

Оценка токсичности воздушной среды по интенсивности биолюминесценции бактерий

Методические рекомендации

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает методику быстрого и количественного определения интегральной токсичности проб воздуха в лабораторных условиях с использованием в качестве тест-объекта биолюминесцентных микроорганизмов “Эколюм” и измерительного прибора серии “Биотокс”.

Объектами исследования являются пробы атмосферного воздуха населенных пунктов, воздуха рабочей зоны и воздуха жилых и общественных зданий.

Документ предназначен для учреждений Государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации и специальных служб федеральных органов исполнительной власти, осуществляющих ведомственный санитарно-эпидемиологический надзор.

Опасность загрязнения воздушной среды определяется уровнем ее возможного отрицательного влияния прямо или косвенно на здоровье человека.

Результаты обследования качества воздушной среды учитывают при определении и прогнозе степени ее опасности для здоровья и условий проживания населения в населенных пунктах, оценке эффективности санитарно-экологических мероприятий и текущего санитарного контроля.

2. Нормативные ссылки

1. Закон Российской Федерации “Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан”.

2. Закон Российской Федерации “О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения”.

3. “Положение о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации”, утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 30 июня 1998 г. № 680.

4. “Положение о государственной санитарно-эпидемиологическом нормировании”, утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 5 июня 1994 г. № 625 с изменениями и дополнениями от 30 июня 1998 г. № 680.

5. Порядок разработки, экспертизы, утверждения, издания и распространения нормативных и методических документов системы санитарно-эпидемиологического нормирования. Р 1.1.001-1.1.005-96.

6. Методические указания по осуществлению государственного санитарного надзора за устройством и содержанием жилых зданий. № 2295-81. Утв. Минздравом СССР 24.02.81.

3. Термины и определения

Санитарно-гигиенический государственный контроль осуществляется с целью регулярного слежения за соблюдением нормативов качества окружающей среды.

Химическое загрязнение воздуха - изменение химического состава воздушной среды, возникшее под прямым или косвенным воздействием производственной деятельности, вызывающее снижение ее качества, и возможную опасность для здоровья населения.

Токсичность - степень проявления вредного действия разнообразных химических соединений и их смесей. Токсичность - один из важных факторов, определяющих качество окружающей среды, достаточно информативный, существенно дополняющий наше представление о степени опасности или безопасности объектов при их использовании, являющийся необходимой составной частью комплексной системы контроля при стандартном анализе.

Критерий токсичности (индекс токсичности) - достоверное количественное значение тест-параметра, на основании которого делается вывод о токсичности исследуемого объекта. Среди тест-параметров наиболее часто используют выживаемость, плодовитость, подавление ферментативной и метаболической активности организмов.

Тест-реакция - это изменение какого-либо биохимического, морфологического, поведенческого или другого функционального показателя у тест-объекта под воздействием токсиканта или их смесей.

Биотестирование - проведение анализов по определению токсичности с помощью живых организмов. Результаты оперативно сигнализируют об опасном воздействии химического загрязнения на жизнедеятельность организмов, причем не по отдельным компонентам, а по их смесям, часто неизвестной природы и не выявляемых другими методами анализа токсических веществ.

Токсические эффекты, регистрируемые методами биотестирования, включают комплексный, синергический, антагонистический и дополнительные воздействия всех химических, физических и биологических компонентов, присутствующих в исследуемом объекте, неблагоприятно влияющие на физиологические, биохимические и генетические функции тест-организмов.

Биолюминесценция - интенсивное свечение в видимой области спектра, отражающее специфическую ферментативную функцию и общую метаболическую активность организмов.

4. Принцип методики

Методика основана на определении изменения интенсивности биолюминесценции генно-инженерного штамма бактерий при воздействии токсических веществ, присутствующих в анализируемой пробе, по сравнению с контролем. Люминесцентные бактерии оптимальным образом сочетают в себе различные типы чувствительных структур, ответственных за генерацию биоповреждения (клеточная мембрана, цепи метаболического обмена, генетический аппарат), с экспрессностью, объективным и количественным характером отклика целостной системы на интегральное воздействие токсикантов. 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.

Критерием токсического действия является изменение интенсивности биолюминесценции тест-объекта в исследуемой пробе по сравнению с таковой для пробы с раствором, не содержащим токсических веществ. Уменьшение интенсивности биолюминесценции пропорционально токсическому эффекту.

Острое токсическое действие исследуемой пробы на бактерии определяется по ингибированию их биолюминесценции за 30-ти минутный (в экспрессном варианте - 5 минут) период экспозиции. Количественная оценка параметра тест-реакции выражается в виде безразмерной величины - индекса токсичности "Т", равной отношению

$T = 100(I_0 - I) / I_0$, где I_0 и I соответственно интенсивность свечения контроля и опыта при фиксированном времени экспозиции исследуемого раствора с тест-объектом. Методика допускает три пороговых уровня индекса токсичности:

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

5. Характеристики погрешности

Метрологические характеристики биотеста в соответствии с аттестацией 4/7-93, проведенной органами Госстандарта: сходимость результатов определения тест-параметра - 5%, воспроизводимость результатов определения тест-параметра - 5%.

