

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
32428—  
2013

---

**МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ  
ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ  
ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**Определение хронической токсичности для рыб:  
14-дневный тест**

(OECD, Test No.204:1984, IDT)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2014

## Предисловие

Цели, основные принципы и порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены».

### Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ»);

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 61–П от 5 ноября 2013 г.)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 798-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32428—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту OECD Test No. 204 Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study (Рыба, хроническая токсичность: 14-дневное исследование).

Перевод с английского языка (en).

Степень соответствия – идентичная (IDT).

### 6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет*

© Стандартиформ, 2014

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

**МЕТОД ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ  
ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ****Определение хронической токсичности для рыб: 14-ти дневный тест**

Testing of chemicals of environmental hazard. Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study

Дата введения — 2014—08—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает методы измерения смертельных и других наблюдаемых эффектов воздействия вредных факторов на рыб, подвергнутых воздействию тестового вещества.

**2 Термины и определения**

В настоящем стандарте применены термины с соответствующими определениями:

**2.1 полустатический тест** (Semi-static test): Тест, где тестовое вещество периодически обновляется (например, каждые 24 ч).

**2.2 динамический тест** (Flow-through test): Тест, при проведении которого в испытательных аквариумах вода непрерывно обновляется, тестовое вещество переносится водой.

**2.3 пороговый уровень смертельного эффекта** (Threshold level of lethal effect): Самая низкая концентрация тестового вещества в тестовом растворе, в котором наблюдается смертельный эффект.

**2.4 пороговый уровень наблюдаемых эффектов** (Threshold level of observed effects): Наименьшая концентрация тестового вещества вызывающая иной эффект, кроме смертельного, у значительного количества подопытных животных.

**2.5 NOEC (неэффективная наблюдаемая концентрация)** (no observed effect concentration): Самая высокая известная концентрация при проведении испытания, которая не имеет никакого статистически значимого смертельного или другого эффекта.

**3 Основные положения****3.1 Вещество—эталон**

Для данного испытания не рекомендуются вещества—эталон. Однако, если такое вещество—эталон использовалось, то должны быть приведены результаты.

**3.2 Принципы и методы**

Через равные промежутки времени в течение теста, который составляет по крайней мере 14 дней, определяют пороговые значения смертельного и других эффектов, а также NOEC. В случае необходимости период поведения испытания должен быть увеличен на 7-14 дней.

**3.3 Условия достоверности теста**

3.3.1 Смертность животных в конце теста не должна превышать 10 %.

3.3.2 Концентрация растворенного кислорода в течение теста должна составлять, по крайней мере 60 % от концентрации насыщения.

3.3.3 В полустатических тестах можно использовать азирование, если оно не приводит к значительной потере тестируемого вещества.

3.3.4 Необходимо подтвердить, что концентрация тестируемого вещества поддерживается на постоянном уровне (она должна составлять 80 % от номинальной концентрации) до завершения периода проведения испытания. Результаты должны быть основаны на средних концентрациях, если отклонение от номинальной концентрации больше 20 %.

## 4 Подготовка к испытанию

### 4.1 Оборудование

Используется следующее лабораторное оборудование:

- оборудование для определения температуры, pH, концентрации кислорода и жесткости воды;

- соответствующий прибор для регулирования температуры;

- тестовые емкости (аквариумы), изготовленные из химически инертного материала, и удовлетворяющие требованиям теста.

### 4.2 Растворы тестируемого вещества

4.2.1 Основные растворы соответствующих концентраций готовятся путем растворения требуемого количества тестируемого вещества в необходимом объеме разбавляющей воды. Для плохо растворимых веществ могут быть применены механические дисперсии или в случае необходимости дисперсии с помощью вспомогательных веществ, таких, как солюбилизаторы, имеющие низкую токсичность для рыб.

4.2.2 Концентрация органических растворителей, эмульгаторов или диспергаторов не должна превышать 100 мг/л в основном растворе.

4.2.3 Испытуемые растворы реактива выбранных концентраций подготовлены путем разбавления основного раствора.

4.2.4 Тест должен быть выполнен без регуляции pH. Если есть доказательства значимых изменений pH воды в тестовой емкости после внесения тестируемого вещества, то следует повторить тест, используя регуляторы pH основного раствора перед его внесением. Регуляция pH выполняется таким образом, чтобы степень концентрации основного раствора не изменялась в значительной степени, и исключалась химическая реакция или физическое осаждение тестируемого вещества. Для регулирования pH предпочтительно использовать HCl или NaOH.

