

---

---

**Качество воды. Определение  
токсичности осадений пресной воды  
с использованием *Hyalella azteca***

*Water quality —Determination of toxicity of fresh water sediments using  
Hyalella azteca*

iTeh Standards  
(<https://standards.itih.ai>)  
Document Preview

[ISO 16303:2013](https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013)

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013>

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



Ссылочный номер  
ISO 16303:2013(R)

iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

ISO 16303:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013>



**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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие .....	iv
Введение .....	v
<b>1 Область применения .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Нормативные ссылки .....</b>	<b>1</b>
<b>3 Термины и определения .....</b>	<b>2</b>
<b>4 Сущность метода .....</b>	<b>3</b>
<b>5 Испытательная среда .....</b>	<b>3</b>
5.1 Оборудование .....	3
5.2 Освещение .....	3
<b>6 Реактивы, испытательные организмы и материалы .....</b>	<b>3</b>
6.1 Испытательный организм .....	3
6.2 Контрольный осадок .....	4
6.3 Вышележащая вода .....	5
6.4 Кормление .....	6
6.5 Стандартное вещество .....	7
<b>7 Оборудование .....</b>	<b>7</b>
<b>8 Обработка и подготовка проб .....</b>	<b>8</b>
8.1 Общие вопросы .....	8
8.2 Испытательный осадок .....	8
8.3 Подготовка проб осадков .....	9
<b>9 Процедура испытания .....</b>	<b>10</b>
9.1 Приготовление испытательных емкостей .....	10
9.2 Введение организмов .....	10
9.3 Условия испытания .....	11
9.4 Обновление вышележащей воды .....	11
9.5 Тестовые наблюдения и измерения .....	11
<b>10 Выражение результатов .....</b>	<b>12</b>
10.1 Выживание .....	12
10.2 Рост .....	12
10.3 Валидность теста .....	12
<b>11 Анализ и интерпретация результатов .....</b>	<b>12</b>
11.1 Анализ данных .....	12
11.2 Факторы, не относящиеся к загрязнению .....	13
<b>12 Стандартное вещество .....</b>	<b>13</b>
12.1 Тест только с водой .....	14
12.2 Испытание цельного осадка .....	14
<b>13 Протокол испытания .....</b>	<b>14</b>
<b>Приложение А (информативное) Описание <i>Hyalella azteca</i> .....</b>	<b>16</b>
<b>Приложение В (информативное) Культивирование <i>Hyalella azteca</i> .....</b>	<b>18</b>
<b>Приложение С (информативное) Источники <i>Hyalella azteca</i> .....</b>	<b>20</b>
<b>Приложение D (нормативное) Процедура для приготовления комбинированных кормов YCT .....</b>	<b>22</b>
<b>Приложение E (информативное) 42-дневное испытание осадка на размножение .....</b>	<b>23</b>
<b>Приложение F (информативное) 14-дневный тест только с водой на выживание и рост .....</b>	<b>24</b>
<b>Приложение G (информативное) Рабочие результаты .....</b>	<b>25</b>
<b>Библиография .....</b>	<b>26</b>

## Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является Всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Процедуры, используемые для разработки настоящего документа, и процедуры, предназначенные для его дальнейшего ведения, описаны в Директивах ISO/IEC, Часть 1. В частности, следует отметить различные критерии одобрения для различных типов документов ISO. Проект данного документа был разработан по правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2 (см. [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Обращается внимание на то, что некоторые элементы данного документа могут быть объектом патентных прав. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо одного или всех таких патентных прав. Детали любых патентных прав, установленные в процессе подготовки этого документа, будут указаны во Введении и/или в списке патентных заявок, полученных ISO (см. [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Любое фирменное название, используемое в этом документе, указывается только как информация для удобства пользователей и не является рекомендацией.

Для объяснения специфических терминов ISO и выражений, относящихся к оценке соответствия, а также информации о соблюдении ISO принципов WTO относительно Технических барьеров в торговле (ТБТ) см. следующую гиперссылку URL: Предисловие – Дополнительная информация

Настоящий документ разработан Техническим комитетом ISO/TC 147, *Качество воды*, Подкомитетом SC 5, *Биологические методы*.

[ISO 16303:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013>

## Введение

Осаждение в водной среде служит резервуаром-отстойником для сельскохозяйственных, промышленных и городских загрязнений. Загрязненные отложения оказывают непосредственное вредное воздействие на донное сообщество и действуют как источник загрязнения для вышележащей воды, часто также отрицательно влияя на пелагические сообщества. Испытания отложений на токсичность проводятся в мировом масштабе для определения и мониторинга токсических воздействий отдельных веществ или сложных смесей, которые могут быть вредными для существования местных сообществ в водных или донных средах. В настоящем международном стандарте описываются процедуры для проведения 14-дневных и/или 28-дневных испытаний осаждений на токсичность с использованием бокоплавов отряда амфиподов *Hyalella azteca*. Биологические конечные точки для испытаний включают смертность и рост.