6. Характеристика тест-объекта "Эколюм" и прибора "Биотокс"

Биосенсор "Эколюм" представляет собой лиофилизированные культуры люминесцентных бактерий, содержащиеся в среде инертных газов в специальных стеклянных флаконах. Производится согласно ТУ 6-09-20-236-93. Биосенсор, содержащийся при температуре 2-4° С, имеет гарантированный срок хранения не менее 6 месяцев.

Специализированный люминометр "Биотокс-10" является измерительным прибором, предназначенным для проведения токсиколого-гигиенического мониторинга объектов окружающей среды, с использованием микробных биолюминесцентных сенсоров 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 в лабораторных условиях.

Портативный прибор "Биотокс-10" может осуществлять следующие функции в автоматическом режиме: определение интенсивности биолюминесценции тест-объекта, индекса токсичности пробы, усредненной величины индекса токсичности, вычисление стандартного отклонения показателя токсичности, определения величин ЕС20 и ЕС50 -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.

7. Оборудование

Прибор серии “Биотокс”, производимый согласно ТУ-446-У-028-00-ОТУ, с набором кювет для измерения биолюминесценции объемом 1,5 мл;
электроаспиратор с расходомером тип ЭА-1, ЭА-2, ПУ-ЭР/220, ПУ-ЭР/12 и подобные ТУ 25-11.1591-81;
весы лабораторные общего назначения ГОСТ 24104;
рН-метр ГОСТ 25.7416.0171 или аналоги;
термометр лабораторный 0-55°С, цена деления шкалы - 0,5°С, ГОСТ 215;
сушильный электрический шкаф ГОСТ 13474;
термостат суховоздушный электрический ТС 80 МУ 4.2 ТУ 64-1-1382-76Е;
холодильник бытовой, обеспечивающий замораживание (-18 ± ГС) и хранение проб (+2 * +4°С).

8. Вспомогательные устройства и лабораторная посуда

Часы сигнальные ТУ 25-07-57;
подставка (из пластика, дерева) с углублением для пенициллиновых пузырьков или измерительных кювет, на которой можно разместить не менее 12 кювет;
пипетки автоматические дозаторы любого типа объемом 0.02-0.5 мл ± 1,0%;
цилиндры вместимостью 25, 50 мл второго класса точности ГОСТ 1770;
стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 10, 50 мл ГОСТ 25336;
пипетки вместимостью 0,5 и 1,0 мл ГОСТ 29227;
флаконы и банки, стеклянные с навинчивающейся крышкой или с притертой пробкой для отбора и хранения проб и реактивов вместимостью 10,50, 100мл;
воронки лабораторные ГОСТ 25336.

9. Реактивы и материалы

Лиофилизированная культура тест-организмов “Эколюм” ТУ-06-09-20-236-93;
бумажные фильтры обеззоленные типа ФОб (красная, белая ленты), ТУ 6-09-1678;
вода дистиллированная ГОСТ 6709;
натрия гидроокись ГОСТ 4328;
кислота соляная ГОСТ 3118;
кислота серная ГОСТ4204;
спирт этиловый ТУ 6-091710;
цинк сернокислый 7-водный ГОСТ 4174;
бумага индикаторная универсальная для измерения рН;
фильтры АФА-ХА-20.

10. Условия безопасного проведения работ

10.1. При работе с химическими веществами необходимо соблюдать требования техники безопасности по ГОСТ 12.4.021.

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

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

10.4. Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

10.5. Используемые в качестве биотестов лиофилизированные бактерии не патогенны, однако после каждого анализа необходимо стерилизовать всю использованную посуду, остатки растворов в сушильном шкафу при 105°С в течение 1 часа.

10.6. Хранить тест-культуру “Эколюм” в холодильнике при температуре от -18°С до +2 - +4°С, следует беречь культуру лиофилизированных бактерий от нагревания и резкой смены температуры.

11. Требования к квалификации лиц, проводящих биотестирование

Определение токсичности по настоящей методике выполняется оператором с квалификацией лаборант, имеющий опыт работы в области токсикологии.

12. Условия выполнения измерений

Биотестирование проводится в нормальных лабораторных условиях в соответствии с ГОСТ 15150. Помещение не должно содержать токсичных паров и газов.

Температура окружающего воздуха в лаборатории от 18 до 25°C. Относительная влажность воздуха 80±5%. Атмосферное давление 84-106 кПа (630-800 мм рт.ст.).

При использовании электроприборов частота переменного тока 50 ± 1 Гц. Напряжение сети 220 ± 10 В.

Освещение помещения естественное или искусственное, не ограничивается особыми требованиями.

