

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
56989—  
2016/  
ISO/TR 15462:2006

## КАЧЕСТВО ВОДЫ

**Оценка биоразлагаемости органических соединений  
в водной среде**

**Выбор метода оценки**

(ISO/TR 15462:2006, IDT)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2016

## Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации материалов и технологий» (ФГУП «ВНИИ СМТ») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 326 «Биотехнологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 июня 2016 г. № 736-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TR 15462:2006 «Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Выбор метода оценки» (ISO/TR 15462:2006 «Water quality — Selection of tests for biodegradability», IDT).

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))

## Содержание

1 Область распространения .....	1
2 Термины и определения .....	1
3 Оценки и рекомендации .....	3
Приложение А (справочное) Сравнение международных стандартов ИСО и Руководств ОЭСР .....	19
Библиография .....	20

## Введение

Биоразложение веществ и компонентов сточных вод зависит не только от молекулярной структуры испытуемого материала, но также и от дополнительных факторов, таких как:

- условия окружающей среды (водная среда или почва);
- условия испытаний (аэробные или анаэробные испытания);
- происхождение или концентрация микроорганизмов в инокуляте;
- адаптация и акклиматизация в инокуляте;
- концентрация испытуемого материала;
- присутствие других органических субстратов;
- возможное токсическое воздействие на испытуемый материал в условиях проведения испытаний;
- физические и химические свойства и биодоступность испытуемого материала (например, летучесть, растворимость в воде, адсорбция на поверхности);
- физические и химические свойства испытуемой системы (например, объем раствора для испытаний и вместимость испытательных колб, очистка от  $\text{CO}_2$  и концентрация кислорода, температура);
- условия проведения испытаний (например, перемешивание, взбалтывание, режим аэрации, испытания по партиям или динамические испытания, открытые или закрытые испытательные колбы);
- продолжительность испытаний;
- используемые аналитические параметры (сумма параметров, таких как DOC, BOD,  $\text{CO}_2$  и вещества, специфичные для испытаний).

Из-за такого большого количества факторов, которые могут оказывать влияние на результат испытаний, невозможно определить «правильный» или «эталонный» метод. Воспроизводимость результатов испытаний при использовании различных методов или условий или даже при использовании идентичных методов испытаний может быть низкой и могут быть получены разные результаты испытаний. Как правило, испытуемый материал, который биоразлагается или легко, или плохо, дает схожие результаты испытаний в условиях повторяемости и воспроизводимости. Вещества, которые биоразлагаются частично или в средней степени и требуют специальной ассоциации бактерий или длительного периода адаптации, часто дают несопоставимые результаты.

Испытания биоразлагаемости, приведенные в настоящем стандарте, разработаны для того, чтобы определить биоразлагаемость химических веществ или сточных вод при стандартизованных условиях. Результаты испытаний требуются, чтобы предсказать биоразлагаемость испытуемого материала в естественных или промышленных водных средах, например в реках, озерах, прудах, морях, сточных водах очистных сооружений, метантенках. Для увеличения ценности прогноза методы испытаний должны в определенной степени симулировать такие среды. Так как условия в таких средах часто сильно различаются, иногда даже диаметрально противоположны, стандартные методы отражают данные различия. Следовательно, необходимо обеспечить достаточное число различных стандартизованных методов, для того чтобы позволить выбрать наилучший метод для конкретных целей.

## КАЧЕСТВО ВОДЫ

Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде  
Выбор метода оценки

Water quality. Evaluation of biodegradability of organic compounds in an aqueous medium. Selection of tests

Дата введения — 2017—02—01

**1 Область распространения**

Настоящий стандарт приводит обзор испытаний биоразлагаемости для водных сред, стандартизованных международной организацией по стандартизации (ИСО), и дает рекомендации по их применению. В приложении А представлены руководства ОЭСР по определению биоразлагаемости для водных сред, так как иногда данные руководства идентичны стандартам ИСО или являются полезным дополнением. Также ингибиторные испытания с бактериальным или смешанным бактериальным инокулятом включены в настоящий стандарт, так как возможная токсичность на инокуляте при выборе метода испытаний и его проведении является важной информацией. Полезно определить токсичность бактерий заранее, используя инокулят, схожий с тем, который планировали использовать для испытания биоразлагаемости перед началом испытаний.

**2 Термины и определения**

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

**2.1 активный ил (activated sludge):** Совокупность биомассы и инертного вещества, полученная при аэробной очистке сточных вод при помощи роста бактерий и других микроорганизмов в присутствии растворенного кислорода.

**2.2 биохимическое потребление кислорода (biochemical oxygen demand), BOD:** Массовая концентрация растворенного кислорода, потребленного при определенных условиях при аэробном биологическом окислении химического соединения или органического вещества в воде.

**Примечание** — Для целей настоящего стандарта биохимическое потребление кислорода выражают в мг потребовавшегося кислорода, на мг или г испытуемого вещества.

**2.3 фаза биоразложения (biodegradation phase):** Время от конца лаг-фазы испытания до достижения уровня биоразложения, соответствующего примерно 90 % от максимума.

**Примечание** — Фазу биоразложения выражают в днях.

**2.4 биогаз (biogas):** Диоксид азота или метан, полученные анаэробными бактериями.

**2.5 химическое потребление кислорода (chemical oxygen demand):** Массовая концентрация кислорода, эквивалентная количеству определенного окислителя, потребленного химическим соединением или органическим веществом при обработке образца воды окислителем при определенных условиях.

**Примечание** — Химическое потребление кислорода выражают в мг потребовавшегося кислорода на мг или г испытуемого соединения.

**2.6 концентрация взвешенных твердых частиц активного ила (concentration of suspended solids of an activated sludge):** Количество твердых частиц, полученное при фильтрации или центрифу-

гировании при известных условиях, известном объеме активного ила, высушенное при температуре примерно 105 °С до постоянной массы.

П р и м е ч а н и е — Так же часто используют смешанные растворы взвешенных твердых частиц.

**2.7 степень адсорбции на активном иле** (degree of adsorption on activated sludge): Процентное количество испытуемого вещества, устраниенного при помощи любого процесса, кроме биоразложения, в условиях определенного испытания среды партиями с активированным илом, определенное при помощи сравнения концентрации в начале с концентрацией в конце испытаний.

**2.8 перегнивший ил** (digested sludge): Смесь сточных вод в фазе отстаивания и активного ила, которая была выдержанна в анаэробном перегнивателе при температуре примерно 35 °С для уменьшения биомассы и удаления запаха и для улучшения способности к обезвоживанию, которая состоит из ассоциации анаэробных ферментативных и метаногенных бактерий, производящих диоксид углерода и метан.

**2.9 растворенный неорганический углерод** (dissolved inorganic carbon), **DIC**: Часть неорганического углерода в воде, которую нельзя удалить при помощи специального разделения фаз.

П р и м е ч а н и е — Разделение фаз может быть осуществлено, например, центрифугированием образца воды при скорости 40 000 м/с<sup>2</sup> в течение 15 мин или мембранный фильтрацией с мембраной с порами 0,45 мкм в диаметре.

**2.10 растворенный органический углерод** (dissolved organic carbon), **DOC**: Часть органического углерода в образце воды, которую нельзя удалить при помощи определенного разделения фаз.

П р и м е ч а н и е — Разделение фаз может быть осуществлено, например, центрифугированием образца воды при скорости 40 000 м/с<sup>2</sup> в течение 15 минут или мембранный фильтрацией с мембраной с порами 0,45 мкм в диаметре.

**2.11 лаг-фаза** (lag phase): Время от начала испытания до достижения адаптации и/или отбора разлагающих микроорганизмов, когда степень биоразложности химического соединения или органического вещества увеличилась примерно до 10 процентов от максимального уровня биоразложения.

П р и м е ч а н и е — Лаг-фазу измеряют в днях.

**2.12 максимальный уровень биоразложения:** Максимальная степень биоразложения химического соединения или органического вещества при испытании, после которой на протяжении испытаний биоразложение не протекает.

П р и м е ч а н и е — Максимальный уровень биоразложения выражают в процентах.

### 2.13

**смешанные растворы взвешенных твердых частиц** (mixed liquor suspended solids), **MLSS**: Концентрация твердых частиц, выраженная в определенной высушенной форме, в смешанных жидкостях.

[ИСО 6107-3:1993,48]

**2.14 фаза плато** (plateau phase): Время от конца фазы биоразложения до конца испытания.

П р и м е ч а н и е — Фазу плато выражают в днях.