# iTeh Standards (<https://standards.iteh.ai>) Document Preview

[ISO 16303:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013>



# Качество воды. Определение токсичности осадений пресной воды с использованием *Hyalella azteca*

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Лица, использующие этот международный стандарт, должны быть знакомы с нормальной лабораторной практикой. В настоящем международном стандарте не предусматривается рассмотрение всех проблем безопасности, если таковые имеются, связанных с его использованием. Пользователь сам должен установить надлежащие нормативы по технике безопасности и защите здоровья и обеспечить их соответствие условиям национального регулирования.

**ВАЖНО** — Абсолютно необходимо, чтобы испытания согласно этой части ISO 13165 проводились соответственно обученным персоналом.

## 1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод определения токсичности для молодых бокоплавов *Hyalella azteca* в цельном осадке на основе их выживания и замедления роста через 14 дней и/или 28 дней.

Метод применим

- a) для проб загрязненного цельного отложения в пресной воде,
- b) для химических, промышленных или городских шламов либо других твердых отходов, которые можно объединить с пресноводными отложениями, и
- c) для химикатов или препаратов, введенных в чистое отложение.

Настоящий международный стандарт применяется для испытания проб отложений в пресноводной среде. *Hyalella azteca* можно использовать для тестирования в солоноватых водах вплоть до максимальной солености 15 ‰ при тщательной акклимации. Данный международный стандарт не распространяется на испытания проб отложения в морской и речной устьевой среде с соленостью > 15 ‰.

Этот метод представляет 14-дневное и/или 28-дневное испытание на выживание и рост, применяемое для проб отложений, типы которых описаны выше.

## 2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы целиком или частично являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 5814, *Качество воды. Определение растворенного кислорода. Электрохимический метод с применением зонда*

ISO 6059, *Качество воды. Определение суммарного содержания кальция и магния. Титриметрический метод с применением ЭДТА*

ISO 10523, *Качество воды. Определение pH*

### 3 Термины и определения

Применительно к настоящему документу используются условные обозначения, определения, единицы и сокращения, определенные в ISO 80000-10, ISO/IEC Guide 98-3, и нижеследующие.

#### 3.1

**искусственный осадок**  
**artificial sediment**

смесь материалов, которые имитируют физические компоненты естественного отложения

Примечание 1 к статье: См. 6.2.1.

#### 3.2

**контрольный осадок**  
**control sediment**

проба отложения (естественного или искусственного), которая используется для оценки свойств тестируемых организмов и приемлемости испытания (т.е. чистый осадок)

Примечание 1 к статье: Результаты испытаний контрольного осадка используются для сравнения с реакцией организмов в загрязненных испытательных осадках и для оценивания валидности испытания.

Примечание 2 к статье: Контрольный осадок используется повседневно для оценки приемлемости испытания (6.2).

#### 3.3

**испытательный осадок**  
**test sediment**

отдельная порция отложения (собранного в естественных условиях или обогащенного), подлежащая тестированию для оценки возможных воздействий на бокоплавы, обусловленных загрязнением

#### 3.4

**обогащенный осадок**  
**spiked sediment**

проба отложения, в которую для тестирования вводится какой-либо материал

[ISO 16303:2013](https://standards.iteh.ai/ISO/16303/2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013>

**стандартный осадок**  
**reference sediment**

проба отложения, собранная в естественных условиях в заданном участке, свойства которого достаточно соответствуют свойствам проб(ы) испытательного осадка, кроме степени загрязнения

Примечание 1 к статье: Эту пробу часто отбирают на участке, который не подвержен источнику(ам) загрязнения, но в непосредственной близости от участков, где отбирается испытательная проба. Поэтому результаты испытания для определения токсичности являются специфичными для участка.

#### 3.6

**периодическое обновление**  
**intermittent renewal**

испытания, в ходе которых испытательные растворы или вышележащая вода обновляются из-за ухудшения качества воды

#### 3.7

**вышележащая вода**  
**overlying water**

вода, расположенная над осадком в испытательной емкости

Примечание 1 к статье: Если необходимо, вышележащая вода также используется для различных процедур с осадком (например, для приготовления заданного состава или смесей обогащенного осадка).



