

**МИНИСТЕРСТВО ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**УТВЕРЖДАЮ**  
Директор ФГУ «Федеральный  
научно-методический центр ана-  
лиза и мониторинга окружающей  
среды МПР России»

  
Г. М. Цветков  
«           2004 г.

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

**МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ  
ПОВЕРХНОСТНЫХ, В ТОМ ЧИСЛЕ МОРСКИХ, ГРУНТОВЫХ,  
ПИТЬЕВЫХ, СТОЧНЫХ ВОД, ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ПОЧВ,  
ОТХОДОВ, ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД ПО ИЗМЕНЕНИЮ  
ИНТЕНСИВНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ  
ТЕСТ-СИСТЕМОЙ «ЭКОЛЮМ»**

**ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04  
Т 16.1:2.3:3.8-04**

**Методика допущена для целей государственного  
экологического контроля**

**Москва 2004 г.  
(издание 2010 г.)**

Право тиражирования и реализации принадлежит разработчику и ФБУ «ФЦАО».

Методика рассмотрена и одобрена ФГУ «Федеральный научно-методический центр анализа и мониторинга окружающей среды МПР России (ФГУ «ФЦАМ МПР России»)



С.А. Струков

ФБУ «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия» Росприроднадзора (ФБУ «ФЦАО»)  
(ранее ФГУ «ФЦАМ» МПР России)  
Адрес: 117105, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 39А  
Телефон/факс: (495) 781-64-95; телефон: (495) 943-29-44  
[www.fcao.ru](http://www.fcao.ru)

Разработчик:  
ЗАО «НВО Иммунотех»  
Адрес: 119991, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 11 «А»  
Телефон: (495) 939-46-83  
Факс: (495) 932-88-96.

---

Полное или частичное тиражирование, копирование и размещение в Интернете и на любых других носителях информации данных материалов без письменного разрешения разработчика и ФГУ «ФЦАО» преследуется по ст. 146 Уголовного Кодекса Российской Федерации.

## НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Настоящий документ устанавливает методику определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов из объектов окружающей среды (почва, отходы производства и потребления, осадки сточных вод) в лабораторных и полевых условиях с использованием измерительного прибора «Биотокс-10» и тест-объекта «Эколом».

### 1 ПРИНЦИП МЕТОДИКИ

В качестве тест-объекта используется препарат лиофилизированных люминесцентных бактерий «Эколом» или бесклеточного экстракта из этих бактерий. Методика основана на определении изменения интенсивности биолюминесценции бактерий при воздействии химических веществ, присутствующих в анализируемой пробе, по сравнению с контролем. Уменьшение интенсивности биолюминесценции пропорционально токсическому эффекту.

Острое токсическое действие исследуемой пробы на препарат «Эколом» определяется по гашению интенсивности биолюминесценции за 5-30-ти минутный период экспозиции.

Количественные оценки тест-реакции выражаются в виде безразмерной величины - индекса токсичности «Т» и функциональными токсикологическими параметрами EC20 и EC50.

Индекс токсичности «Т», равный отношению  $T=100(I_0-I)/I_0$ , где  $I_0$  и  $I$  соответственно интенсивность биолюминесценции контроля и опыта при фиксированном времени экспозиции исследуемой пробы с бактериями.

Методика допускает три пороговых уровня индекса токсичности:

- 1) допустимая степень токсичности образца: индекс токсичности  $T$  меньше 20;
- 2) образец токсичен: индекс  $T$  равен или больше 20 и меньше 50;
- 3) образец сильно токсичен: индекс токсичности  $T$  равен или более 50.

Ряд проб вызывает активацию свечения тест-системы и регистрируется отрицательное значение индекса токсичности. В таком случае индекс  $T$  принимается равным нулю.

Токсикологические параметры пробы EC20 и EC50, определяемые также посредством измерения  $I_0$  и  $I$ , позволяют быстро и экономно выяснить вопрос, при каких объемах исходного слабо токсического образца достигается установленный предел токсичности (EC20 и/или EC50) или при каких разведениях сильно токсический образец станет безопасным (величины менее EC20).

ЕС50 – эффективный объем образца (в опытах с чистым химическим соединением - концентрация), вызывающий тушение свечения биосенсора на 50 % по сравнению с контролем. В этом случае образец сильно токсичен (индекс токсичности равен 50). ЕС20 – эффективный объем образца, (в опытах с чистым химическим соединением - концентрация) который приводит к 20 %-ному тушению свечения биосенсора по сравнению с контролем. В этом случае образец токсичен (индекс токсичности равен 20). Все значения величин менее ЕС20 свидетельствуют о том, что образец безвреден для человека.

Вычисление величин ЕС проводят с использованием гамма-функции (G), представляющей собой зависимость отношения потери интенсивности свечения пробы к оставшейся интенсивности свечения пробы и описывается формулой  $G=(I_0-I)/I$ , где  $I_0$  и  $I$  соответственно интенсивность биоломинесценции в контроле и опыте. Люминометр «Биотокс-10» автоматически вычисляет величину индекса токсичности, параметров ЕС20 и ЕС50 и погрешность измерения.

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОГРЕШНОСТИ

Методика выполнения измерений обеспечивает получение результатов измерений с погрешностью, не превышающей значений:

2.1 Показатель точности –  $|\Delta_n| = |\Delta_B| = \Delta$  – границы, в которых находится погрешность методики составляет  $\pm 0,30T$  при вероятности  $P=0,95$ .

2.2 Показатель повторяемости –  $\sigma_r$  – среднее квадратическое отклонение результатов определений, полученных по методике в условиях повторяемости составляет  $0,07T$ .

2.3 Показатель воспроизводимости –  $\sigma_R$  – среднее квадратическое отклонение результатов измерений, полученных по методике в условиях воспроизводимости составляет  $0,15T$ .

2.4 Предел повторяемости –  $\tau$  – допускаемое расхождение между тремя результатами параллельных определений – составляет  $0,23 T$  при вероятности  $0,95$ .