**2.15 предварительное кондиционирование** (pre-conditionning): Предварительная выдержка инокулята при условиях испытания при отсутствии химического соединения или органического вещества, проводимая с целью увеличения результативности испытания при помощи акклиматизации микроорганизмов к условиям испытания.

**2.16 предварительное воздействие** (pre-exposure): Предварительная выдержка инокулята в присутствии химического соединения и/или органического вещества, проводимая с целью увеличения способности инокулята к биоразложению испытуемого материала при помощи адаптации и отбора микроорганизмов.

**2.17 первичное анаэробное биоразложение** (primary anaerobic biodegradation): Уровень разложения, достигаемый, когда испытуемое соединение подвергается структурным изменениям, отличным от полной минерализации, как результат анаэробного действия микроорганизмов.

**2.18 первичное биоразложение** (primary biodegradation): Структурные изменения (трансформации) химического соединения микроорганизмами, ведущие к потере определенного свойства.

**2.19 теоретическое потребление кислорода** (theoretical oxygen demand), ThOD: Теоретическое максимальное количество кислорода, требуемое для полного окисления химического соединения, вычисленное по молекулярной формуле.

П р и м е ч а н и е — В данном случае выражают в мг поглощенного кислорода на мг или г испытуемого соединения.

**2.20 общий органический углерод** (total organic carbon), TOC: Углерод, который присутствует в органическом веществе, который растворен и находится во взвешенном состоянии в воде.

**2.21 полное аэробное биоразложение** (ultimate aerobic biodegradation): Распад химического соединения или органического вещества микроорганизмами в присутствии кислорода до диоксида углерода, воды и минеральных солей любого другого химического элемента (минерализация) и производство новой биомассы.

**2.22 общий неорганический углерод** (total inorganic carbon), TIC: Весь углерод в образце воды, обусловленный наличием диоксида углерода и карбоната.

**2.23 теоретическое количество образовавшегося диоксида углерода** (theoretical amount of formed carbon dioxide), ThCO<sub>2</sub>: Максимальное количество диоксида углерода, образовавшегося после полного окисления химического соединения, вычисленное на основе молекулярной формулы.

П р и м е ч а н и е — Теоретическое количество образовавшегося диоксида углерода выражают в мг диоксида углерода на мг или г испытуемого соединения.

**2.24 теоретическое количество неорганического углерода**, ThIC (theoretical amount of inorganic carbon), ThIC: Максимальное количество неорганического углерода, образовавшегося после полного окисления химического соединения, вычисленное на основе молекулярной формулы.

П р и м е ч а н и е — Теоретическое количество неорганического углерода выражают в мг углерода на мг или г испытуемого соединения.

**2.25 полное анаэробное разложение** (ultimate anaerobic biodegradation): Уровень биоразложения, достигаемый, когда испытуемое соединение утилизировано анаэробными микроорганизмами приводящее к производству диоксида углерода, метана, минеральных солей, и новый микробиальный компонент ячейки (биомасса).

### 3 Оценки и рекомендации

#### 3.1 Методы испытания биоразложения

Методы испытания аэробной биоразлагаемости обладают различным потенциалом, в основном из-за различных используемых плотностей микроорганизмов, концентраций испытуемых веществ и продолжительности испытаний. ИСО 7827 (метод испытаний с удалением растворенного диоксида углерода), ИСО 9439 (испытание на основе оценки CO<sub>2</sub>), ИСО 9408 (метод испытаний на основе потребления кислорода), ИСО 10708 (двуухфазный метод испытаний в закрытой бутылке на основе биохимического потребления кислорода) и ИСО 14593 (метод испытаний на основе прослойки CO<sub>2</sub>) имеют ориентировочно одинаковый потенциал. Данные методы являются широко используемыми стандартными методами для изучения полной биоразлагаемости. Продолжительность испытаний составляет 28 дней. Часто используют в качестве инокулята активный ил с концентрацией не более 30 мг/см<sup>3</sup> сухого вещества. Для испытательных колб в соответствии с ИСО 10707 (испытание с закрытыми бутылками) используют небольшой засев, не используют перемешивание или аэрацию и поэтому потенциал к разложению небольшой, но данные колбы применяют к летучим и ингибирующим испытуемым соединениям. Данный метод испытаний соответствует известным методам испытаний на основе биохимического потребления кислорода (ИСО 5815-1 и ИСО 5815-2), которые, однако, не рекомендуют применять для химических веществ, так как условия испытаний являются очень строгими, а время испытания (5 дней) очень коротким. Многие химические вещества будут классифицированы как небиоразлагаемые и, следовательно, отклонены. Метод испытания BOD<sub>5</sub> является наиболее старым методом испытания биоразложения в водной среде и за многие годы показал свою пригодность для сточных вод.

ИСО 9887 (метод испытания SCAS) и ИСО 9888 (метод испытаний Заха-Велеса) используют высокую концентрацию инокулята. ИСО 9887 использует дополнительный субстрат (сточные воды) и продолжительность метода испытаний может быть увеличена более чем на обычные 28 дней. Следовательно, данные методы испытаний имеют высокий потенциал биоразложения и могут быть использованы для определения истинной биоразлагаемости химических веществ, которая в соответствии с подходом OECD называется «присущей биоразлагаемостью». Так как данные методы испытаний проводятся в открытых системах и основаны на определении растворенного органического углерода, они не могут быть применены непосредственно к растворимым веществам или веществам, нерастворимым в воде. ИСО 11733 (метод испытаний активного ила) является непрерывным динамическим методом испытаний, симулирующим сточные воды очистительных станций, и включает также методы нитрификации и денитрификации. ИСО 14592 (метод испытания со взбалтыванием колбы/симуляция речной среды) является специальным методом испытаний биоразложения веществ при низких концентрациях, приближенным к реальным, и подходит для определения динамики биоразложения в водных средах. ИСО 14592-1 является методом испытаний партиями, симулирующим водные объекты со стоячей водой, такие как озера и пруды. ИСО 14159-2 является методом испытаний в динамичной среде и моделирует водные объекты с течением, такие как реки. ИСО 11734 (измерение производства биогаза) является единственным стандартизованным методом испытаний водной среды на анаэробную биоразлагаемость и применяется независимо от методов испытаний на аэробную биоразлагаемость. В приоритетном порядке его применяют для тех химических веществ, которые не в достаточной степени разлагаются аэробно и в большей части адсорбируются в активном иле, и которые поступают таким образом в анаэробные метатенки на станциях водоочистки. ИСО 16221 является стандартным методом испытаний морского биоразложения и включает пять различных методов с различными аналитическими параметрами, которые основаны на существующих методах испытаний для пресной воды, адаптированных для условий морской среды.

Динамика и степень разложения может отличаться в различных объектах окружающей среды, следовательно, результаты различных методов испытаний для одного материала могут различаться. Очевидно, что можно ожидать различия между методами испытаний аэробного и анаэробного биоразложения, так же как и различия при испытании в пресной и морской среде. Также очевидно, что потенциал разложения увеличивается при благоприятных условиях. Методы испытаний с высокой концентрацией инокулята, которые даже позволяют предварительное воздействие инокулята и разрешают увеличивать продолжительность испытания до достижения пиковой фазы, будут более часто демонстрировать биоразложение, чем методы с менее благоприятными условиями. Важным параметром является оптимальная концентрация для испытаний, которая должна быть не слишком высокая для избегания риска ингибирующего действия и не слишком низкая, чтобы затруднить или сделать невозможным точное определение уменьшения растворенного органического углерода, поглощенного кислорода или выделившегося диоксида углерода. При чрезвычайно низких концентрациях (например, значительно меньше 1 мг/л) биоразложение может не произойти вообще, так как предельное значение для успешного биоразложения является слишком низким.

Химические вещества, которые не разлагаются при достаточно строгих методах испытаний на полное биоразложение, могут, однако, разлагаться в специфичных, подходящих для данного вещества методах испытаний. Тем не менее, они могут не подвергнуться разложению в непрерывных методах испытаний, моделирующих активный ил. Методы испытаний полной биоразлагаемости могут предоставить противоречивые результаты, которые нельзя объяснить только различной способностью к разложению, как в случае с достаточно малоэффективным способом разложения при испытании в закрытой бутылке (ИСО 10707). Опыт также показывает, что методы испытаний, в которых, предположительно, одинаковый потенциал к разложению (такие как ИСО 7827, ИСО 9408 и ИСО 9439) и которые идентичны в плане подготовки, размешивании и аэрации, и используют одинаковые концентрации инокулятов, могут давать различные результаты. Причиной являются различные используемые аналитические методы. Измерение потребленного кислорода отличается от измерения выделившегося диоксида углерода, которое является последней стадией процесса аэробного биоразложения. Кроме этого, часть диоксида углерода остается растворенной в воде и его определяемое количество меньше количества произведенного. Полное количество диоксида углерода измеряют только после добавления кислоты в конце испытания. Описанная ошибка в определении выделившегося диоксида углерода полностью

исключена при использовании метода испытаний с прослойкой  $\text{CO}_2$  (ИСО 14593). Другим улучшением является новая аналитическая разработка, которая определяет образовавшийся диоксид углерода при помощи постоянного измерения проводимости, а не растворенного неорганического углерода. Эквивалентная степень биоразложения может занять больше времени, чем при методе испытаний с удалением растворимого органического углерода или методе испытания на основе потребления кислорода и может влиять на выполнение 10-дневного периода (см. 3.5).