### 3.8 рост growth

увеличение сухого веса тестируемых организмов в ходе эксперимента, выраженное как средний сухой вес в расчете на выжившего бокоплава

## 4 Сущность метода

Молодые пресноводные бокоплавы, *Hyalella azteca*, в возрасте от 2 до 9 дней и с варьированием в пределах от 1 до 2 дней, в группах по 10 организмов подвергаются воздействию загрязненного осадка или испытательного осадка с введенной химической добавкой в течение 14 дней и/или 28 дней<sup>[1][2][3]</sup> Конечными точками тестирования являются процент смертности и замедление роста, которые оцениваются относительно организмов, одновременно подвергаемых воздействию контрольного осадка. Испытание проводят в стеклянных емкостях при отношении осадка к воде (объем:объем) 1:1,75 или 1:4 (например, 100 мл осадка и 175 мл вышележащей воды или 100 мл осадка и 400 мл вышележащей воды). Сравнительные испытания двух рекомендованных пропорций осадок-вода не показали никакой значительной разницы в результатах испытания с использованием *Hyalella azteca*.<sup>[4]</sup> Единственное преимущество соотношения осадка и воды 1:4 состоит в увеличении объема вышележащей воды для химического анализа. Тестирующее воздействие в основном статическое, если только не применяется обновление из-за ухудшения качества вышележащей воды контрольного осадка (например, смещение рН, влияющее на форму фонового аммиака).

Долгосрочный вариант тестирования (т.е. 42 дня) для испытания на токсичность цельного осадка с использованием *Hyalella azteca* описан в Приложении Е. Конечные точки этого долгосрочного тестирования включают выживание (28, 35 и 42 дня), рост (28 и 42 дня) и воспроизведение (число молоди в расчете на женскую особь, полученное за период от 28 до 42 дней).

Метод с использованием только воздействия воды на *Hyalella azteca* также описан в Приложении F. Этот метод представляет 14-дневное тестирование выживания и роста молодых бокоплавов, подвергаемых воздействию проб промышленных или очищенных сточных вод, пресной воды (например, из водоприемника), водных вытяжек или химических веществ, которые растворимы или могут поддерживаться как устойчивые суспензии или дисперсии в условиях испытания.

ISO 16303:2013

<http://standards.iso/21aa95be-57b4-4cc4-8c93-65ce6644a114/iso-16303-2013>

## 5 Испытательная среда

### 5.1 Оборудование

Испытательное оборудование должно быть хорошо провентилировано, изолировано от физических помех и очищено от пыли и газов. Тестирование проводится в термостатированном помещении или камере, где поддерживается температура (23 ± 2) °C в испытательных емкостях.

### 5.2 Освещение

Все испытательные емкости должны получать прямое верхнее освещение, которое обеспечивает нормальную освещенность лаборатории (т.е. 100 лк до 1 000 лк) на границе раздела воздух/вода. Освещение должно быть равномерным и иметь цикл день/ночь (световой период), составляющий 16 ч дневного света и 8 ч темноты.

## 6 Реактивы, испытательные организмы и материалы

Используются только реактивы признанной аналитической чистоты, если нет других установок.

### 6.1 Испытательный организм

Бокоплавы *Hyalella azteca* являются эпибентическими детритоядными организмами, которые зарываются в пресноводное отложение и живут в тесном контакте с его поверхностным слоем на глубине 1 см или 2 см. Они

обитают в озерах, прудах и ручьях зон умеренного климата и широко распространены в Северной и Южной Америке.<sup>[1] [2] [3]</sup> Молодь *Hyalella azteca* получают из лабораторных культур, которые содержатся при температурных условиях, световом периоде и кормлении, идентичных для условий испытания. Видовая идентификация должна быть подтверждена квалифицированным персоналом, имеющим опыт в идентификации пресноводных бокоплавов на основе различительных таксономических характеристик, описанных в Приложении А и в предыдущих публикациях.<sup>[2] [5]</sup>

### 6.1.1 Возраст и размер

Возраст бокоплавов, используемых для тестирования, должен быть от 2 до 9 дней и не различаться более чем на 2 дня. Метод для культивирования *Hyalella azteca* и для получения испытательных организмов известного возраста представлен в Приложении В. Если рост выражается как средний размер в конце испытания, среднюю длину организмов следует определять в начале испытания.

### 6.1.2 Источник

Все бокоплавов, используемые для тестирования, должны быть получены из одной и той же популяции и одного и того же источника. Источниками животных, которые используются для создания культур, являются государственные или частные лаборатории, культивирующие *Hyalella azteca* для испытания токсичности отложений, или авторитетная биологическая компания-поставщик.<sup>[1] [2] [3]</sup> Перечень возможных источников *Hyalella azteca* приведен в Приложении С.

## 6.2 Контрольный осадок

Каждый тест токсичности отложения должен включать контроль с использованием как минимум пяти дублированных испытательных емкостей, содержащих контрольный осадок. Отклики организмов на воздействие контрольного осадка во время теста обеспечивают измерения для определения валидности испытания (см. 10.3), подтверждение здоровья и нормального поведения испытательных организмов и основание для интерпретации данных, полученных при испытании осадков. Контрольный осадок может быть естественным или искусственным (т.е. приготовленным химическим способом) отложением.