2.5 Предел воспроизводимости –  $R$  – допускаемое расхождение между двумя результатами, полученными в разных лабораториях – составляет  $0,42 T$  при вероятности  $0,95$ .

2.6 Значения показателя точности методики используют при:

- оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;

- оценке деятельности лабораторий на качество проведения испытаний;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики выполнения измерений в конкретной лаборатории.

### **3 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ И ПОСУДА**

Тест-система «Эколюм», ТУ 2639-236-00209792-01;  
прибор-люминометр серии «Биотокс-10», с набором кювет для измерения биолуминесценции объемом 1,5 см<sup>3</sup>;  
весы лабораторные общего назначения, ГОСТ 24104-2001;  
весы лабораторные технические, ГОСТ 24104-2001;  
рН-метр любого типа;  
насос вакуумный любого типа, например, водоструйный стеклянный, ГОСТ 25336-82;  
термометр лабораторный ртутный, 0-55°С, цена деления шкалы – 0,5 °С, ГОСТ 13646-68;  
подставка (из пластика, дерева) с углублением для пенициллиновых пузырьков или измерительных кювет на 12 кювет;  
сушильный электрический шкаф, позволяющий поддерживать температуру (105±5) °С;  
холодильник бытовой, обеспечивающий замораживание (-18±1°С) и хранение проб (2-4°С);  
кондуктометр любого типа, обеспечивающий измерение на уровне 1-10 мкСм/см;  
часы сигнальные, ТУ 25-07-57;  
аппараты для встряхивания, тип АБУ-1, АБУ-10Р, ТУ 64-1-1081;  
бумажные фильтры обеззоленные типа ФОБ (красная, белая, синяя ленты), ТУ 6-09-1678-86;  
буры почвенные;  
ножи почвенные, ГОСТ 23707-95;  
лопаты, ГОСТ 19596-87;  
лабораторный дисковый истиратель для измельчения проб почвы, тип ИДА-175, ЛДИ-65, ТУ 482251;  
пилетки автоматические, дозаторы любого типа объемом 0,02-1,0 см<sup>3</sup> ± 1,0 %;  
цилиндры вместимостью 25, 50 см<sup>3</sup> 2-го класса точности, ГОСТ 1770-74;

стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 10, 50 см<sup>3</sup>, ГОСТ 25336-82;

пипетки вместимостью 0,5, 1,0 5,0, 10,0 см<sup>3</sup>, ГОСТ 29227-91;

пробоотборник любого типа, объемом не менее 5 см<sup>3</sup>;

флаконы и банки стеклянные с навинчивающейся крышкой или с притертой пробкой (сосуды для выщелачивания) для отбора и хранения проб и реактивов вместимостью 10, 50, 100 и 1000 см<sup>3</sup>;

воронки лабораторные, ГОСТ 25336-82;

стаканчики для взвешивания (бюксы) диаметром 30, 40 мм, ГОСТ 25336-82;

вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72;

натрий хлористый, ГОСТ 4233-77;

натрия гидроокись, ГОСТ 4328-77;

кислота соляная, ГОСТ 3118-77;

кислота серная, ГОСТ 4204-77;

спирт этиловый, х.ч. ТУ 6-09-1710-77;

цинк серноокислый 7-водный, ГОСТ 4174-77;

бумага индикаторная универсальная для измерения рН, ТУ 6-09-1181-76.

Все реактивы должны быть квалификации «х.ч.» или «ч.д.а.».

*Примечание.* Допускается применение иных средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов, технические и метрологические характеристики которых не уступают указанным выше и обеспечивают нормируемую точность измерений.

#### **4 УСЛОВИЯ БЕЗОПАСНОГО ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТ**

4.1 При работе с химическими веществами, отходами и сточными водами необходимо соблюдать требования техники безопасности по ГОСТ 12.1.007-76.

4.2 Санитарно-гигиенические требования к воздуху производственных помещений ГОСТ 12.1.005-88.

4.3 Рабочие столы и поверхности должны содержаться в чистоте. В конце дня проводится влажная уборка рабочих поверхностей.

4.4 Безопасность при работе с электроустановками обеспечивается по ГОСТ 12.1.019-79 и в соответствии с требованиями инструкций к оборудованию.

4.5 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009-83.

4.6 Используемые в качестве биотестов лиофилизированные бактерии не патогенны, однако после каждого анализа необходимо стерилизовать всю использованную посуду и остатки растворов в сушильном шкафу при 65 °С в течение 1 часа.

4.7 Хранить тест-систему «Эколлом» рекомендуется в холодильнике при температуре от -18 °С до -4 °С, следует беречь культуру лиофилизированных бактерий от нагревания и резкой смены температуры.

## **5 ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ЛИЦ, ПРОВОДЯЩИХ БИОТЕСТИРОВАНИЕ**

Определение токсичности по настоящей методике выполняется специалистом, имеющим опыт работы в области водной токсикологии. Проведение выщелачивания отходов может проводить химик-аналитик, техник, лаборант.

## **6 УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

Биотестирование проводится в полевых условиях или в нормальных лабораторных условиях. Помещение не должно содержать токсичных паров и газов.

Температура окружающего воздуха в лаборатории от 18 до 25 °С. Относительная влажность воздуха не более 80 % при  $t = \pm 25$  °С. Атмосферное давление 84-106 кПа (630-800 мм рт.ст.).

При использовании электроприборов частота переменного тока  $50 \pm 1$  Гц. Напряжение сети  $220 \pm 22$  В. При использовании прибора «Биотокс-10» в полевых условиях питание осуществляется от аккумулятора напряжением 12 В.

Освещение помещения естественное или искусственное, не ограничивается особыми требованиями.

## **7 ПОДГОТОВКА К ПРОВЕДЕНИЮ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

Предварительная подготовка к отбору проб и выполнению биотестирования должна обеспечивать подготовку посуды, пробоотборников, мест хранения отобранных проб, а также подготовку рабочего места для обработки доставленных в лабораторию проб и исследования их на токсичность. Все процедуры предварительной подготовки должны исключить попадание токсичных, органических и каких-либо других веществ в исследуемую воду.