Даже при одном методе испытаний могут быть получены разные результаты в параллельных сосудах, если, например, варьируется лаг-фаза и тест завершается до достижения фазы плато. Опыт показывает, что легкоразлагаемые химические вещества обычно дают сравнимые результаты, также как и плохоизлагаемые вещества, которые демонстрируют относительную стойкость почти ко всем испытательным системам. Химические вещества средней способности к биоразложению дают более последовательные результаты при методах испытаний с высоким потенциалом разложения или при использовании предварительного воздействия инокулята. Вещества, обладающие плохой биоразлагаемостью, могут, тем не менее, легко быть удалены в сточных водах станций очистки, если они имеют, например, высокий потенциал к адсорбции на активном иле. Такой процесс адсорбции не всегда протекает параллельно процессу биоразложения. Для определения такого специфичного удаления вещества подходит международный стандарт ИСО 18749 (испытание партиями).

### 3.2 Аналитические параметры и выражение результатов испытаний

В большинстве стандартизованных методов требуется информация о полной биоразлагаемости, то есть о полном распаде органического вещества до неорганических катаболитов, диоксида углерода и воды. Для определения полного аэробного разложения (минерализации) применяют совокупность таких параметров, как растворенный органический углерод (DOC), биохимическое потребление кислорода (BOD) или выделение диоксида углерода. Биохимическое потребление кислорода (BOD) и выделение диоксида углерода всегда четко показывают биоразлагаемость, в то время как удаление растворенного органического углерода (DOC) может происходить как вследствие биоразложения, так и вследствие абиотического удаления, такого как адсорбция на активном иле или испарения. В случае вещества с низкой растворимостью в воде, растворенный органический углерод не может быть определен, так как испытуемое вещество удаляют из раствора фильтрацией или центрифугированием, и поэтому не может быть использовано. В анаэробных методах испытаний обычным аналитическим параметром является выделение биогаза (метана и диоксида углерода), измеренное при помощи разницы давлений.

По аналитическим причинам требуется не только высокая концентрация испытуемого вещества, но и совокупность параметров. Если концентрация, при которой проводят испытания, должна быть как можно ближе к естественным концентрациям, например по кинетическим причинам, они должны быть очень низкими при испытании. В данном случае для исследования биологических трансформаций химического вещества используют аналитический метод, специфичный для вещества, основанный на так называемом первичном биоразложении. Если требуются еще более низкие концентрации, применяют вещества, меченные радиоактивным изотопом. Могут быть другие аналитические методы, которые применимы для прослеживания биоразложения, но только упомянутые здесь методы используются в стандартизованных методах испытаний.

При измерении растворенного органического углерода (DOC) сравнивают начальную и итоговую концентрацию. При использовании биохимического потребления кислорода (BOD) и диоксида углерода собирают измерения на протяжении всего испытания и сравнивают с теоретическими значениями ThOD или Th $\text{CO}_2$ , которые вычисляют из молекулярной формулы испытуемого вещества. На основе измеренных значений вычисляют биоразложение в процентах и отображают на графике времени выдержки для построения кривой разложения. Кривая биоразложения часто характеризуется:

- выделенной лаг-фазой, в которой микроорганизмы в инокуляте приспособливаются к испытуемому веществу, за которой следует
- актуальная фаза разложения, на протяжении которой происходит преобразование испытуемого вещества, удаление растворенного органического углерода (DOC), использование кислорода и выделение диоксида углерода, и
- фаза плато, в которой биоразложение завершено и не наблюдаются какого-либо значимого биоразложения.

Результатом испытаний обычно является степень разложения, выраженная в процентах, определенная как среднеарифметическое значение в фазе плато. Если данный способ выражения невозможен из-за того, что доступно мало информации или не получено четкой фазы плато, используют наибольшее значение в фазе плато или значение, измеренное в последний день испытания.

### 3.3 Пороговые значения биоразложения

Биоразложение в процентах, выраженное как снижение количества растворенного органического углерода для полного биоразложения или снижение количества испытуемого вещества, может достигать 100 %. При проведении испытаний необходимо проверить, что процессы абиотического удаления, такие как физическая адсорбция, пренебрежимо малы, в обратном случае они должны быть учтены в расчетах. В лимитирующих статичных условиях в методах испытания на быстрое биоразложение (см. 3.5) допускается, что в течение 10 дней или даже в течение всего времени испытаний, 28 дней, не ожидают достижения 100 %, поэтому значения снижения количества растворенного органического углерода больше 70 % и снижения количества испытуемого вещества больше 80 %, определенные при помощи аналитического метода, специфичного для вещества, были приняты в качестве предельных значений для полного или первичного биоразложения. Как показал опыт, вещества, которые выполнили эти критерии, обычно показывают большие значения в методах испытаний, симулирующих активный ил, и в методах испытаний в реальных средах. Фактически во многих случаях значения больше соответственно 70 и 80 % часто встречаются в «быстрых» методах испытания партиями.

Выделение диоксида углерода и потребление кислорода в испытаниях партиями, выраженное в процентах относительно теоретических значений  $\text{ThCO}_2$  и  $\text{ThOD}$ , всегда меньше, чем процент, определенный при помощи определения растворенного органического углерода (см [2], [3]). Данная ситуация хорошо заметна в случаях, когда проводят параллельное определение, например, при использовании комбинированного  $\text{CO}_2/\text{DOC}$  метода, описанного в приложении D ИСО 9439:1999. Причиной этого является тот факт, что при метаболизме бактерий часть органического углерода испытуемого вещества подвергается биохимическому окислению и, следовательно, переходит в диоксид углерода, тогда как другие части синтезируются в новый биомассу или в продукты органического метаболизма. Эти части не окисляются и не имеют отношения к выделению диоксида углерода, но тем не менее являются частью полного биоразложения. Соотношение органического углерода, переходящего в биомассу, зависит от таких факторов, как природа химического вещества и доступность коллекций бактериальных видов. Существует, однако, не одно значение, которое может быть принято как «общее предельное значение» в данном случае. Информация межлабораторных испытаний, проведенных во время стандартизации и утверждения данных методов испытаний, и опыт многих лабораторий приводят к допустимому предельному значению  $\text{ThOD}$  или  $\text{ThCO}_2$  больше 60 % в методах испытаний быстрого биоразложения. Примеры предельных значений, принятых в ОЭСР, и комментарии к ним приведены в [3].

### 3.4 Токсичность по отношению к бактериям

Наблюдают, что химические вещества, которые имеют ингибирующее воздействие на бактерии и не разлагаются при обычных концентрациях, могут разлагаться при более низких концентрациях испытуемого соединения или при помощи инокулята, взятого из другого источника или после предварительной адаптации. Таким образом, чтобы предотвратить некорректное отнесение химического вещества к веществам с плохой биоразлагаемостью, требуется дополнительная информация. Однако в действительности данное вещество не разлагается потому, что является токсичным при условиях испытаний. Одним способом, чтобы предотвратить это, является добавление контроля подавления в течение проведения испытания. Но лучше обладать информацией о токсичности до начала проведения дорогих и длительных испытаний биоразложения и знать эффективную концентрацию  $\text{EC}_{20}$  испытуемого вещества заранее, чтобы выбрать правильную концентрацию при испытании. Поэтому рекомендуется проводить испытания токсичности по отношению к бактериям с использованием так же приготовленного инокулята, как и для испытания биоразложения, часто это активный ил, используемый в данной местности. Подходящими для аэробных условий являются методы испытаний ингибирующего действия на потребление кислорода активным илом (ИСО 8192) и метод испытаний роста микроорганизмов ила (ИСО 15522). Для анаэробных условий такой контроль ингибирующего действия невозможен из-за высокой концентрации органического вещества во время испытания. Однако для различных концентра-

ций перегнившего ила и различных продолжительностей испытаний доступно два метода испытаний токсичности при различных условиях, методы испытаний по международным стандартам ИСО 13641-1 и ИСО 13641-2. Результаты данных исследований токсичности можно использовать не только для выбора наилучших методов испытаний биоразлагаемости и правильных концентраций, но и для предсказывания токсичного действия испытуемого вещества на станциях водоочистки и в метатенках. В данном случае следует упомянуть метод испытаний замедления нитрификации (ИСО 9509), который позволяет предсказать токсичное воздействие на чувствительный процесс микробной нитрификации.

