



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
33036—  
2014

**МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ,  
ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ  
СРЕДЫ**  
**Определение острой токсичности для дождевых червей**  
**(OECD, TestNo207:1984, IDT)**

Издание официальное



Зарегистрирован  
№ 9956  
20 октября 2014 г.



## Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной 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 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык руководящего документа, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол 71-П от 20 октября 2014 г.)

За принятие стандарта 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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test No 207:1984 Earthworm, Acute Toxicity Tests (ОЭСР, Тест № 207 Определение острой токсичности для дождевых червей)

Перевод с английского языка (en).

Степень соответствия – идентичная (IDT)

### 5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных (государственных) органов по стандартизации.*

*В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация также будет опубликована в сети Интернет на сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»*

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств.

**МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ  
ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ****Определение острой токсичности для дождевых червей**

Test methods for chemicals of environmental hazard. Earthworm acute toxicity tests

Дата введения —

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает метод определения острой токсичности химических веществ для дождевых червей.

**2 Термины и определения**

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

**2.1 медианное значение летальной концентрации (LC<sub>50</sub>):** Концентрация химического вещества в пищевом рационе, которая приводит к 50 %-ной гибели тестируемых животных.

**П р и м е ч а н и е** — Для контактного теста концентрацию вещества выражают в миллиграммах на квадратный сантиметр, для теста с искусственной почвой — в миллиграммах на килограмм (сухой массы почвы).

**3 Принцип теста**

Скрининговый тест (контактный тест с фильтровальной бумагой) включает воздействие на червей тестируемого вещества, нанесенного на влажную фильтровальную бумагу, и позволяет идентифицировать вещества, потенциально токсичные для дождевых червей.

Тест с искусственной почвой включает экспозицию дождевых червей в специально приготовленной искусственной почве, содержащей тестируемое вещество в определенном диапазоне концентраций. Гибель дождевых червей оценивается на 7-й и 14-й день после применения тестируемого вещества.

В серии тестируемых концентраций вещества одна концентрация не должна вызывать гибели, а еще одна — должна приводить к гибели всех червей.

**4 Информация о тестируемом веществе**

Должна быть известна следующая информация о тестируемом веществе:

- растворимость в воде;
- давление паров;
- структурная формула;
- чистота;
- стабильность в воде, почве и на свету;
- коэффициент распределения н-октанол/вода;
- результаты теста на способность к биоразложению.

## 5 Вещество сравнения

Вещество сравнения в тесте для определения  $LC_{50}$  должно выбираться по собственному усмотрению и гарантировать, что лабораторные условия, в которых проводят опыты, соответствуют требованиям и не подвержены существенным временным изменениям. Оптимальным веществом сравнения, удовлетворяющим этим условиям, является хлорацетамид.

## 6 Достоверность теста

Тест считается достоверным, если гибель червей в контроле не превышает 10 % к концу испытания.

## 7 Описание теста

### 7.1 Оборудование и материалы

Обычное лабораторное оборудование и специальные принадлежности:

- культура дождевых червей (см. 7.2);
- фильтровальная бумага среднего качества толщиной примерно 0,2 мм и плотностью от 80 до 85 г/м<sup>2</sup>;
- искусственный почвенный субстрат, приготовленный следующим образом:
  - 10 % сфагнового сухого и тонко растертого торфа (рН 5,5—6,0; без видимых растительных остатков);
  - 20 % каолиновой глины (с содержанием каолина около 30 %);
  - 70 % промышленного песка (предпочтителен мелкий песок с преобладанием частиц размером от 50 до 200 микрон — более 50 %).

рН в искусственном субстрате регулируют в пределах  $6,0 \pm 0,5$  карбонатом кальция [1]. Сухие составные части тщательно смешивают в строго установленных пропорциях, каждый раз взвешивая общую массу. Влажность смеси определяют при высушивании небольшого количества образца при температуре 105 °С. Деионизированную воду добавляют к полученной смеси до влажности примерно 35 % сухой массы таким образом, чтобы при сжатии субстрата в руке не выделялась вода. Для некоторых видов торфа приемлемым будет и более высокое содержание влаги.

Сосуды, используемые в тесте, должны быть стеклянными — вместимостью около 1 л и должны быть покрыты стеклянными крышками или перфорированной пленкой.

Освещение лабораторной комнаты или камеры должно контролироваться в пределах от 400 до 800 Люкс, температура —  $(20 \pm 2)$  °С.

### 7.2 Экспериментальные животные

Рекомендуемый вид дождевых червей для теста — *Eisenia foetida* (Michaelsen). Этот вид не совсем типичен для традиционных типов почв и обычно обитает в почвах, богатых органическим веществом. Он чувствителен к химическим веществам, имеет короткий жизненный цикл — черви выводятся из коконов за 3—4 недели и достигают половой зрелости за 7—8 недель при температуре окружающей среды 20 °С. Вид очень плодовитый, взрослый червь производит от 2 до 5 коконов в неделю, из которых выводятся другие черви. Коконы можно приобрести или разводить, разделив популяцию на части (см. приложение А).

*Eisenia foetida* существует в виде двух рас червей, морфологически сходных между собой [2]. Но одна раса — *E. foetida foetida* имеет типичные поперечные полоски на сегментах, а другая — *E. foetida andrei* не имеет таковых и более красного цвета. В тесте используют *E. foetida foetida*, однако возможно использование и другой расы.

Для опытов берут взрослых червей (в возрасте от двух месяцев) и живой массой от 300 до 600 мг.

### 7.3 Выполнение теста

#### 7.3.1 Тест с фильтровальной бумагой

Рекомендуются плоскодонные стеклянные колбы с плоским дном или другие стеклянные сосуды, высотой 8 см и диаметром 3 см с плоским дном, стенки которых покрывают фильтровальной бумагой, нарезанной таким образом, чтобы ее края частично перекрывали друг друга.

Тестируемое вещество известной концентрации растворяют в дистиллированной воде (если растворимость вещества не менее 1000 мг/л) или в наиболее подходящем органическом растворителе