## **7.1 Подготовка посуды для отбора, хранения проб и биотестирования**

Обычно используется посуда из стекла, а при наличии в воде нефтепродуктов, моющих средств и пестицидов используются банки из темного стекла. Посуда для отбора проб и биотестирования должна быть химически чистой. Она промывается смесью бихромата калия и серной кислоты (хромовой смесью). Стенки посуды осторожно смачиваются хромовой смесью, после чего на 2-3 часа посуда оставляется, затем она тщательно промывается водопроводной водой, нейтрализуется раствором пищевой соды и промывается 3-4 раза дистиллированной водой. Для мытья посуды не разрешается пользоваться синтетическими поверхностно-активными веществами и органическими растворителями. Посуду для отбора проб сушат на воздухе, а используемую для биотестирования, за исключением мерной, - в сушильном шкафу при 105 °С в течение 1 часа.

Химически чистая посуда для биотестирования должна храниться с закрытыми стеклянными притертыми пробками или завинчивающимися крышками в защищенных от пыли ящиках лабораторного стола или на закрытых полках, стеллажах и т.п.

Стеклокюветы к люминометру промывают хромовой смесью. Затем они тщательно промываются водопроводной водой и в конце – несколько раз дистиллированной водой. Пластиковые кюветы рекомендуется использовать один раз.

## **7.2 Отбор, транспортировка, хранение и подготовка проб воды**

**7.2.1** Объем пробы воды для определения токсического действия составляет 10 см<sup>3</sup>. Отбираемый объем должен быть в два раза больше требуемого для хранения дубликата пробы до конца биотестирования.

Отбор проб, транспортировка и хранение грунтовых вод осуществляется в соответствии с СТ СЭВ 4710-84 «Воды подземные. Общие требования к отбору проб».

Отбор проб в поверхностных проточных и непроточных водоемах осуществляется в соответствии с ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб» и ГОСТ 17.1.5.05-85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков».

Для отбора проб с глубины не более 0,5 м используется бутыл с привязанной пробкой, которую помещают в футляр, или пробоотборник с грузом. Футляр снабжен петлей, к которой привязывают веревку с размеченными отрезками, указывающими глубину погружения. На требуемой глубине, с помощью привязанной к пробке веревки выдергивают пробку из горла бутылки. После заполнения бутылки водой (на поверхности воды не появляются пузырьки воздуха) ее поднимают на поверхность.

Отбор проб питьевых вод осуществляется в соответствии с ГОСТ 51593-2000 «Вода питьевая. Отбор проб».

Пробы питьевой воды в источнике водоснабжения и сточной воды с глубиной менее 0,5 м отбираются пробоотборником любого типа объемом 100 см<sup>3</sup>, тщательно перемешиваются в лаборатории и нужный объем используется для анализа.

Водопроводную воду отбирают из-под крана после 5-минутного слива, кран антисептической обработке не подвергается.

Отбор природных и сточных вод следует проводить в местах наибольшего перемешивания. Сточные воды отбираются на средней глубине потока, где твердые частицы равномерно распределены.

На очистных сооружениях отбирать пробы для анализа на токсичность следует до системы хлорирования.

При исследовании сточных вод на токсичность не допускается отбор разовой пробы. Количество необходимых порций выбирают на основе опыта проведения анализа. Предпочтительно отбирать среднесуточную пробу каждый час в течение 24 часов, после тщательного перемешивания всего объема отобранной пробы для исследования берется необходимое количество воды.

Допустимое минимальное количество отбираемых единичных проб для последующего смешения - три, с интервалом между отборами не менее часа.

Не допускается консервирование проб, предназначенных для исследования на токсичность. Отобранными пробами заполняют, предварительно ополаскивая отбираемой водой, банки или флаконы, заполняя их до краев и закрыв без пузырьков воздуха пришлифованными стеклянными пробками или полиэтиленовыми крышками. Под полиэтиленовые крышки подкладываются прокладки тефлоновые или из алюминиевой фольги. Пробы упаковываются в деревянные ящики для переноски проб и прокладываются бумагой или ветошью. При транспортировке не следует держать пробы на свету.

При отборе проб необходимо соблюдать технику безопасности. На крупных водотоках и водоемах следует соблюдать навигационные правила

и правила эксплуатации используемого судна. Постоянные места контроля следует выбирать в местах, которые были бы доступны в любое время года и где отсутствуют какие-либо природные опасности. На очистных сооружениях отбор проб осуществляется в специально предназначенных местах, маркированных и освещаемых в темное время суток. Отбор проб производится бригадой, состоящей минимум из двух человек. Перед работой бригада должна быть проинструктирована о мерах предосторожности при выполнении программы работ в зависимости от места отбора, климатических условий и т.д.

При отборе пробы составляется протокол по утвержденной форме, в котором указывается цель пробоотбора, число, время, место отбора пробы, температура воды, номер пробы, Ф.И.О. отбравшего. На бутылку или флакон наклеивается этикетка с указанием номера пробы, места и даты отбора.

**7.2.2** Биотестирование проб воды проводят не позднее 6 часов после их отбора. При невозможности проведения анализа в указанный срок пробы воды охлаждают (2 – 4 °С). Хранить пробы следует не более 24 часов после отбора. В исключительных случаях допускается замораживание проб (-18 °С) и их хранение до двух недель, однако следует помнить, что после размораживания токсичность воды может измениться. В случае предполагаемого замораживания пробы при ее оттаивании не следует заполнять сосуды полностью, чтобы избежать их разрыва. Если пробы требуется оттаивать или фильтровать, то оттаивание и фильтрация должны предшествовать замораживанию.

Перед биотестированием предварительно охлажденные или замороженные пробы доводят до температуры 15-25 °С.

При наличии в сточных водах крупнодисперсных включений (с диаметром частиц более 3,5 мкм) необходима фильтрация пробы через обеззоленные фильтры - белая или красная лента.