Также существуют стандартизованные методы, использующие чистые культуры бактерий. Например, международный стандарт ИСО 10712 использует *Pseudomonas putida*, международный стандарт ИСО 11348 (все части) использует люминесцентную бактерию *Vibrio fischeri*. Использование данных методов не рекомендуют, так как полученные эффективные концентрации могут значительно отличаться от тех, которые могут быть в реальных условиях. Причиной может быть то, что испытуемое вещество может быть токсичным для использовавшегося при испытании вида, но не для более устойчивого микробного сообщества бактерий активного ила. Существует риск, что для многих веществ предсказанное сильное ингибиторное воздействие в реальности не будет проявляться и, следовательно, используемые во время испытаний низкие концентрации не будут предпочтительными для обычных аналитических методов.

### 3.5 Стратегии проведения испытаний

Так как существуют различия между сложностью, продолжительностью, качеством результатов и стоимостью различных испытаний, данные факторы следует учитывать при выборе методов испытаний или стратегии проведения испытаний перед началом проведения исследований. Выбор метода испытаний обычно зависит от целей проведения испытаний или от законодательных требований, которые должны быть выполнены, но также может зависеть от физических и химических свойств испытуемого химического вещества. Например, летучие испытуемые соединения могут быть испытаны только в закрытых системах, таких как в международных стандартах ИСО 10707, ИСО 10708 или ИСО 11593. Нерастворимые и плохо растворимые химические вещества могут быть оценены любым методом, основанным на определении DOC. Руководство по подготовке к испытанию таких сложных веществ приведено в международном стандарте ИСО 10643.

Обычно испытание биоразложения начинают с метода, использующего низкую плотность клеток, для ответа на вопрос, является ли испытуемое соединение биоразлагаемым в какой-нибудь среде. В таких простых испытаниях партиями полученное низкое или нулевое значение биоразложения в некоторых случаях может быть достаточным. В обратном случае может быть применен метод испытания с большей плотностью клеток, более длительной продолжительностью испытаний или с предварительным воздействием инокулята на химическое вещество. Если ожидается, что испытуемое вещество не подвержено биоразложению, имеет смысл начать с метода испытаний, использующего улучшенные условия, и выяснить, существует ли вообще возможность биоразложения или распада. Предварительно подготовленный инокулят может быть получен при одном из методов испытаний в соответствии с международными стандартами ИСО 9887 или ИСО 9888, использующими инокулят с высокой плотностью. По причине своей сложности такие методы испытаний, как метод симулирования активного ила (ИСО 11733) или метод, использующий речную модель (ИСО 14592-2), обычно не используют, пока не проведены более простые методы испытаний. Методы испытания биоразложения при анаэробных условиях или условиях морской среды проводят по специальному запросу, если требуется данная информация.

Для типовых исследований химических веществ значительной важностью обладает стратегия проведения испытаний Программы OECD по испытанию химических веществ. В приложении А приведены Руководства OECD, применяемые для испытаний биоразложения, и представлено их сравнение с международными стандартами ИСО. Методы, приведенные в данных руководствах, в целом схожи с международными стандартами ИСО, но международные стандарты являются более точными и четкими, чем руководства OECD.

Стратегия OECD заключается в том, чтобы в начале испытаний использовать простые методы с низкой плотностью клеток, то есть так называемые методы испытаний быстрого биоразложения, которые требуют следующих условий:

а) использование принятого стандартизированного метода испытаний, такого как руководство OECD 301A-F, или соответствующего метода испытаний ИСО такого же качества;

б) инокулят не подвергался предварительному воздействию;

с) испытания должны быть закончены за 28 дней;

д) используют один из следующих параметров: DOC, BOD или выделившийся диоксид углерода.

Данные предельные значения достигаются в течение 10 дней после начала фазы разложения, данное время определяют как время, когда степень минерализации превышает 10 % и как конец лаг-фазы. Предельные значения, которые должны быть достигнуты в течение данного времени, называют «10-дневным интервалом». Предельные значения достигаются при уменьшении DOC в сравнении с измеренной стартовой концентрацией больше 70 %, вычисленной BOD больше или равного 60 % от теоретически рассчитанного (ThOD) или количества выделившегося диоксида углерода больше или равного 60 % от теоретически рассчитанного (ThCO<sub>2</sub>).

Предполагают, что в случае выполнения приведенных условий «10-дневного интервала» полная минерализация также произойдет в природных условиях в течение 28 дней или в течение разумного времени. Данный факт может быть проверен при дальнейшим испытании, при котором в оставшееся время будет достигнута фаза плато, т. е. стадия, при которой разложение завершено, или сравнением результатов испытаний в более строгих условиях на первичную биоразлагаемость, или получением информации из реальной окружающей среды. Вещество получает метку «полностью биоразлагаемый» если выполнены приведенные критерии, в таком случае не требуется определение полной биоразлагаемости при других, более строгих, условиях испытания или в течение 28 дней при испытании на быстрое биоразложение. Данное допущение, однако, является разумным только для чистых химических веществ, но не обязательно будет верным для смесей химических веществ или химических веществ со значительной долей примесей. По этой причине химические вещества должны быть испытаны в как можно более чистой форме. С другой стороны, проведение испытаний поведения химических веществ в окружающей среде в соответствии с законами часто требуется проводить с использованием реально выпускаемой продукции со всеми примесями.

Следующим шагом для веществ, не являющихся быстро биоразлагаемыми, является необходимость показать первичную биоразлагаемость. Вещество считается первично биоразлагаемым, если при соответствующем методе испытаний оно показало полное биоразложение (минерализацию). Такие вещества не являются стойкими и, как предполагают, должны разлагаться в водной среде в среднесрочной или долгосрочной перспективе, например, на станциях водоочистки или в других природных условиях. Два основных метода испытаний на первичную биоразлагаемость — это руководства OECD 302 A и B, соответствующие международным стандартам ИСО 9887 и ИСО 9888. Также они могут быть использованы для целей предварительного воздействия на инокулят в других методах испытаний, например, в методах испытаниях международных стандартов ИСО 9408, ИСО 9439 или ИСО 14593.

Последняя группа испытаний в соответствии с концепцией OECD включает в себя методы испытаний с симуляцией, которые воспроизводят в лаборатории как можно ближе определенные природные условия, таким образом они дают более широкую и качественную информацию по механизму разложения веществ в природных условиях в сравнении с обычными испытаниями партиями. Однако существует не много стандартизованных методов испытаний. Наиболее известные методы испытаний, симулирующие активный ил (ИСО 11733), которые соответствуют OECD 303.

Другими методами испытаний в данной группе являются методы испытаний при помощи биопленки (OECD 303 B) и методы испытаний при низких концентрациях (международные стандарты (ИСО 14592-1 и ИСО 14592-2), которые симулируют водные поверхности.

Метка «полностью биоразлагаемое» является важным критерием для многих целей в области испытаний продукции. Полностью биоразлагаемое вещество, как предполагают, должно быстро и полностью разлагаться в любых аэробных условиях окружающей среды, в особенности в сточных водах станций водоочистки. Дальнейшие испытания биоразложения по этой причине не являются необходимыми и может быть снижена необходимость других экологических параметров, таких как биоаккумуляция и экотоксичность. Опыт, полученный в последние десятилетия при испытании множества веществ, показал, что существующие критерии биоразлагаемости не являются бесспорными. Исследования по испытаниям синтетических моющих средств и основных химических веществ, проведенные для Европейского законодательства, показали, что продукция, которая не выполнила критерии «полностью биоразлага-

емое», как выяснилось, в достаточной степени удаляется в условиях реальной окружающей среды и в методах испытаниях, использующих симуляцию. Критерии OECD для «полностью биоразлагаемого» вещества кажутся слишком строгими; по этой причине наиболее последние Европейские Регламенты по испытанию синтетических моющих средств больше не подразумевают «10-дневный период». Синтетическое моющее средство может рассматриваться как биоразлагаемое при условии, что при стандартном методе испытаний, основанном на BOD или выделении диоксида углерода, предельные значения больше или равные 60 % достигаются в течение 28 дней. Кроме того, необходимо учитывать, что синтетические моющие средства являются смесью различных химических соединений, а не чистыми химическими веществами. Поэтому биоразлагаемость моющих средств следует рассматривать иначе, чем биоразлагаемость чистых химических соединений.

