T}$, $r_{S,C}$)	10
11.4 Ингибирование I	10
11.5 Оценка значений $E_r C_x$	10
11.6 Обработка результатов	12
12 Критерии достоверности	12
13 Протокол испытания.....	12
Приложение А (информативное) Рисунки	14
Приложение В (нормативное) Приготовление питательного раствора (среда Штейнберга, по ISO 20079)	16
Приложение С (информативное) Поставщики	18
Приложение D (нормативное) Приготовление маркированных искусственных осадков	20
Приложение E (информативное) Данные по эффективности метода	22
Библиография.....	23

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) всемирная федерация национальных органов по стандартизации (комитеты-члены ISO). Работа по подготовке международных стандартов обычно ведется через технические комитеты ISO. Каждый комитет-член ISO, проявляющий интерес к тематике, по которой учрежден технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, государственные и негосударственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работе. ISO тесно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Процедуры, используемые для разработки данного документа, и процедуры, предусмотренные для его дальнейшего ведения, описаны в Директивах ISO/IEC Directives, Part 1. В частности, следует отметить различные критерии утверждения, требуемые для различных типов документов ISO. Проект данного документа был разработан в соответствии с редакционными правилами Директив ISO/IEC Directives, Part 2. www.iso.org/directives .

Необходимо обратить внимание на возможность того, что ряд элементов данного документа могут быть предметом патентных прав. Международная организация ISO не должна нести ответственность за идентификацию таких прав, частично или полностью. Сведения о патентных правах, идентифицированных при разработке документа, будут указаны во Введении и/или в перечне полученных ISO объявлениях о патентном праве. www.iso.org/patents .

Любое торговое название, использованное в данном документе, является информацией, предоставляемой для удобства пользователей, а не свидетельством в пользу того или иного товара или той или иной компании.

Технический комитет, несущий ответственность за данный документ, ISO/TC 147, *Качество воды*, Подкомитет SC 5, *Биологические методы*.

[ISO 16191:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>

Введение

Контактное испытание с растением *Myriophyllum aquaticum*, описанное в данном международном стандарте, позволяет в течение 10 дней выполнить измерение реакции рассматриваемого растения на растворенные и связанные с твердыми частицами вещества, присутствующие в осадке проб воды ([3] [4] [5] [6] [7] [8]).

Испытуемое растение, перистолистник водный (бразильский) (попугаичье оперение), *Myriophyllum aquaticum* (Velloso) Вердкурта (Verdcurt), является двудольным макрофитом. Родом это растение из реки Амазонки в Южной Америке, но уже распространилось по всему миру, особенно в районах с теплым климатом. Оно также повсеместно используется в домашних аквариумах и открытых океанариумах. Что касается применения перистолистника в качестве испытуемого организма, в контактном испытании успешно используются его способность к росту в полупогруженном состоянии (не требуется дополнительной жидкости в качестве надосадочной), сильный потенциал к регенерации и вегетативный рост. Кроме того, *Myriophyllum aquaticum* растет без образования боковых побегов во время испытания, что облегчает работу с ним в лаборатории. В то же время необходимо следить за тем, чтобы из лаборатории не пропадало живого растительного материала.

На *Myriophyllum aquaticum* могут повлиять фитотоксичные вещества, присутствующие в осадках (например, из вынутого грунта). Последующее подавление роста рассчитывают по определенному параметру (масса в сыром виде) с помощью определенных методов вычисления.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>

Качество воды. Определение токсического воздействия осадка на рост *Myriophyllum aquaticum*

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Пользователи данного международного стандарта должны быть знакомы с обычной лабораторной практикой. Настоящий стандарт не преследует цели рассмотреть все вопросы, связанные с безопасностью, если они возникают при его использовании. Пользователь сам несет ответственность за разработку соответствующих правил техники безопасности и охраны здоровья, а также за обеспечение соответствия условиям национальных регламентов. Необходимо гарантировать, что растительный материал не будет пропадать из лаборатории.

ВНИМАНИЕ! – Самое главное, чтобы анализ в соответствии с настоящим международным стандартом выполнялся обученным персоналом.

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод определения токсичности проб из объектов окружающей среды в отношении роста перистолистника, *Myriophyllum aquaticum*. Описанный метод применим к осадочным отложениям в природной пресной воды и к искусственному осадку.

2 Нормативные ссылки

Нижеследующие нормативные документы являются обязательными для применения настоящего документа. В отношении датированных ссылок действительными являются только указанные издания. В отношении недатированных ссылок применимо последнее издание ссылаемого документа, включая любые изменения к нему.