Природные воды фильтруют через фильтр с диаметром пор 3,5 мкм. Осадки в виде снега перед анализом переводятся в жидкость.

### **7.3 Отбор проб и подготовка водной вытяжки из почвы, донных отложений**

**7.3.1** Отбор проб почвы, ее хранение и транспортировка осуществляется в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84. Обычно для отбора почв используются матерчатые мешки. Не допускается консервирование проб, предназначенных для исследования на токсичность.

При контроле за загрязнением почв промышленными источниками площадки для отбора проб располагают на площади трехкратной величины

санитарно-защитной зоны вдоль векторов розы ветров на расстоянии 100, 200, 300, 500, 1000, 2000, 5000 м и более от источника загрязнения (ГОСТ 17.4.4.02-84).

При оценке сельскохозяйственных и других территорий пробы почвы отбирают из верхнего почвенного горизонта (до 20 см) в 5 точках по типу «конверта». Масса объединенной пробы (из 5 точечных) должна составлять не менее 0,5 кг. Размер пробной площадки определяется целями поставленных исследований и представляет собой часть исследуемой территории, характеризующейся сходными условиями. При оценке сельскохозяйственных территорий на предмет их пригодности для производства экологически чистой продукции площадка может составлять от 1 до 5 га при однородном почвенном покрове и от 0,5 до 1 га - при неоднородным. При необходимости проведения более детального картирования общего уровня загрязнения размер пробной площадки может составлять десятки квадратных метров.

В том случае, если известны границы какого-либо локального участка загрязнения или проводятся мониторинг за степенью общего загрязнения почвы в местах захоронения вредных веществ, отвалах, свалках и т.п., одновременно с отбором образцов в предполагаемых загрязненных участках, проводится отбор «фоновых» почв. Под фоновыми почвами понимаются почвы прилегающих территорий со сходными условиями, не подвергающихся техногенному воздействию или испытывающих его в минимальной степени (МУ 2.1.7.730-99). Так, при контроле почв в районе точечных источников загрязнения, пробные площадки размером не более 5\*5 м закладываются на разном расстоянии от источника и в относительно чистом участке (контроль).

7.3.2 Почвы (осадки), отобранные с территорий, которые необходимо проконтролировать на токсичность, освобождают от корней, крупных посторонних частиц и высушивают при 105 °С в течение 1 часа. После охлаждения воздушно-сухую пробу почвы растирают в ступке или гомогенизируют в почво-измельчителе, просеивают через сито с отверстиями в 3 мм и тщательно перемешивают. Навеску почвы (массой не менее 5,0 г) помещают в коническую колбу, мерным цилиндром приливают пятикратный объем дистиллированной воды (рН 6,8-7,4) (5 см<sup>3</sup> на 1 г образца), взбалтывают в течение 5 минут и оставляют для экстракции на 24 часа. Через 24 часа экстракт фильтруется через бумажный фильтр - белая, красная лента (только в случае мутной надосадочной жидкости). Полученный экстракт тестируют на токсичность.

В экспрессном варианте воздушно-сухую навеску почвы с добавленной дистиллированной водой (рН 7,0-7,4) (5 см<sup>3</sup> на 1 г образца) взбалтывают на аппарате для встряхивания в течение 3 часов и фильтруют

через бумажный фильтр (белая, красная лента). Если по истечении этого времени устанавливается факт сильной токсичности почвы, стандартная процедура экстракции не проводится.

Подготовленные образцы почв нужно хранить в сухом месте в пакете из крафт-бумаги.

#### **7.4 Приготовление экстракта водной вытяжки (выщелачивание) из отходов**

##### **7.4.1 Подготовка к процедуре выщелачивания отходов**

При подготовке проб необходимо пользоваться средствами индивидуальной защиты: специальной одеждой по ГОСТ 12.4.103-83, полихлорвиниловыми перчатками по ГОСТ 12.4.013-85, респираторами, головными уборами.

Вся посуда перед использованием тщательно моется и обрабатывается 10 %-ным раствором азотной кислоты, затем промывается водопроводной водой и ополаскивается 3-4 раза дистиллированной водой. Для мытья посуды не разрешается пользоваться синтетическими поверхностно-активными веществами и органическими растворителями. Посуду для отбора проб сушат на воздухе, а химическую, за исключением мерной, - в сушильном шкафу при  $(105 \pm 5)$  °С. Химически чистая посуда должна храниться с закрытыми стеклянными притертыми пробками или завинчивающимися крышками в защищенных от пыли ящиках лабораторного стола или на закрытых полках, стеллажах и т.п.

##### **7.4.2 Пробоподготовка перед выщелачиванием**

Экстракт выщелачивания готовится из соотношения твердая фаза:жидкость: - 1:10. В качестве жидкости используется дистиллированная вода. Объем/масса обрабатываемых проб: жидких отходов и шламов – не менее 2 дм<sup>3</sup>, твердых отходов – 5 кг. Пробы следует оберегать от изменения их состава на всех стадиях пробоподготовки и хранения. Пробы должны храниться при температуре не более 4°С и анализироваться как можно быстрее после отбора. Хранение проб более 5 суток не допускается.

###### **7.4.2.1 Твердые отходы**

Проба (5 кг) тщательно перемешивается перекачиванием на гладкой, гибкой и плотной подстилке, затем совком. Общий объем отобранной пробы делится на представительные половины, одна из частей возвращается в сосуд для хранения, оставшаяся часть (2,5 кг) пробы осматривается и разрыхляется. В случае обнаружения частиц более 10 мм

они осторожно измельчаются с помощью пестика или шпателя до достижения размера менее 10 мм. Недопустимо размалывать смесь. Затем проба высушивается до воздушно-сухого состояния в открытом виде в течение двух часов при комнатной температуре и влажности воздуха. В пробе проводится определение содержания влаги. Затем проба сокращается методом квартования: тщательно перемешанную пробу разравнивают на гладкой поверхности на клеенке или полиэтиленовой пленке и с помощью линейки или специальной решетки делят на равные квадраты. Затем из квадратов в шахматном порядке отбирают порции, обеспечивая захват всей толщины слоя, и объединяют их. Максимальная сухая масса представительной пробы должна составлять 50 г. Затем рассчитывается масса пробы, подвергаемой выщелачиванию, с учетом влажности. Чтобы обеспечить необходимые 50 г сухой массы, обычно требуется 50-100 г пробы первоначальной влажности. Проба взвешивается в сосуде для выщелачивания с погрешностью  $\pm 1$  г, в рабочем журнале записывается масса и содержание влаги. После выщелачивания 50 г пробы будет получено приблизительно 450 см<sup>3</sup> водной вытяжки, с учетом этого следует рассчитывать общее необходимое минимальное количество отбираемой порции в результате сокращения пробы.