Группа экспертов сравнила результаты испытаний полной биоразлагаемости, результаты испытаний первичной биоразлагаемости, испытаний, симулирующих различные условия, и данные из реальной окружающей среды (см. [1]). Вещества, которые достигли заданного уровня, равного 70 % DOC и больше или равного 60 % BOD или выделения диоксида углерода, в методах испытаний на полную биоразлагаемость были сопоставлены с высоким уровнем минерализации в испытаниях (больше 90 % снижения DOC или больше 75 % BOD или выделения диоксида углерода после 28 дней) или в окружающей среде. Статистические исследования более 800 результатов испытаний химических веществ показали, что выполнение условий «10 дневного периода» не давало примерно в одном случае из трех реального прогноза полной минерализации или из-за ложно-положительных, или из-за ложно-негативных возможных интерпретаций. При использовании в качестве показателя снижение DOC критерий полного биоразложения больше 70 % за 10 дней обычно достигался легче, чем при использовании потребления кислорода или выделения диоксида углерода, так как данные аналитические параметры базируются на конечном продукте, а не только на снижении количества вещества. Для достижения сравнимого уровня убедительности, такого как в методах испытаний, основанных на DOC, в методах испытаний, основанных на BOD или выделении диоксида углерода, необходим период времени в 15 дней и предельные значения больше или равные 60 %.

Новые аналитические методы позволяют осуществлять непрерывные измерения выделявшегося диоксида углерода или BOD и предоставляют достаточное количество точек, хорошо распределенных по периоду испытания. При помощи подходящих программ выравнивания экспериментальных данных для кривых биоразложения могут быть получены характеризующие показатели. Один из таких показателей — это значение  $A$ , которое описывает степень биоразложения при фазе плато, значение  $A$  выражают как степень биоразложения в процентах. Другим показателем является значение  $k$ , которое описывает степень биоразложения после начала фазы разложения. Значение  $k$  выражают в виде количественного параметра за единицу времени. Совокупность значения  $A$  и  $k$  дает надежную информацию как для степени, так и для скорости биоразложения вещества. Для методов испытаний, основанных на уменьшении DOC, подходящими к существующим критериям значения  $A$  и  $k$  должны быть соответственно больше 80 % и больше 0,3 в час, для испытаний, основанных на BOD или выделявшемся диоксиде углерода больше 75 % и больше 0,1 в час. Может быть продемонстрировано при помощи упомянутых статистических исследований, что вещества, выполнившие данные критерии, удаляются больше чем на 95 % при методе испытаний, симулирующих активный ил, или в реальных сточных водах станций водоочистки. Такой подход дает возможность для надежной альтернативы существующего критерия 10-дневного интервала и требует подробного обсуждения между учеными, регуляторами и промышленностью.

Таблица 1 — Обзор методов ИСО

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарии
5815-1	Качество воды. Определение биохимической потребности в ионспороде по истечении 1 суток (БПК). Часть 1. Метод разбавления и засева с добавлением аптиотомочинина	Разбавляют образцы воды для разведения, содержащей растворенный кислород, и содержащей после аэробных микробиогенезов и аптиотомочинину для предотвращения нитрификации. Ионсборурутют при 20 °С в течение обычно 5 дней в темноте. Определяют концентрации растворенного кислорода до и после инкубации. Взвешивают массу полученного кислорода на литья образца.	ИСО 5185-1 применим для всех видов воды со значением БПК более 3 мг/л и не превышающим 6 000 мг/л. Полученные результаты обеспечивают информацию о том, какого качества воды и в случае сравнения с СОД биоразлагаемость ее ингредиентов может быть достоверна	Для воды и сточных вод, не для веществ
5815-2	Качество воды. Определение биохимической потребности в ионспороде по истечении 1 суток (БПК п). Часть 2. Метод для неразбавленных проб	Сущность метода такая же, как в ИСО 5185-1, но оптимизированы условия испытания для определения низких значений ВОД.	ИСО 5185-2 применим для всех вод со значением ВОД более 0,5 мг/л и не более 6 мг/л	Только для воды, не для веществ
7827	Качество воды. Оценка способности органических соединений к быстрой и полной аэробному биоразложению в водной среде. Метод с применением органического растворенного углерода (DOC)	Групповая водная тест-система с испытыванием органических испытуемых компонентов как единого источника углерода и энергии для инокультуры аэробных смешанных микроорганизмов, обычного и активного ила 30 мг/л сухого вещества. Регулярно замеряют выделенный DOC для определения полной биоразлагаемости в течение 28 дней. Оценивают результаты испытания путем сравнения концентрации DOC в начале и в конце испытания. Дополнительно, спектральный анализ может использоваться для определения первичной биоразлагаемости.	ИСО 7827 применим для таких органических соединений, как: - растворимые в воде при концентрации испытания (от 10 мг/л до 40 мг/л DOC); - неподвижные или имеющие чисто малое давление паров; - несущественно адсорбируемые на стеклянной подложке и активном иле; - не являющиеся ингибиторами микроорганизмов при концентрации испытания	Только для испытуемых соединений, растворимых в воде
8 192	Качество воды. Испытание инибиционное полного ионсборурующего материала на полноту влияния ионсборурующим материалом активного ила. Активный ил в присутствии легко разлагаемого субстрата будет быстро поглощать ионсбород со скоростью, зависящей от концентрации микроорганизмов, материала и концентраций ионсборурующего материала может привести к снижению скорости поглощения ионсборода. Скорости измеряют после короткой выдержки (30 мин или 180 мин)	Метод применяется к любым испытуемым материалам. Особое внимание следует проявлять по отношению к плохо растворимым или летучим соединениям и к соединениям, которые потребляют или абсорбируют производят ионсбород. Два примера применения приведены, один лучше представляет условия на поверхности воды, другой представляет условия в биологическом воздействии на сточные воды заводов		

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Стандарт метода	Область распространения	Комментарии
		используемого материала с использованием кислородного электрода, а ингибирование в пренатах вычищают путем сравнения с таковым в контролльном соединении, содержащим только субстрат. Эффект ингибирования может включать гетеротрофную или умерододержащую респираторную и нитрификацию.		
9408	Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод определения полной аэробной биоразлагаемости путем определения кислородной потребности в закрытом респираторе	ИСО 9408 примененным к любым органическим соединениям. С остаточностью необходимо относиться к плохо растворимым в воде соединениям и легучим соединениям. Испытуемое вещество не должно достигнуть и превышать с абсорбентом $\text{CO}_2$ и оно не должно в испытательной концентрации ингибитировать деятельность микроорганизмов. Смесь встраивают 28 дней в закрытом респираторе. Измененный $\text{CO}_2$ абсорбируется и изначально изменения в давлении используется для установления BOD. BOD сравнивают с ThOD. Биоразложение выражают в процентах.	Метод, подходит для всех видов испытуемых материалов. Требуется респиратор, который производит продолжительные кратные биоразложения. BOD — чистый индикатор биоразлагающей способности. Аэтосодержащие испытуемые вещества могут нитрифицироваться, это следует принять во внимание при оценке конечного результата испытания.	
9439	Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод определения полной аэробной биоразлагаемости путем измерения количества выделенного диоксида углерода	ИСО 9439 примененным к любым органическим соединениям. С остаточностью необходимо относиться к плохо растворимым в воде соединениям и легучим соединениям. Испытуемое вещество не должно в испытательной концентрации ингибитировать деятельность микроорганизмов. Для соединений, растворимых в воде, удаление DOC может быть 10 мг/л до 40 мг/л в качестве инокулата обычного используют активный или 30 мг/л сухого веса. Смесь встраивают 28 дней. Выделившийся $\text{CO}_2$ улавливается во внешних сосудах и определяется подходящим аналитическим методом. Биогенный $\text{CO}_2$ сравнивают с теоретическим количеством ( $\text{Th CO}_2$ ). Биоразложение выражают в процентах. (Модификация испытания приведена в Приложении D. В качестве дополнительной информации удаление DOC определяют регулярно.	Метод, подходит для всех видов испытуемых материалов. Выделение $\text{CO}_2$ — чистый индикатор биоразлагаемости. С дополнительным измерением DOC хорошая дифференциация возможна между биоразложением и абсорбцией, например, адсорбцией.	