ISO 5667-15, *Качество воды. Отбор проб. Часть 15. Руководство по консервации и работе с пробами отстоя и осадка*

ISO 5667-16, *Качество воды. Отбор проб. Часть 16. Руководство по биотестированию проб*

ISO 10523, *Качество воды. Определение pH*

ISO 11465, *Качество почвы. Определение сухого вещества и содержания воды на основе массы. Гравиметрический метод*

ISO 20079, *Качество воды. Определение токсического воздействия составляющих воды и отстойных вод на ряску (*Letna minor*). Тест на подавление роста ряски*

OECD 218, *Руководство OECD по испытаниям химических веществ. Тест на токсичность хирономидов в седиментационной воде с использованием маркированного осадка*

3 Термины и определения

В данном документе применяются следующие термины и определения:

3.1

искусственный осадок
artificial sediment

установленный искусственный осадок

[ИСТОЧНИК: ISO 10872:2010 ² определение 3.3, с изменениями]

Примечание 1 к статье: См. 6.9.

3.2

хлороз
chlorosis

потеря пигментов (пожелтение растительных тканей)

[ИСТОЧНИК: ISO 20079:2005, определение 3.3, с изменениями]

3.3

контрольная проба
control sample

искусственный осадок, предварительно обработанный в соответствии с требованиями настоящего испытания, который служит как отрицательный контроль, с которым сравнивают воздействие в отношении испытуемого материала

[ИСТОЧНИК: ISO 10872:2010 ² определение 3.6, с изменениями]

3.4

эффективная концентрация
effective concentration

$E_r C_x$

концентрация вещества в испытуемой пробе ($E C_x$), при которой измеряется воздействие x %, если сравнивать с контролем

[ИСТОЧНИК: ISO 20079:2005, определение 3.9, с изменениями]

Примечание 1 к статье: Чтобы однозначно указать значение $E C$, выведенное из скорости роста, предлагается использовать обозначение " $E_r C_x$ ".

3.5

надводный рост
emersed growth

морфологическая предрасположенность водных макрофитов, растущих над поверхностью воды

3.6

верхушка (растения)
кольцо (пучок) листьев на конце стебля
head-whorl

верхушечная часть растения *Myriophyllum*

Примечание 1 к статье: См. [Рисунок A.1](#).

3.7**некроз
necrosis**

локализованное омертвление растительной ткани (т.е. ткань коричневого или белого цвета)

[ИСТОЧНИК: ISO 20079:2005, определение 3.16, с изменениями]

3.8**питательный раствор
nutrient solution**

раствор питательных веществ и микроэлементов в воде, которые важны для роста перистолистника *Myriophyllum*

[ИСТОЧНИК: ISO 20079:2005, определение 3.17, с изменениями]

3.9**предкультура
pre-culture**

культура *Myriophyllum aquaticum*, используемая для акклиматизации испытуемых растений к условиям испытания и для выращивания растений, верхушечная часть которых будет использоваться для испытания

[ИСТОЧНИК: ISO 20079:2005, определение 3.19, с изменениями]

Примечание 1 к статье: См. [Рисунок А.2](#).

3.10**параллельный опыт
replicate**

один из выбранного ряда испытуемых сосудов (содержащий материал одной пробы и испытуемые организмы)

Примечание 1 к статье: Испытывают каждый сосуд.

Примечание 2 к статье: Параллельные опыты, описанные в данном международном стандарте, включают материал пробы (например, натуральный осадок) и три кольца листьев перистолистника *Myriophyllum aquaticum*.

3.11**проба для испытания
test sample**

отдельная часть пробы (например, осадок или искусственный осадок)

[ИСТОЧНИК: ISO 10872:2010,² определение 3.14, с изменениями]

3.12**кольцо (листьев)
мутовка
whorl**

листья, расположенные по радиусу из отдельных точек и окружающие стебель

Примечание 1 к статье: См. [Рисунок А.1](#).

4 Сущность метода

Кольца листьев *Myriophyllum aquaticum* подвергают воздействию со стороны испытуемых проб в течение 10 дней. Рост перистолистника *Myriophyllum aquaticum* в испытуемой пробе сравнивают с его ростом в контрольной пробе. Количественно определяют фитотоксические воздействия как подавление роста (%) относительно роста в контрольной пробе.