Если этот объем вытяжки недостаточен для проведения необходимых химических анализов и/или проведения биотестирования во всех предполагаемых разведениях с учетом контрольных испытаний, масса пробы на стадии подготовки к выщелачиванию должна быть увеличена.

#### *7.4.2.2 Шламы*

Шламы с большим содержанием твердой фазы, не разделяющиеся самостоятельно, обрабатываются также как твердые. Отдельно определяется содержание влаги и масса шлама, эквивалентная  $50 \pm 1$  г в пересчете на сухую массу.

Шламы с большим содержанием жидкости обрабатываются следующим образом: жидкость фильтруется через вакуум фильтр (0,45 микрон) и отбирается 50-100 г твердого осадка. Если такого количества пробы недостаточно для получения 50 г твердого вещества, собирается столько, сколько необходимо. При необходимости отбор проб повторяют и отбирают большее количество пробы.

Твердый осадок доводится до воздушно-сухого состояния, в нем определяется содержание влаги и потеря массы. В результате этой процедуры получается твердый осадок, который взвешивается ( $\pm 1$  г) и переносится в сосуд для выщелачивания. В рабочем журнале регистрируется масса остатка и содержание влаги в нем.

Производится процедура выщелачивания.

Если полученный объем вытяжки недостаточен для проведения необходимых химических анализов и/или проведения биотестирования во всех предполагаемых разведениях с учетом контрольных испытаний, масса пробы на стадии подготовки к выщелачиванию должна быть соответственно увеличена.

#### *7.4.2.3 Жидкие отходы*

Жидкие отходы и отходы, содержащие менее 1 % взвешенного материала, не подвергаются выщелачиванию, а фильтруются через фильтр «синяя лента». Фильтрат подвергается анализу и/или биотестированию.

#### *7.4.3 Выполнение процедуры получения экстракта выщелачивания*

В сосуд для выщелачивания, где находится сухая масса отхода весом  $50 \pm 1$ г, добавляется дистиллированная вода. Вода добавляется в сосуд для выщелачивания в соотношении сухая масса:жидкость – 1:10.

Объем воды измеряется мерной посудой.

Смесь должна слабо перемешиваться на мешалке в течение 7-8 часов. Недопустимо измельчение частиц отходов при перемешивании. Используется большая лопасть механической мешалки или большая магнитная мешалка, а скорость перемешивания должна быть наименьшей, при которой материал поддерживается во взвешенном состоянии.

После окончания перемешивания раствор с осадком оставляют на ночь (12-18 час). Если жидкость после отстаивания становится прозрачной, фильтрование не требуется. Если имеется видимый взвешенный материал, жидкость должна быть профильтрована. Фильтрование осуществляется с помощью вакуумного насоса через фильтр «синяя лента» на воронке Бюхнера. При этом применяется слабый вакуум (приблизительно 20 мм рт.ст.). Во избежание дегазации фильтрата насос должен быть выключен немедленно после прохождения всей жидкости через фильтр. Факт фильтрования отмечается в рабочем журнале.

Процедуру биотестирования необходимо начать не позднее, чем через 6 час после отстаивания экстракта. Если это невозможно, допускается хранение экстракта в холодильнике не более 48 час при температуре 4 °С.

Перед биотестированием необходимо измерить pH и температуру полученного экстракта. Данные регистрируются в журнале.

Если отход был разделен на жидкую и твердую фракции, результаты исследования жидкой фракции и экстракта выщелачивания из твердой фракции должны быть указаны в отчете отдельно.

Если одна из этих частей была признана опасной, опасным признается и весь отход.

## **7.5 Подготовка тест-системы «Эколюм» и прибора «Биотокс-10»**

### **7.5.1 Реконструкция тест-системы «Эколюм».**

**7.5.1.1** Вскрыть флакон с лиофилизированным биореагентом. Добавить 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (комнатная температура, pH 6,8-7,4) - получают суспензию бактерий. В случае необходимости pH дистиллированной воды доводят до нужного диапазона подщелачиванием 10 %-ным раствором NaOH или подкислением 10 %-ным раствором HCl. При отсутствии такой воды или её плохого качества можно использовать стандартный физиологический раствор. Рекомендуется несколько раз встряхнуть флакон с суспензией бактерий.

При отсутствии дистиллированной воды или её плохого качества можно использовать стандартный физиологический раствор. В таком случае во вскрытый флакон добавляют 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Вытяжку из объектов делают физиологическим раствором или в измеряемую пробу добавляют 0,9 % по объему соли NaCl.

При исследовании морской воды в дистиллированную воду, предназначенную для регидротации бактерий, добавляют соль NaCl в концентрации, характерной для исследуемой акватории. Далее проводят анализ по стандартной схеме.

В случае использования морских люминесцентных бактерий во флакон с реагентом «Эколюм» добавляют 3 % NaCl в дистиллированной воде. Все дальнейшие разбавления бактериальной суспензии проводят этим раствором. Экстракцию водной вытяжки из объектов окружающей среды проводят 3 % NaCl в дистиллированной воде. В жидкие пробы добавляют NaCl до содержания 3 %.