### 4.3 Подопытные животные

#### 4.3.1 Выбор видов рыб

Необходимо использовать один или несколько видов рыб на усмотрение лаборатории, в которой проводится испытание. Однако лучше использовать виды, рекомендованные для определения острой токсичности для рыб [1]. Используемые виды рыб должны быть отобраны на основе таких важных практических критериев, как, например, их доступность в течение года, неприхотливость в содержании, удобство проведения испытания и всех относящихся к тесту экономических, биологических или экологических факторов. Особи рыб должны быть здоровы и без патологий.

Рыбы, упомянутые в [1], исключительно просты в разведении и широко распространены в течение года. Они могут быть выведены и выращены в рыбоводческих хозяйствах или в лаборатории, при условии, исключающих распространение заболеваний, в том числе паразитарных, и иметь известное происхождение. Эти рыбы доступны повсеместно.

Если при испытании используются другие виды рыб, то метод должен быть адаптирован к соответствующим условиям испытания.

#### 4.3.2 Содержание рыб

Т а б л и ц а 1 – Параметры содержания рыб

Аклиматизация:	Минимум 12 – 15 дней. Все рыбы должны быть экспонированы по крайней мере 7 дней перед тестом в той же самой воде, которая будет использована в эксперименте. Следует избегать любых действий, способных вызывать изменение поведения рыб
Вода:	Любая питьевая вода (дехлорированная в случае необходимости), природная вода хорошего качества, искусственно приготовленная вода [1]. Предпочтительна вода с общей жесткостью 50 – 250 мг CaCO <sub>3</sub> на литр и pH 6,0 – 8,5. Реактивы, используемые для приготовления разбавляющей воды, должны иметь аналитическую чистоту и растворяться в деионизированной или дистиллированной воде с удельной электропроводностью, равной или меньшей 10 µS·cm <sup>-1</sup>
Свет:	фотопериод составляет 12 - 16 ч ежедневно
Температура:	Соответственно виду [1]
Кислород	По крайней мере 80 % от насыщающей концентрации
Профилактическая чистка	Следует избегать профилактических чисток, если это невозможно, указать в результатах теста
Кормление:	1 раз в день

## Окончание Таблицы 1

Смертность:	После периода адаптации в 48 ч, смертность регистрируют по следующим критериям: - смертность более 10% популяции за 7 дней: замена животных - смертность от 5 до 10% популяции: акклиматизацию продолжают дополнительные 7 дней - смертность менее 5% популяции: продолжают эксперимент
-------------	--

## 5 Проведение испытания

5.1 Если в подготовке основного раствора тестового вещества используется растворитель, то необходимо проводить наблюдение над дополнительной группой контроля, подвергаемой действию самой высокой концентрации растворителя, используемой при испытании.

5.2 В динамическом тесте концентрация вещества в тестируемом растворе может быть определена в начале теста, в полустатическом тесте – в начале, сразу перед первым обновлением тестируемого раствора и в конце эксперимента. Кроме аналитических исследований могут быть использованы и другие методы, позволяющие продемонстрировать, что были выдержаны соответствующие концентрации тестируемого вещества.

### 5.3 Условия экспонирования

Таблица 2 – Условия проведения испытания

Продолжительность:	Обычно 14 дней, но может быть увеличена на одну или две недели
Аквариумы:	Могут быть использованы любые подходящие емкости
Загрузка:	Максимальная загрузка для полустатического теста рекомендуется 1,0 г рыбы на 1 л; более плотная загрузка возможна в динамическом тесте
Количество рыб	По крайней мере 10 для каждой концентрации и контроля
Тестовые концентрации	Выбранные тестовые концентрации позволяют определить как пороговые концентрации, так и другие наблюдаемые эффекты NOEC. Нет необходимости проводить испытание на концентрации вещества более 100 мг/л, если не было получено пороговое значение при этой концентрации
Вода:	Любая питьевая вода (дехлорированная в случае необходимости), природная вода хорошего качества, искусственно приготовленная вода [1]. Предпочтительна вода с общей жесткостью 50 – 250 мг CaCO <sub>3</sub> на литр и pH 6,0 – 8,5. Реактивы, используемые для приготовления разбавляющей воды, должны иметь аналитическую чистоту и растворяться в деионизированной или дистиллированной воде с удельной электропроводностью, равной или меньшей 10 $\mu\text{Scm}^{-1}$
Освещение	Фотопериод составляет 12 - 16 ч ежедневно
Температура:	Соответствующая виду (см. табл. 1 [1]) и постоянная в пределах $\pm 2^\circ\text{C}$
Концентрация кислорода	Не меньше 60 % от максимальной насыщающей концентрации в течение теста
Кормление:	Несколько раз в день (количество подаваемого корма не должно превышать общее количество, которое рыбы могут съесть немедленно) или ежедневно (количество корма остается постоянным, например 2% от сухого веса, связанного с начальным весом рыбы)
Чистка:	В динамическом тесте аквариумы должны чиститься по мере необходимости, по крайней мере, 2 раза в неделю, в полустатическом – тестовая емкость (аквариум) заменяется на чистый каждый раз после замены воды.