5 Помехи

В случае проблем с ростом перистолистника *Myriophyllum control* при использовании искусственного осадка, следует проверить соответствующие компоненты, в первую очередь, исключить загрязнение, например, тяжелыми металлами (каолин) или пригодность торфа (если используется не рекомендованный торф).

6 Реактивы

Используют, по мере возможности, реактивы признанной аналитической чистоты.

6.1 Вода, дистиллированная или деионизованная вода или вода равноценной чистоты, проводимость < 10 мкСм/см.

6.2 Каолиновая глина, каолиновый порошок (CAS RN 1332-58-7).

6.3 Карбонат кальция, CaCO₃ в порошке (CAS RN 471-34-1).

6.4 Кварцевый песок, средний размер зерна 170 мкм (см. [Приложение С](#)).

6.5 Контрольное вещество, 3,5-дихлорфенол [C₆H₄OCl₂ (чистота ≥ 99 %), CAS RN 591-35-5].

6.6 Питательный раствор, с использованием среды Штейнберга (Steinberg), описанной в [Приложении В](#).

6.7 Торф, сфагновый (Sphagnum) торф (например, литовский торф), Н2-Н5, мелкозернистый (размер зерна ≤5 мм) (см. [Приложение С](#)).

6.8 Торфяной порошок, сухой торф ([6.7](#)) в течение 7 дней при комнатной температуре.

Распределяют торф по плоским подносам и переворачивают каждые 2 дня – 3 дня. Затем измельчают торф и просеивают через сито с размером отверстий 0,5 мм. Определяют сухую массу торфяного порошка просушиванием небольшой порции при температуре 60 °С в течение 3 ч четырьмя аликвотами, и определяют сухую массу посредством взвешивания до достижения постоянной массы (см. ISO 11465). Хранят торфяной порошок в герметичных сосудах до использования. Отмечают массу сухого вещества на сосуде.

6.9 Искусственный осадок, см. [Таблицу 1](#).

Таблица 1 — Сухие ингредиенты в составе искусственного осадка

Ингредиенты	% сухой массы осадка	Характеристики
Торфяной порошок	5	см. 6.8
Кварцевый песок	74	средний размер зерна 170 мкм
Каолиновая глина	20	порошок
CaCO ₃ порошок	1	прогнозный анализ

6.9.1 Искусственный осадок как контрольная проба.

Приготовление искусственного осадка в качестве контрольного, описано ниже ([6.9.1.1](#) – [6.9.1.3](#)). Сухие составляющие для приготовления искусственного осадка можно хранить по отдельности в закрытых воздухонепроницаемых емкостях в сухом темном месте при комнатной температуре в течение не менее 6 месяцев.

ПРИМЕЧАНИЕ Такие требования ([6.9.1.1](#) – [6.9.1.3](#)) выполняются для создания стабильных условий окружающей среды для осадка и чтобы избежать отделения компонентов осадка в процессе испытания.

6.9.1.1 Приготовление торфяной суспензии.

Берут требуемое количество торфяного порошка (6.8, Таблицу 1) и порошка CaCO_3 (см. Таблицу 1) и добавляют питательный раствор (6.6) до такой консистенции, чтобы суспензию было легко перемешивать (максимум 50 % от общей сухой массы осадка). Тщательно перемешивают. Выдерживают торфяную суспензию в течение от 3 дней до 4 дней при постоянном помешивании при комнатной температуре, чтобы стабилизировать pH. После этого измеряют pH суспензии и регулируют, если необходимо, до уровня $6,7 \pm 0,5$ добавлением порошка CaCO_3 .

ПРИМЕЧАНИЕ Опыт показывает, что pH обычно составляет $6,7 \pm 0,5$; поэтому нет необходимости в дополнительном добавлении CaCO_3 .

6.9.1.2 Добавление и смешивание компонентов осадка.

Смешивают торфяную суспензию с другими компонентами (кварцевый песок и коалиновая глина, (см. Таблицу 1), чтобы получить гомогенный осадок. Снова измеряют pH конечной смеси и регулируют на уровне $7,0 \pm 0,5$ добавлением порошка CaCO_3 , если необходимо.

ПРИМЕЧАНИЕ Опыт показывает, что pH обычно составляет $7,0 \pm 0,5$; поэтому нет необходимости в дополнительном добавлении CaCO_3 .

6.9.1.3 Кондиционирование смешанной суспензии осадка.