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарий
9509	Качество воды. Определение токсичности для оценки подавления нитрификации микроагрегатов активного ила	ИСО 9509 устанавливает метод для оценки токсичных ингибитирующих веществ на нитрифицирующую бактерию в активном иле. Ингибиторющее воздействие достигается после периода экспозиции 4 ч в параллельных сосудах в присутствии и в отсутствие испытуемого материала. Концентрация нитрита и нитрата, произведенный путем окисления аммония, оценивается и зафиксированы концентрации (ЕС-значения) вычисляются	Метод требует нитрифицирующий активный иле и он применен к неподгущим растворимым в воде веществам и сточных водам.	Специальное испытание с высоким испытанием для нитрификации без прогнозного зневлечения для испытаний биоразлагаемости.
9887	Качество воды. Оценка способности к аэробному биохимическому разложению органических соединений в водной среде. Полунепрерывный метод с применением активного ила (SCAS)	Полустатическая водная тест-система с использованием испытуемых соединений и легко биоразлагаемая органическая среда (коммунально-бытовые сточные воды) как источник углерода и энергии для инокулата активного ила с высокой плотностью. Ежедневно пополняют испытательные сосуды и сливают сточные воды и испытуемые соединения, и измеряют удаленный DOC в испытательном сосуде и в холостой пробе для определения полной биоразлагаемости за время испытания сроком до 26 недель. Оценка результатов испытания проводится путем сравнения концентрации DOC до и после процедуры наполнения-слива.	ИСО 9887 применение к следующим орга-ническим соединениям: - растворимые в воде при испытательной концентрации (от 20 мг/л до 50 мг/л DOC); - неподгущие или со слабым давлением паров; - отсутствуют потери при переносово-нии из испытательного раствора; - незначительно адсорбирующиеся на стеклянной подложке и активном иле; - не ингибирующие ростительность микроорганизмов в испытании в концентрации, используемой в данном испытании	Испытание с высоким испытанием биоразложением, особенно для соединений, которые не являются легко разлагаемыми, для сточных вод, включая ко-метаболическое разложение. Поправочный метод для поправки преддикции ион-куплата.
9888	Качество воды. Оценка способности органических соединений к конечному аэробному биоразложению в водной среде. Статическое испытание (метод Цан-Велленса)	Групповая водная тест-система с использованием органических испытуемых соединений как единственного источника углерода и энергии для инокулата высокой плотности смеси аэробных микроорганизмов (активный ил). Измерение удаленного DOC или COD для определения полной биоразлагаемости или выделение из воды в течение 28 дней. Оценка результатов испытания путем сравнения концентрации DOC в начале и в конце испытания.	ИСО 9888 применение к использо-ванию и биоразложения испытуемых соединений и сточных вод. Прогноз значение для стационарных очистки сточ-ных вод.	Групповой метод для оценки выполнения и биоразложения испытуемых соединений соединений и сточных вод. Правильный метод для поправки преддикции ион-куплата.

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарии
10634	Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Обработка малорастворимых в воде органических соединений для последующей оценки	Описание техник приготовления плохо растворимых в воде органических соединений и введение их в испытательные сосуды для последующего прохождения испытания биоразлагаемости в водной среде.	ИСО 10634 применен для плохо растворимых в воде испытуемых соединений	Метод испытания не является методом определения биоразложения
10707	Качество воды. Оценка способности органических соединений к окислению к окончному аэробному биологическому разложению в водной среде. Метод анализа биокинетической потребности в кислороде (испытание в закрытой склянке)	Групповая водная тест-система с использованием органических испытуемых соединений как единичного источника углерода и энергии для инокулата высокой плотности смеси аэробных микроорганизмов. Измерение ВОД проводят в полностью закрытой склянке для определения полной биоразлагаемости в течение 28 дней. Оценка результатов испытания производится путем сравнения ВОД с ThOD.	ИСО 10707 применен к следующим органическим соединениям: - растворимые в воде при испытательной концентрации (от 2 млн до 10 млн ДОС); - нерастворимые в воде в условиях испытания при условии, что используется подходящая техника дозировки; - получение при условии, что используется подходящая техника дозировки; - не ингибирующие деятельность микрорганизмов в испытании менее низкой концентрации, используемой в данном испытании	Метод испытания для низких концентраций особенно рекомендуется для летучих и токсичных испытуемых соединений. Условия испытания выывают более низкий потенциал биоразложения.
10708	Качество воды. Оценка способности органических соединений к окончному биологическому разложению в водной среде. Определение биохимической потребности в кислороде при двухфазном испытании в закрытой склянке	Групповая водная тест-система с использованием органических испытуемых соединений как единичного источника углерода и энергии для инокулата смеси аэробных микроорганизмов. Измеряют ВОД в закрытой склянке с помощью метода инокулата смеси аэробных микроорганизмов на растворимом над образцом для определения полной биоразлагаемости в течение 28 дней. Оценивают результаты испытания путем сравнения ВОД, включая поправку кислорода в пространстве над образцом с ThOD.	ИСО 10708 применен к следующим органическим соединениям: - растворимые в воде при испытательной концентрации (100 млн ДОС); - нерастворимые в воде при испытательной концентрации при условии, что используется подходящая техника дозировки;	Метод испытания особенно подходит для растворимых соединений при использовании простого оборудования - не существенно адсорбирующие или реагирующие с кислородным электродом; - не ингибирующие деятельность микрорганизмов в испытании при низкой концентрации, используемой в данном испытании

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарий
10712	Качество воды. Испытание на торможение роста <i>Pseudomonas putida</i> (испытание на подавление размножения клеток <i>Pseudomonas</i> )	ИСО 10712 устанавливает метод оценки эффекта ингибиорования образца <i>Pseudomonas putida</i> путем измерения роста клетки при различных разведениях испытуемого образца в сравнении с ростом клетки культуры, полученной при тех же самых условиях, но без испытуемого образца. Определение концентрации клеток осуществляют по оптической плотности после испытания в течение 16 ч. Вычисляют ЕС <sub>10</sub> и ЕС <sub>50</sub> .	ИСО 10712 применен для сточных вод и химических веществ. Не подходит для высококоагуляционных образцов, для образцов с нерастворимыми или липучими материалами или материальными, которые реагируют с питательной средой или претерпевают изменения во время испытания.	Испытание не рекомендуется для прогнивания бактерий в испытаниях биоразложения или очистки сточных вод.
11348-1 11348-2 11348-3	Качество воды. Определение светового излучения культурой <i>Vibrio fischeri</i> . Критерии испытания — возрастание люминесценции, измеренной после контакта 15 мин или 30 мин в люминометре. Вычисляют ЕС <sub>20</sub> и ЕС <sub>50</sub> .	Определение светового излучения культуры <i>Vibrio fischeri</i> . Критерии испытания — возрастание люминесценции, измеренной после контакта 15 мин или 30 мин в люминометре. Вычисляют ЕС <sub>20</sub> и ЕС <sub>50</sub> .	ИСО 11348-1, ИСО 11348-2 и ИСО 11348-3 применямы для сточных вод, водных экстрактов и продуктов высушивания, свежей воды, морской и соленоватой воды, для паровых вод.	Испытание не рекомендуется для прогнивания бактерий в испытаниях биоразложения или очистки сточных вод.
11733	Качество воды. Оценка эллиниации и биоразложение органических соединений в водной среде. Испытание методом моделирования с применением активного ила	Работающая в непрерывном режиме водная тест-система с использованием органических испытуемых соединений и легко биоразлагаемой органической среды (посевной материала) как источника углерода и энергии для инициации аэробных микроорганизмов (сточные воды). Продолжительное добавление сточных вод и используемого соединения в испытательные сосуды и измерение ДОС и СОД на входе и выходе испытуемой полной биоразлагаемости в рамках проведения испытания — 12 недель. Оценка результатов испытания проводится путем вычисления удаленного ДОС. Дополнительно может быть проведен специальный анализ для определения первичной биоразлагаемости испытуемого соединения.	ИСО 11733 применен к следующим органическим соединениям: - растворимые в воде или удовлетворительно дисперсные при испытательной концентрации (от 10 мг/л до 20 мг ДОС); - неагрупные или со слабым давлением паров; - не инициирующие деятельность микробиозов в испытании в концентрации, используемой в данном испытании	Испытание используется в случае, если требуется подробная информация для станций очистки сточных вод.