**7.5.1.2** Выдержать суспензию в течение 30 минут, периодически перемешивая.

**7.5.1.3** Держать флакон с суспензией бактерий можно на лабораторном столе при нормальном освещении. Рекомендуется перемешивание суспензии бактерий перед каждым отбором определенных объемов для проведения анализа.

**7.5.2** Подготовку прибора «Биотокс-10» проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

**7.5.3** Определение рабочей концентрации тест-системы «Эколюм».

**7.5.3.1** Измерить фоновое значение прибора «Биотокс-10» (по инструкции к прибору, при счете 10 сек без кюветы) и записать это значение.

7.5.3.2 Добавить 0,1 см<sup>3</sup> суспензии бактерий из флакона в кювету люминометра. Затем туда же добавить 0,9 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (рН 6,8-7,4; комнатная температура).

7.5.3.3 Вставить кювету с биореагентом в люминометр и измерить величину интенсивности биолюминесценции за 10 сек.

7.5.3.4 Рекомендуется, чтобы свечение суспензии бактерий находилось в интервале, превышающем фоновое значение прибора в 100-500 раз. Если величина свечения намного больше верхнего предела, то рекомендуется разбавить суспензию бактерий дистиллированной водой и повторить измерение.

## **8 ПРОЦЕДУРА БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

### **8.1 Определение индекса токсичности**

При определении индекса токсичности необходимо проводить параллельное измерение контрольных (не содержащих токсических веществ) и опытных проб. Рекомендуется иметь по три образца контрольных и опытных проб. Для большей достоверности данных число параллельных измерений опытной пробы может быть увеличено до 10 измерений. Измеряют контрольную пробу, и прибор запоминает измеренную величину. Затем измеряются повторности опытной пробы, и прибор автоматически фиксирует значения индекса токсичности каждой пробы, норматив сходимости индекса токсичности и погрешности измерения.

8.1.1 Измерение интенсивности биолюминесценции и индекса токсичности проводят с помощью прибора «Биотокс-10» согласно инструкции по эксплуатации прибора.

8.1.2 При стандартном анализе отбирают из флакона по 0,1 см<sup>3</sup> рабочей суспензии бактерий и добавляют в три кюветы от люминометра - контрольные и в три кюветы для пробы. Добавляют в контрольные кюветы по 0,9 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (рН 6,8-7,4). Добавляют в остальные кюветы опытную пробу по 0,9 см<sup>3</sup> и замечают время экспозиции и через 30 минут начинают биотестирование. Параллельно измеряют интенсивность свечения бактерий в кюветках с контролем и опытом, записывают показания прибора по индексу токсичности. После измерения третьей кюветы с опытной пробой, кроме того, записывают показания прибора по средней токсичности из трех измерений образца и погрешности измерения.

В случае если исследуются образцы почвы, взятые с локально загрязненных территорий (п. 7.3.1), в контрольную кювету вместо дистиллированной воды вносят экстракт из фоновых почв и добавляют рабочую суспензию бактерий.

8.1.3 Рабочую суспензию бактериальной тест-системы «Эколом» используют в течение 8 часов после её приготовления, хранить её можно при комнатной температуре.

## **8.2 Определение токсикологических параметров пробы, ЕС20 и ЕС50, и параметров предельно допустимых сливов**

Эта операция предназначена для быстрого выяснения вопроса, при каких объемах исходного слабо токсического образца достигаются установленные пределы токсичности ( $T=50$  и/или  $T=20$ ) или при каких разведениях сильно токсический образец (ЕС больше 50) станет безопасным (величины менее ЕС20), а также при расчете нормативов предельно допустимых сбросов сточных вод.

8.2.1 Рекомендуется перед измерением коэффициентов ЕС убедиться при измерении токсичности (п. 8.1) неразбавленной пробы, что величина G для данной пробы не превышает значения 25. В случае если величина G больше, может увеличиться погрешность измерения величин ЕС. В таком случае необходимо развести пробу дистиллированной водой до указанного предела и учесть предварительное разбавление.

8.2.2 После вывода прибора в режим измерения ЕС для измерения параметров исследуются 4 пробы, получаемые путем разбавления исследуемой пробы или раствора химического соединения дистиллированной водой в следующих отношениях 1:1, 1:2, 1:4 и 1:8. Для всех 4-х проб автоматически определяется G-функция, значения которой заносятся в оперативную память микроконтроллера прибора. По данным этих 4-х измерений микроконтроллер при нажатии специальной кнопки клавиатуры управления производит автоматически вычисление коэффициентов ЕС20 и ЕС50 и представляет данные на дисплее.

8.2.3 Определение гамма-функции для каждого из предварительно разведенных образцов проводят в соответствии с процедурой определения показателя индекса токсичности (п. 8.1) за исключением введения дополнительной команды. При этом микроконтроллер прибора «Биотокс-10» по данным, хранящимся в оперативной памяти об интенсивности биоломинесценции в контрольных и опытных пробах (соответственно Иконтр.

и Иопыт), производит вычисление гамма-функции с представлением результата на дисплее. При интенсивности биоломинесценции опыта больше или равной контролю вычисление не производится.

## **9 ОБРАБОТКА, ОЦЕНКА И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

9.1 Оценку токсичности пробы проводят по относительному различию в интенсивности биоломинесценции контрольной и опытной

проб и вычислению индекса токсичности «Т» и параметров ЕС20 и ЕС50. Абсолютная величина интенсивности биоломинесценции контроля не имеет принципиального значения в диапазоне допустимых значений прибора «Биотокс».

9.2 Индекс токсичности «Т» есть величина безразмерная, и определяется по формуле  $T = 100 (I_{\text{контр.}} - I_{\text{опыт}}) / I_{\text{контр.}}$ , где  $I_{\text{контр.}}$  и  $I_{\text{опыт}}$  соответственно интенсивность свечения контроля и опыта при фиксированном времени экспозиции исследуемого раствора с тест-объектом. Обработку результатов измерений токсичности выполняют путем расчета среднеарифметического значения величины индекса токсичности «Т» по формуле  $T = (T_1 + T_2 + T_3) / 3$ , где  $T_1 - T_3$  - три измерения опытной пробы. Величины  $T_1 - T_3$  получают из трех измерений контроль-опыт в короткий промежуток времени. Количество измерений  $T$  может быть увеличено до 10.