### 6.2.1 Естественный осадок

Естественный осадок, взятый из пресной воды или из слегка солоноватого (< 15 ‰) пробоотборного участка, который удален от известных источников загрязнений и для которого известна процедура контроля с использованием *Hyalella azteca*, может быть использован как контрольный осадок для теста или как чистый материал для введения испытательного химиката. Если поровая вода с осадком имеет измеримую соленость, испытательная лаборатория должна применять подходящую процедуру акклимации, чтобы подготовить взрослых *Hyalella azteca* для использования в качестве организмов-производителей и обеспечить использование молодых бокоплавов, адаптированных к солености, в ходе испытания.

### 6.2.2 Искусственный осадок

Нижеприведенный искусственный осадок может быть использован в качестве контроля для испытаний отложений пресной воды или как чистый материал для введения испытательного химиката. Этот рецепт основан на искусственном осадке, рекомендованном в ISO 10872.

Следующие компоненты тщательно перемешивают в заданных пропорциях.

Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> :	20 %
CaCO <sub>3</sub> :	1 %
Доломит (глина):	0,5 %
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> :	4,5 %

Кварцевый песок (средний размер частиц 0,063 мм):	30 %
Кварцевый песок (0,1 мм до 0,4 мм):	40 %
Торф (разложившийся торф из верхового болота, необработанный; мелкоразмолотый и просеянный через сито < 1 мм):	4 %

Существует несколько приемлемых подходов к приготовлению и кондиционированию искусственного осадка. В общем, при выборе состава для контроля или испытательного осадка должны рассматриваться следующие атрибуты:

- поддерживание выживания, роста или воспроизведения разновидностей донных организмов;
- обеспечение соответствующих приемлемых биологических конечных точек для разнообразных видов;
- включение стандартных составляющих, которые легко доступны для испытательных лабораторий;
- отсутствие концентраций загрязнителей, которые могут оказывать вредное воздействие на испытательные организмы.

Приемлемые варианты искусственных осадков описаны в руководящем документе по данному вопросу Министерства окружающей среды Канады, где указаны методы для введения испытательных химикатов в осадок.<sup>[6]</sup>

## 6.3 Вышележащая вода

### 6.3.1 Естественная пресная вода

Естественная пресная вода включает подачу незагрязненной грунтовой или поверхностной воды. Если целью испытания является имитация участка в полевых условиях, естественную воду можно разбавлять дистиллированной или деионизированной водой высокой чистоты, пока не будет достигнута требуемая жесткость. Вода, взятая с участка, где отбирают отложение, также может быть использована. Поверхностную воду следует отфильтровать через мелкое сито (например, 30 мкм) для удаления возможных хищников или конкурентов. Дехлорированная вода не рекомендуется, потому что ее качество часто бывает весьма изменчивым и она может содержать недопустимо высокие концентрации хлора, хлораминов, фторида, меди, свинца, цинка или других загрязняющих веществ.

### 6.3.2 Реконструированная вода

Если реконструированная пресная вода используется как вышележащая вода в тестировании *Hyalella azteca*, следующая искусственная среда должна быть приготовлена в деионизированной воде:<sup>[7]</sup>

CaCl <sub>2</sub>	110,98 мл/л
NaHCO <sub>3</sub>	84,01 мл/л
MgSO <sub>4</sub>	30,09 мл/л
KCl	3,728 мл/л
NaBr	1,029 мл/л

Перед использованием смесь аэрируют в течение 24 ч, чтобы отрегулировать содержание растворенного кислорода (DO) и стабилизировать pH. Концентрации солей можно отрегулировать аналогично составу в заданном водоприемнике. Однако соотношение Ca:Br должно поддерживаться постоянным, потому что эти ионы являются весьма важными для *Hyalella azteca* и должны присутствовать вместе.<sup>[8]</sup> Ионы Na<sup>+</sup> и HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> наиболее существенны для выживания *Hyalella azteca*, а Mg<sup>2+</sup> и K<sup>+</sup> необходимы для оптимального роста и размножения.<sup>[7] [9]</sup> Диапазоны для щелочности и жесткости не определяются ввиду отсутствия подтвержденных данных об их влиянии. Стандартное использование вышеприведенного рецепта реконструированной воды в культивировании и в качестве испытательной воды подтвердило приемлемые уровни щелочности и жесткости для *Hyalella azteca*. Проводимость, pH, жесткость, DO и щелочность измеряются в каждой партии реконструированной воды. Данная партия реконструированной воды не должна использоваться дольше 4 недель.