### 5.4 Наблюдения

#### 5.4.1 Наблюдаемые эффекты определены следующим образом.

Летальные эффекты: рыбы признаются мертвыми при отсутствии дыхательных движений и других реакций на небольшие механические раздражения.

Другие эффекты, кроме летальных, включают эффекты, наблюдаемые в размере и поведении рыб, которые явно отличаются от контрольных, например различные изменения в поведении, реакции на внешние раздражители, изменения внешнего вида рыбы, сокращение или прекращение питания, изменения в длине или весе тела рыбы.

5.4.2 Рыб осматривают, по крайней мере, один раз в день для констатации смерти. Мертвых рыб удаляют.

5.4.3 Необходимо ежедневно документировать все наблюдаемые эффекты, но как минимум, три наблюдения в неделю должны быть проведены.

5.4.4 Измерения pH, растворенного кислорода и температуры должны выполняться не реже двух раз в неделю.

5.4.5 До начала эксперимента вся популяция рыб должна быть взвешена и измерена. По завершении теста все оставшиеся в живых рыбы должны быть взвешены и измерены. Особи рыб не должны взвешиваться или измеряться во время теста, поскольку это может привести к повреждению и(или) смерти.

## 6 Результаты и отчет

### 6.1 Интерпретация результатов

Если стабильность или гомогенность тестируемых растворов не может быть соблюдена, то интерпретацию результатов необходимо проводить с осторожностью. Следует отметить, что результаты не являются воспроизводимыми.

### 6.2 Отчет о проведении теста

Отчет о проведении теста должен содержать следующую информацию:

- о тестируемом веществе: данные химической идентификации вещества;
- о подопытных организмах: научное название, размер, поставщик, любая предварительная обработка и т.д.;

Условия проведения испытания:

- использованная испытательная процедура (полустатический, или динамический тест, аэрирование, плотность посадки рыбы, и т.д.);
- качественные характеристики воды (подготовка, включая дехлорирование, концентрация растворенного кислорода, pH, жесткость, температура, любая другая имеющаяся информация);
- концентрация растворенного кислорода, pH, температура и общая жесткость тестового раствора в каждый из рекомендуемых периодов наблюдения;
- методы подготовки маточного и тестовых растворов реактива, используемые концентрации;
- информация о способах поддержания концентрации тестового вещества в растворе;
- количество рыб в каждой тестовой концентрации;

Результаты:

- наблюдаемые эффекты для каждой тестовой концентрации в течение всего периода испытания, оформленные в таблицы;
- концентрации, вызвавшие смертельные или другие воздействия, могут быть представлены графически с указанием времени;
- пороговый уровень летального эффекта;
- пороговый уровень наблюдаемых эффектов;
- NOEC;
- совокупная смертность при каждой концентрации на каждый момент наблюдения, если возможно;
- смертность в контрольной группе;
- наблюдения за поведением рыб;
- инциденты в ходе испытания, которые, возможно, повлияли на его результаты;
- любые отклонения от стандарта.

**Библиография**

- [1] OECD Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, 1992;
- [2] OECD Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study, 1984;
- [3] D.M.M. Adema, in Degradability, Ecotoxicity and Bioaccumulation, Chapter 5, Government Publishing Office, The Hague (1980);
- [4] R. Bathe, Arch. Toxicol. Suppl. 2, 417p –423p (1979).

Ключевые слова: химическая продукция, водная среда, метод испытаний, определение хронической токсичности

---

Подписано в печать 01.04.2014. Формат 60x84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>.  
Усл. печ. л. 0,93. Тираж 31 экз. Зак. 1054.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»  
123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)