За результат анализа ( $\bar{X}$ ) принимают среднее арифметическое результатов трех (или более - до 10) параллельных.

Среднее арифметическое  $\bar{X}$  результатов определений количественного выражения тест-реакций вычисляется по формуле:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i.$$

Среднее квадратичное отклонение результатов определений количественного выражения тест-реакции - индекса токсичности вычисляется по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{X} - X_i)^2}{n - 1}},$$

где  $X_i$  —  $i$ -й результат определений,  $n$  — число параллельных определений.

Все указанные статистические параметры вычисляются измерительным прибором «Биотокс-10» автоматически по команде оператора.

Критерием приемлемости результатов, является выполнение следующего условия:

$$(\bar{X}_{\text{max}} - \bar{X}_{\text{min}}) \leq \gamma \bar{X},$$

где  $\gamma$  — предел повторяемости

Значение  $\gamma$  приведено в разделе 2.4 методики.

При превышении предела повторяемости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов анализа согласно разделу 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002.

9.3 Оперативный контроль воспроизводимости проводят на рабочих пробах с соблюдением условий, описанных в разделах 6, 7, 8 методики, в двух разных лабораториях.

Воспроизводимость контрольных определений, а также воспроизводимость результатов определений рабочих проб, получаемых за период, в течение которого условия проведения биотестирования принимают стабильными и соответствующими условиям проведения контрольных измерений, признают удовлетворительной, если выполняется условие:

$$|T_1 - T_2| \leq 0,42 \cdot T_{cp}.$$

При выполнении данного условия приемлемы оба результата анализа, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее арифметическое значение.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов анализа согласно разделу 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002.

9.4 В ряде случаев возможен вариант, когда интенсивность биолюминесценции в анализируемой пробе больше, чем в контроле. В таком случае независимо от величины отрицательного значения «Т» делается вывод об отсутствии токсичности образца, и индекс токсичности принимает нулевое значение. В случае стимуляции свечения пробой по сравнению с контролем рекомендуется для данных проб провести тестирование с использованием других биотестов.

9.5 По величине индекса токсичности (Т) анализируемые пробы классифицируются на три группы:

Группы	Величины «Т»	Вывод о степени токсичности пробы
1	меньше 20	образец не токсичен (допустимая степень токсичности)
2	от 20 до 49,9	образец токсичен
3	равно или больше 50	образец сильно токсичен

9.6 Прибор серии «Биотокс-10» обеспечивает в автоматическом режиме вычисление усредненного значения индекса токсичности Т, погрешности измерения индекса токсичности и токсикологических характеристик - EC20 и EC50.

9.7 Если при измерении параметров ЕС проводили дополнительное разбавление проб, то величины EC20 и EC50, представленные на дисплее

прибора, следует скорректировать в сторону уменьшения объема (или в модельных экспериментах – концентрации) пропорционально кратности разбавления.

9.8 Условия и результаты биотестирования представляется в виде протокола (Приложение 1).

## 10 КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ МЕТОДИКИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

10.1 Контроль качества оценки токсичности воды проводится по определению чувствительности тест-системы «Эколом» к модельному «эталонному» токсиканту цинку сернокислому 7-водному ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ), растворенному в дистиллированной воде.

Удовлетворительные результаты, полученные при проверке диапазона реагирования люминесцентных бактерий на модельный токсикант, не обеспечивают гарантии адекватного реагирования организмов на другие токсиканты и тем более их смеси, однако регулярно проводимая проверка позволяет выявить ошибки при приготовлении исследуемых смесей и растворов, нарушения, допускаемые в условиях проведения опытов.

10.2 Процедура определения диапазона реагирования тест-системы «Эколом» на модельный токсикант. Готовят раствор соли цинка сернокислому на дистиллированной воде в концентрации  $7.0 \text{ мг/дм}^3$ .

10.3 Испытания проводят в соответствии с прописью методики (п. 8.1 в трех независимых опытах. Если концентрация модельного токсиканта  $7.0 \text{ мг/дм}^3$  приводит к острой токсичности (индекс токсичности равен или более 50), то чувствительность тест-объекта соответствует необходимым требованиям. Если концентрация модельного токсиканта, вызвавшая острую токсичность, больше  $7.0 \text{ мг/дм}^3$ , то следует проверить точность приготовления исследуемых растворов, условий проведения опытов. Если ошибки при проведении опытов исключены, необходимо сменить исходный материал.

## 11 ФОРМА ПРЕДСТАВЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Результат токсикологического анализа - индекс токсичности  $T$  - в документах, предусматривающих его использование, представляется в виде:

$$\bar{X} \pm \Delta \cdot \bar{X}, \text{ при } P = 0.95$$

где  $\Delta$  - показатель точности методики.

Значение  $\Delta$  приведено разделе 2 методики.

Допустимо результат токсикологического анализа в документах, выдаваемых лабораторией, представлять в виде:  $\bar{X} \pm \Delta_n$ ,  $P=0,95$ , при условии  $\Delta_n < \Delta$ , где

$\bar{X}$  – результат анализа, полученный в соответствии с прописью методики;

$\pm \Delta_n$  - значение характеристики погрешности результатов анализа, установленное при реализации методики в лаборатории, и обеспечиваемое контролем стабильности результатов анализа.

Приложение 1 (рекомендуемое)

Форма регистрации условий и результатов биотестирования  
в рабочем журнале

Наименование пробы и место отбора	
Дата, время отбора пробы	
Дата измерения проб	
Число параллельных измерений пробы	
Тест-система, прибор	
Результаты биотестирования Усредненный индекс токсичности	
Погрешность измерения	
Кратность разбавления, вызывающая допустимую степень токсичности (ЕС20), сильную токсичность (ЕС50)	
Оценка токсичности пробы	
Оператор, Ф.И.О.	