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарии
11734	Качество воды. Оценка способности органических соединений к «полному» аэробному биолого-химическому разложению в созревшем иле. Метод измерения образующегося биогаза	Групповая водная тест-система с испытыванием органических соединений в воде для оценки аэробной биоразлагаемости.	ИСО 11734 применим к следующим органическим соединениям: - растворимые в воде при испытательной концентрации (от 20 мг/л до 100 мг/л органического углерода); - нерастворимые в воде при испытательной концентрации при условии, что используется подходящая техника дозировки; - получившие при условии, что используется проходящая техника дозировки (выбор решения на основе анализа конкретных вариантов); - не инициирующие деятельность микрорганизмов в испытании менее низкой концентрации, используемой в данном испытании	Испытание используется для оценки аэробной биоразлагаемости.
13641-1	Качество воды. Расчет процесса торможения газообразования аэробными бактериями. Часть 1. Общий тест	Скрининг-метод для оценки потенциальной аэробной токсичности. Аликвоты смеси нерастворенного аэробного переработанного мяса и разлагаемого субстрата инкубируют алюп (control) и одновременно с различными концентрациями испытуемого материала в закрытых бутылках в течение 2–3 дней при температуре 35 °С. Скорость роста аэробных бактерий намного ниже по сравнению с аэробными микробиогенами. По этой причине периоды испытания в аэробных методах дольше, чем при испытаниях с аэробными бактериями. Количество произведенного биогаза изменяют путем увеличения в давлении в испытываемой и контролльной бутылках. Рассчитывают ингибицию в процентах и эффективные концентрации, такие как EC <sub>50</sub> .	ИСО 13641-1 применим для веществ, которые растворимы и нерастворимы в воде, включая летучие химические соединения, смеси, сточные воды, фильтраты, или иные другие природные источники, которые способны производить биогаз из аэробного расщепления осадков сточных вод за период более 3 дней. Полученная таким методом информация является руководством по вероятному воздействию испытуемого материала на проквачество биотаза в аэробных реакторах и может также быть полезной в выборе поддающих начальных концентраций для испытания аэробной биоразлагаемости.	Данный метод рекомендуем для прогнозирования токсичных эффектов в аэробных реакторах.
13641-2	Качество воды. Расчет процесса торможения газообразования аэробными бактериями. Часть 2. Тест на низкие концентрации биомассы	Скрининг-метод для оценки потенциальной аэробной токсичности. Аликвоты смесей разбавленного переработанного ила другого разложения и аэробного субстрата инкубируют по отдельности и одновременно с различными концентрациями испытуемого материала в закрытых бутылках в течение нескольких дней при температуре 35 °С.	ИСО 13641-2 применим для веществ, которые растворимы или нерастворимы в воде, включая летучие химические соединения, смеси, сточные воды, фильтраты, или иные другие природные источники, которые способны производить биогаз в течение нескольких дней при температуре 35 °С.	Данный метод рекомендуем для прогнозирования токсичных эффектов в естественных аэробных условиях окружающей среды и в качестве

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарий
		Скорость роста анаэробных бактерий наимного нике по сравнению с аэробными микроорганизмами. По этой причине периоды испытания в анаэробных методах дольше, чем при испытаниях с аэробными бактериями. Количество произведения биогаза измеряют путем увеличения в давлении в испытуемой и контрольной бутылках до и после добавления кислоты для выделения диоксида углерода карбонатами. Инкубация может быть собран из анаэробных осадков или из промышленных или лабораторных анаэробных реферуаров. Информация, полученная при помощи данного метода, может быть полезна перед проведением испытания анаэробной биоразлагаемости с низкими концентрациями инокулата и для оценки потенциальных воздействий химических веществ и сточных вод на анаэробные процессы в естественной среде, характеризуемой относительно низкой анаэробной биомассой, например, естественные осадочные отложения и почвы.	в анаэробных условиях с низкой концентрацией биомассы. Скорость роста анаэробных бактерий намного ниже по сравнению с аэробными микроорганизмами. Инкубация может быть собран из анаэробных осадков или из промышленных или лабораторных анаэробных реферуаров. Информация, полученная при помощи данного метода, может быть полезна перед проведением испытания анаэробной биоразлагаемости с низкими концентрациями инокулата и для оценки потенциальных воздействий химических веществ и сточных вод на анаэробные процессы в естественной среде, характеризуемой относительно низкой анаэробной биомассой, например, естественные осадочные отложения и почвы.	предварительного испытания для анаэробных испытаний с разлагаемостью.
14592-1	Качество воды. Оценка способности к биологическому разложению органических соединений при низких концентрациях в аэробных условиях. Часть 1. Испытание партии колб с поверхностью водой или супензиями поверхности воды и осадка методом взбалтывания	Тест-система моделирует условия групповой аэробной поверхностной водной системы. Определение первичной биоразлагаемости растворимого в воде испытуемого соединения в условиях реальной окружающей среды, особенно при низких концентрациях. Полная биоразлагаемость может быть определена, если испытываемое вещество помечено радиоизотопом в соответствии с соответствующей позиции (позициях).	ИСО 14592-1 применен для органических соединений, которые: - известно, что они являются биоразлагаемыми; - растворимые в воде при испытательной концентрации; - не летучие и для которых доступен аналитический метод, специфичный для вещества или веществ, помеченных радиоизотопом.	Относительная простоя метода определения концентрации биоразложения в условиях реальной окружающей среды в групповой системе.
14592-2	Качество воды. Оценка способности к биологическому разложению органических соединений при низких концентрациях в аэробных условиях	Тест-система моделирует условия динамичной аэробной водной системы (реки). Определение первичной биоразлагаемости растворимого в воде испытуемого соединения в условиях реальной окружающей среды, особенно при низких концентрациях. Полная биоразлагаемость может быть определена, если испытуемое	ИСО 14592-2 применен для органических соединений, которые: - известно, что они являются биоразлагаемыми; - растворимые в воде при испытательной концентрации; - не летучие	Комплексный метод испытания для определения концентрации биоразложения в условиях реальной окружающей среды в динамической системе

Продолжение таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарии
14593	Часть 2. Модель реки с непрерывным течением с характерной биомасой	Групповая водная тест-система с использованием органических источников содинений как для инокулята смеси анаэробных микроорганизмов. Газонапорцизмые закрытые колбы с достаточным количеством жидкости в свободном пространстве над жидкостью. Измерение биогене производственного CO <sub>2</sub> , после прямого подсчета газовой фазы или после подрешаления в форме DIC для определения полной биоразлагаемости в течение 28 дней. Оценивают результаты испытания путем сравнения выхода CO <sub>2</sub> с теоретическим количеством.	ИСО 14593 применим к следующим органническим соединениям: - растворимые в воде при испытательной концентрации (20 мг/л DIC); - нерастворимые в воде в условиях испытания; - летучие; - не ингибирующие деятельность микробиорганизмов при испытательной концентрации	Метод испытания для растворимых в воде, плохо растворимых и летучих испытуемых соединений с испытательным анализатором, параметром строго биологического происхождения.
15522	Качество воды. Определение ингибиторющего воздействия водных компонентов на рост микроорганизмов активного ила	ИСО 15522 устанавливает метод оценки потенциальной токсичности испытуемого материала к росту аэробных бактерий, присутствующих в активном иле. Колбы, содержащие органическую среду испытания и испытуемый материал, выдерживают с ночной культивацией микроорганизмов активного ила и выдерживают в перемешивающем устройстве при 22 °С. Общая продолжительность испытания обычно составляет 6 ч, включая время выдерживания около 4,5 ч. Биомасса этих культур и холостой пробы без испытуемого материала определяется, например, путем измерения мутности в спектрофотометре. Ингибирование роста в процентах в юнионе вычисляют путем сравнения холостой пробы и наносится на график против концентрации испытуемого материала для получения эффективных концентраций, таких как значение EC <sub>50</sub> .	ИСО 15522 применим для воды, сточных вод и веществ, которые растворимы в воде в условиях испытания. Особое внимание следует проявить к летучим, окрашенным и непрозрачным испытуемым материалам. Информацию, полученную данным методом, можно будет пополнить в оценке токсичного действия на активный ил и в выборе пороходящих начальных концентраций для испытаний аэробной биоразлагаемости.	Подходящее испытание для определения токсичного воздействия в активном иле.