Добавляют питательный раствор (6.6) в качестве надосадочной жидкостью в перемешанный осадок (6.9.1.2) в отношении: 1 часть (по массе) перемешанного осадка плюс максимум 0,5 части (по объему) питательного раствора. Кондиционируют эту смесь в течение от 7 дней до 9 дней в условиях воздействия (см. 10.5), чтобы создать устойчивый микробный компонент и избежать отделения компонентов осадка в процессе испытания. Осторожно сливают надосадочный питательный раствор через 7 дней – 9 дней. Осадок готов к немедленному использованию.

ПРИМЕЧАНИЕ Опыт показывает, что искусственный осадок можно хранить при температуре от 4°C до 8°C в темноте в течение 14 дней.

6.9.2 Искусственный осадок для предкультуры.

Смешивают сухие компоненты осадка (см. Таблицу 1) и встряхивают сухую смесь в течение от 2 ч до 3 ч в роторном шейкере при комнатной температуре. Сухую порошкообразную смесь осадка можно держать без ограничений в воздухонепроницаемой емкости в сухом и темном месте при комнатной температуре.

Отмеряют 125 г смеси сухого порошкообразного осадка в емкости для предкультуры вместимостью 1 000 мл, добавляют (65 ± 5) мл питательного раствора (6.6), и тщательно перемешивают до однородности. Суспензия осадка должна быть непрозрачной. Уплотняют осадок, постукивая сосудом по столу, чтобы удалить пузырьки воздуха и полости в пределах матрицы осадка.

ПРИМЕЧАНИЕ Выращивание предкультур (см. 10.1) в искусственном осадке для контрольных проб (6.9.1) или в искусственном осадке для предкультур (6.9.2) не имеет большого влияния на результаты последующего испытания; поэтому оба искусственных осадка (6.9.1 и 6.9.2) подойдут в качестве осадка для выращивания предкультуры.

7 Аппаратура

Обычное лабораторное оборудование и, в частности, следующее:

7.1 Автоклав.

7.2 Емкости цилиндрические или конусообразные, химические стаканы из стекла или пластмассы, чашки для кристаллизации [например, для предкультуры: диаметр дна 10 см, диаметр верхней части 13 см, высота 11 см; для испытания: стеклянные химические стаканы вместимостью 250 мл, низкой формы; см. [Рисунки A.2 b](#) и [A.3 b](#)].

7.3 Сушильная печь, приблизительно 105 °С.

7.4 Инкубатор с температурным контролем (термостат) с постоянным освещением, например, климатическая камера.

7.5 Фотометр, для измерения фотосинтетической активной радиации (ФАР = PAR), в фотосинтетическом диапазоне от 400 нм до 700 нм со сферическим квантовым датчиком.

7.6 pH метр.

7.7 Прецизионные весы, требуемая точность 0,1 мг.

7.8 Роторный встряхиватель (шейкер).

7.9 Скальпель или ножницы.

7.10 Сито, из нержавеющей стали, размер ячеек 0,5 мм.

7.11 Прозрачные крышки, стеклянные или пластмассовые, с отверстиями (например, с перфорацией), чтобы позволить осуществление воздухо- и влагообмена [см. [Рисунки A.2 b](#) и [A.3 b](#)].

7.12 Пинцет.

7.13 Мешалка.

7.14 Стеклянный электрод, для измерения значений pH водных растворов и осадков.

7.15 Измельчитель, для превращения торфа в порошок после сушки (например, блендер).

7.16 Ступка, для гомогенизации осадков после сушки after drying (см. [Приложение D](#)).

7.18 Вытяжной шкаф (см. [Приложение D](#)).

8 Испытание с контрольным веществом

Чтобы обеспечить адекватность и практическую неизменность испытательных условий в лаборатории (включая состояние и чувствительность испытуемых организмов), необходимо регулярно испытывать контрольное вещество, не реже одного раза в 6 месяцев, используя одну и ту же концентрацию вблизи его EC₅₀ для нормы роста. Подходящим контрольным веществом является 3,5-дихлорфенол (DCP), влияние которого на рост *Myriophyllum aquaticum* подтверждено.

DCP испытывают в искусственном осадке в соответствии с инструкциями по маркированию осадка (см. [Приложение D](#)) и испытаниям (см. [Раздел 10](#)). Подавление роста при концентрации 90 мг/кг сухой массы искусственного осадка по сравнению с контрольным ростом должно попасть в диапазон от 20 % до 50 %.

ПРИМЕЧАНИЕ Диапазон ингибирующих воздействий для 3,5-дихлорфенола основан на данных международного межлабораторного исследования данного международного стандарта (см. [Приложение E](#)).