## Приложение 2 (справочное)

### Характеристика тест-системы «Эколюм» и измерительного прибора «Биотокс-10»

1 В качестве тест-объекта используются биосенсоры серии «Эколюм», представляющие собой лиофилизированные культуры люминесцентных бактерий содержащиеся в среде инертных газов в специальных стеклянных флаконах. Биосенсор производится согласно ТУ 2639-236-00209792-01 и в зависимости от типа работает в диапазоне температур 15-40°C. Тест-система, содержащаяся при температуре -18 °С, имеет гарантированный срок хранения 12 месяцев, при температуре до 25 °С – 6 месяцев.

Люминесцентные бактерии оптимальным образом сочетают в себе различные типы чувствительных структур, ответственных за генерацию биоповреждений (клеточная мембрана, цепи метаболического обмена, генетический аппарат), с экспрессностью, объективным и количественным характером отклика целостной системы на интегральное воздействие поллютантов. Это обеспечивается тем, что люминесцентные бактерии содержат фермент люциферазу, осуществляющую эффективную трансформацию энергии химических связей жизненно важных метаболитов в световой сигнал на уровне, доступном для экспрессных и количественных измерений. Метод определения интегральной токсичности на основе люминесцентных бактерий широко распространен во многих странах, неоднократно сравнивался с действием различных токсических веществ на высшие организмы и получены высокие корреляционные зависимости.

2 Специализированный люминометр «Биотокс» является измерительным прибором, предназначенным для проведения токсиколого-гигиенического мониторинга объектов окружающей среды, с использованием бактериальной биолюминесцентной тест-системы серии «Эколюм». Сочетание биохимического датчика с современной электронной аппаратурой позволяет обнаруживать с высокой достоверностью чрезвычайно малые количества токсических соединений и их смесей. В приборе используется простая и надежная технология отбора и предъявления проб, которая безопасна при проведении экологической экспертизы, как в лабораторных, так и полевых условиях.

Портативный прибор «Биотокс-10» может осуществлять следующие функции в автоматическом режиме: определение интенсивности биолюминесценции тест-объекта, индекса токсичности проб,

усредненной величины индекса токсичности, вычисление стандартного отклонения показателя токсичности, определения величин EC20 и EC50 - пороговых значений допустимой степени и острой степени токсичности образца, исследование динамики процесса взаимодействия токсикантов с тест-объектом, компьютерная обработка данных, наличие сигнала для оператора в случае превышения пробой допустимого уровня токсичности.



003337

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ  
Государственный научный метрологический центр  
ФГУП «Уральский научно-исследовательский институт метрологии»

## СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики выполнения измерений

№ 223.1.01.17.37/2010

Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских,  
наименование измеряемой величины; объекта  
грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных  
и метода измерений

вод по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой  
"Эколом",

разработанная ЗАО «НВО «Иммунотех»,

наименование организации (предприятия), разработавшей МВИ

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563, ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 –  
ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов

вид работ: метрологическая экспертиза материалов по разработке МВИ,

по разработке методики выполнения измерений

теоретическое или экспериментальное исследование МВИ, другие виды работ

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками, приведенными в приложении.

Приложение: метрологические характеристики МВИ на 1 листе

Зам. директора по научной работе

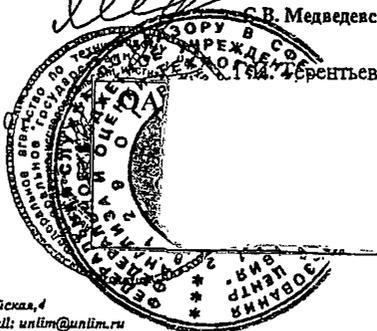
С.В. Медведевский

Зав. лабораторией

И.А. Терентьев

Дата выдачи: 26.04.2010

Срок действия: —



**Приложение к свидетельству № 223.1.01.17.37 / 2010  
об аттестации методики определения интегральной токсичности  
поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод,  
водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению интенсивности  
бактериальной биолюминесценции тест-системой "Эколюм"**

**1 Условия биотестирования**

Объект токсикологического контроля	Поверхностные пресные, грунтовые; питьевые, сточные, очищенные сточные воды, водные экстракты почв, отходов, осадков
Тест-объект	Культура люминесцентных бактерий (тест-система «Эколюм»)
Модельный токсикант	Сернистый диоксид 7-водный ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) с массовой концентрацией $7,0 \text{ мг/дм}^3$
Контрольная проба	Дистиллированная вода с pH 7,0-7,4 в объеме $0,9 \text{ см}^3$ и $0,1 \text{ см}^3$ рабочей суспензии тест-объекта
Общие требования к процедуре биотестирования	Количество контрольных проб – не менее 3 Количество опытных проб - не менее 3 Время экспозиции – 30 минут

**2 Значения показателей повторяемости, воспроизводимости, точности**

2.1 Показатель повторяемости -  $\sigma_r$  - среднее квадратическое отклонение результатов определений, полученных по методике в условиях повторяемости - составляет 0.07 Т.

2.2 Показатель воспроизводимости -  $\sigma_R$  - среднее квадратическое отклонение результатов измерений, полученных по методике в условиях воспроизводимости - составляет 0.15 Т.

2.3 Показатель точности -  $|\Delta_n| = |\Delta_n| = \Delta$  - границы, в которых находится погрешность методики – составляет  $\pm 0.30T$  при  $P=0.95$ .

2.4 Предел повторяемости -  $r$  - допускаемое расхождение между тремя результатами параллельных определений - составляет  $0.23 T$  при  $P = 0.95$ .

2.5 Предел воспроизводимости -  $R$  - допускаемое расхождение между двумя результатами, полученными в разных лабораториях – составляет  $0.42 T$  при  $P = 0.95$ .

$T$  – результат определения (измерения) токсичности пробы в условных единицах.

Старший научный сотрудник  
лаборатории 223 ФГУП «УНИИМ»

*Жогерзеи*

О.В.Жогергина