Скжнчнние таблицы 1

Номер ИСО	Наименование	Сущность метода	Область распространения	Комментарий
16221	Качество воды. Определение ингибитирующего воздействия водных компонентов на рост микроорганизмов активного ила	ИСО 16221 устанавливает 5 методов для определения полной аэробной биоразлагаемости органических соединений в морской среде аэробными микроорганизмами в групповых водных тест-системах. Стандартные методы разложения, разработанные для испытания взвешенной воды, модифицированы и адаптированы для условий морской воды. Эти методы специфичны: ИСО 7827, ИСО 10707, ИСО 10708, ИСО 9439 и ИСО 14593. Испытуемые смеси готовят, помешивая естественный или искусственный морскую воду, морские бактерии и органические соединения в качестве единого источника углерода и энергии в подходящей концентрации. Испытываемые смеси и контрольные составы инкубируют при желаемой температуре. Полное биоразложение, следующее за указаным периодом, измеряют путем суммирования параметров DO <sub>2</sub> , BOD <sub>5/10D</sub> , CO <sub>2</sub> /TnCO <sub>2</sub> , как описано в соответствующих основных методах испытания для свежей воды. Если требуется и если доступен аналитический метод, специфичный для вещества, информация о первичной разлагаемости может быть получена путем измерения потери испытуемого соединения во время испытания или биоразложение может быть определено при низкой концентрации испытываемым почвенным радиосорбидентным изотопом (обычно <sup>14</sup> C). Испытуемых соединений	ИСО 16221 применим к сплошному органическим соединениям: - растворимые в воде в условиях испытываемого испытания; - плохо растворимые в воде в условиях испытания, когда специальные среды измерений могут быть необходимы для достижения хорошо дисперсии соединения; - поглучие при условии, что испытываются подходящий метод испытания с подходящими условиями;	Методы испытания рекомендованы для мониторинга биоразложимости в условиях морской среды.
18749	Качество воды. Адсорбция веществ на активном иле. Групповое испытание с применением специальных аналитических методов	ИСО 18749 устанавливает метод для определения адсорбции веществ на активном иле или первичном иле на стационарной очистке воды. Испытуемая смесь содержит неорганическую среду, активный ил и испытуемое соединение. Плотность неорганической среды, концентрация взвешенных твердых частиц активного ила и количество добавленного испытуемого соединения задаются и моделируют реальные условия стационарной очистки воды. Измерение концентрации испытуемого соединения с использованием аналитического метода, специфичного для вещества, происходит в начале, во время испытания и в конце испытания. Измерение значений испытываемого соединения в ступени адсорбции и, при необходимости, изофорфийный баланс.	Метод рекомендуется для плохо биоразлагаемых растворимых в воде веществ.	Метод рекомендуется для вещества, которые не теряют при удалении, испытывании и испытательного раствора и не мешают флокуляционному осадку ила.

**Приложение А**  
**(справочное)**

**Сравнение международных стандартов ИСО и Руководств ОЭСР**

**Таблица А.1**

Номер	Год	Руководство ОЭСР	Сравниваемый международный стандарт
301 A	1993	Полная биоразлагаемость: «DOC» Метод испытания на удаление растворенного органического углерода	ИСО 7827
301 B	1993	Полная биоразлагаемость: метод испытаний на основе оценки $\text{CO}_2$	ИСО 9439
301 C	1993	Полная биоразлагаемость: модифицированный MITI тест (I)	—
301 D	1993	Полная биоразлагаемость: испытание в закрытой емкости	ИСО 10707
301 E	1993	Полная биоразлагаемость: модифицированный мониторинговый тест OECD	ИСО 7827
301 F	1993	Полная биоразлагаемость: манометрический респираторный метод	ИСО 9408
302 A	1993	Первичная биоразлагаемость: модифицированный метод SCAS	ИСО 9887
302 B	1993	Первичная биоразлагаемость: метод Захн-Веленса/метод EMPA	ИСО 9888
302 C	1993	Первичная биоразлагаемость: модифицированный MITI тест (I)	—
302 D	2001 (проект)	Первичная биоразлагаемость: метод испытания Concawe	—
303 A	2001	Симулирующий метод испытаний: аэробная обработка сточных вод; Объекты с активным илом	ИСО 11773
303 B	2001	Симулирующий метод испытаний: аэробная обработка сточных вод; биопленки	—
306	1992	Биоразлагаемость в морской воде	ИСО 16221
308	2001	Аэробные и анаэробные преобразования в водных системах отстаивания	—
309	2001	Аэробная минерализация на водной поверхности — симулирующий метод испытания биоразложения	ИСО 14529
310	2001 (проект)	Полная биоразлагаемость: $\text{CO}_2$ в закрытых емкостях (метод испытания, основанный на воздушной прослойке)	ИСО 14593
311	2001 (проект)	Полная анаэробная биоразлагаемость: образование газа из растворенного анаэробного ила сточных вод	ИСО 11734

## Библиография

- [1] N OPENS, I., V ERBRUGGE, T. S EGHERS, D. and V ANROLLEGHEM, P. OECD Criteria for Ready Biodegradability: Environmental Interpretation and Study of Alternatives, COST 624 WG4. Rome, 2001
- [2] R EUSCHENBACH, P., P AGGA, U. and S TROTMANN , U. (2003). A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods. *Water Res.*, 37, 2003, pp. 1571—1582
- [3] S TROTMANN, U., R EUSCHENBACH, P., S CHWARZ, H. and P AGGA, U. Development and evaluation of an online CO<sub>2</sub> evolution test and a multicomponent biodegradation test system. *Appl. Env. Microbiol.*, 70, 2004, pp. 4621—4628
- [4] ISO 5815-1. Water quality — Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD n) — Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition
- [5] ISO 5815-2. Water quality — Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD n) — Part 2: Method for undiluted samples
- [6] ISO 6107-3:1993. Water quality — Vocabulary — Part 3
- [7] ISO 7827. Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the «ultimate» aerobic biodegradability of organic compounds — Method by analysis of dissolved organic carbon (DOC)
- [8] ISO 8192. Water quality — Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge (carbon and ammonium oxidation)
- [9] ISO 9408. Water quality — Evaluation in an aqueous medium of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium by determination of oxygen demand in a closed respirometer
- [10] ISO 9439:1999. Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Carbon dioxide evolution test
- [11] ISO 9509. Water quality — Toxicity test for assessing the inhibition of nitrification of activated sludge microorganisms
- [12] ISO 9887. Water quality — Evaluation of aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Semi-continuous activated sludge method (SCAS)
- [13] ISO 9888. Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Static test (Zahn-Wellens method)
- [14] ISO 10634. Water quality — Guidance for the preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their biodegradability in an aqueous medium
- [15] ISO 10707. Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the «ultimate» aerobic biodegradability of organic compounds — Method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test)
- [16] ISO 10708. Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds — Determination of biochemical oxygen demand in a two-phase closed bottle test
- [17] ISO 10712. Water quality — *Pseudomonas putida* growth inhibition test (*Pseudomonas* cell multiplication inhibition test)
- [18] ISO 11348-1. Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) — Part 1: Method using freshly prepared bacteria
- [19] ISO 11348-2. Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) — Part 2: Method using liquid-dried bacteria
- [20] ISO 11348-3. Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) — Part 3: Method using freeze-dried bacteria
- [21] ISO 11733. Water quality — Determination of the elimination and the biodegradability of organic compounds in an aqueous medium — Activated sludge simulation test
- [22] ISO 11734. Water quality — Evaluation of the «ultimate» anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge — Method by measurement of the biogas production
- [23] ISO 13641-1. Water quality — Determination of inhibition of activity of gas production of anaerobic bacteria — Part 1: General test
- [24] ISO 13641-2. Water quality — Determination of inhibition of activity of anaerobic bacteria — Part 2: Test for low biomass concentration
- [25] ISO 14592-1. Water quality — Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations — Part 1: Shake-flask batch test with surface water or surface water/sediment suspensions
- [26] ISO 14592-2. Water quality — Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations — Part 2: Continuous flow river model with attached biomass
- [27] ISO 14593. Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Method by analysis of inorganic carbon in sealed vessels (CO<sub>2</sub> headspace test)

- [28] ISO 15522, Water quality — Determination of the inhibitory effect of water constituents on the growth of activated sludge microorganisms
- [29] ISO 16221, Water quality — Guidance for determination of biodegradability in the marine environment
- [30] ISO 18749, Water quality — Adsorption of substances on activated sludge — Batch test using specific analytical methods

УДК 551.464.3:006.354

ОКС 13.060.70

Ключевые слова: качество воды, биоразлагаемость органических соединений, водная среда, метод оценки

---

Редактор *Р.В. Старшинов*  
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*  
Корректор *Е.Д. Дульнеева*  
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 08.07.2016. Подписано в печать 28.07.2016. Формат 60×84 1/16. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,97. Тираж 33 экз. Зак. 1793.  
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта.

---

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