13. Подготовка к проведению измерений

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 пробу.

13.1. Подготовка посуды для отбора, хранения проб и биотестирования

Обычно используется посуда из 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 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 сушат на воздухе, а используемую для биотестирования, за исключением мерной, - в сушильном шкафу при 105°C 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.

13.2. Отбор, транспортировка, хранение и подготовка проб.

13.2.1. Отбор проб, их хранение и транспортировка осуществляется в соответствии с руководящими документами, действующими в системе Государственного санитарно-эпидемиологического контроля. РД 52.04.186-89. Руководство по контролю загрязнений атмосферы. Утв. Госкомгидромет СССР и Минздрав СССР. М., 1991.

13.2.2. Отбор твердых и аэрозольных частиц атмосферного воздуха или воздуха жилых помещений и общественных зданий производится на фильтры АФА-ХА-20 в объеме 10 м³ с помощью стандартных электроаспираторов с расходомером типа ПУ-ЭР/220, ПУ-ЭР/12, ЭА-1, ЭА-2 и других, рекомендованных Департаментом Санэпиднадзора МЗ РФ для проведения экологического и санитарно-гигиенического контроля, атмосферного воздуха, воздуха промышленной зоны и воздуха жилых и общественных зданий.

При отборе проб атмосферного воздуха в протоколе опытов необходимо фиксировать метеоусловия (температуру и влажность воздуха, направление и силу ветра, атмосферное давление). После отбора проб фильтры следует поместить в чистые стеклянные бюксы или стаканы с закрывающимися пробками.

Все последующие этапы оценки токсичности желательнее проводить в максимально сжатые сроки. При необходимости фильтры можно хранить в темноте при температуре 2-4°C в течение суток.

13.2.3. Фильтры, извлеченные из фильтродержателей, помещают в стеклянный стакан объемом 10 мл, заливают дистиллированной водой (рН 7.0-7.4) объемом 5 мл так, чтобы вода покрывала весь

фильтр, и выдерживают при комнатной температуре в течение 1 часа. После этого отбирают определенный объем воды и проводят анализ.

13.2.4. Берут чистый фильтр, извлекают его из фильтродержателя, помещают в стеклянный стакан объемом 10 мл, заливают дистиллированной водой объемом 5 мл так, чтобы вода покрывала весь фильтр, и выдерживают при комнатной температуре в течение 1 часа. После этого отбирают определенный объем воды и используют его в анализе в качестве контрольного раствора.

13.2.5. При проведении биотестирования температура исследуемой пробы должна соответствовать температуре тест-объекта. Температурный оптимум для биотеста составляет 15-25°C.

13.3. Подготовка тест-объекта “Эколюм” и прибора “Биотокс”

13.3.1. Реконструкция биосенсора.

13.3.1.1. Вскрыть флакон с лиофилизированным биореагентом. Добавить 10 мл охлажденной до 4-8°C дистиллированной воды, pH 7.0-7.4 -получают суспензию бактерий. Желательно использовать стерилизованную дистиллированную воду. Рекомендуется несколько раз встряхнуть флакон с суспензией бактерий.

13.3.1.2. Выдержать суспензию в холодильнике при температуре 2-4°C в течение 30 минут.

13.3.1.3. Довести температуру суспензии бактерий до комнатной температуры (15-25°C). Рекомендуется перемешивание рабочей суспензии бактерий перед отбором определенных объемов для проведения анализа.

13.3.2. Подготовку прибора “Биотокс” проводят в соответствии с методикой поверки прибора и инструкцией по эксплуатации.

13.3.3. Определение рабочей концентрации биосенсора “Эколюм”. 13.3.3.1. Измерить фоновое значение прибора “Биотокс” (по инструкции к прибору, при счете 10 сек без кюветы) и записать это значение.

13.3.3.2. Добавить 0.1 мл суспензии бактерий из флакона в кювету, лю-минометра. Затем туда же добавить 0.9 мл дистиллированной воды (pH 7.0-7.4, комнатная температура).

13.3.3.3. Вставить кювету с биореагентом в люминометр и измерить величину интенсивности биолюминесценции за 10 сек. Записать эту величину.

13.3.3.4. Свечение рабочей суспензии бактерий должно находиться в интервале, превышающим фоновое значение прибора в 25-250 раз. Если обнаруженная величина меньше интервала, то увеличить добавку биосенсора (например, добавлять 0.2 мл и т.д.) и повторить измерение. Если величина больше интервала, то следует разбавить суспензию бактерий дистиллированной водой и повторить измерение.

13.3.4. Если у биосенсора истек гарантийный срок хранения и/или он стал плохо растворяться в холодной дистиллированной воде, рекомендуется более энергично его встряхивать и отфильтровать суспензию бактерий через бумажный фильтр.

14. Процедура биотестирования

14.1. Определение индекса токсичности.

При определении индекса токсичности необходимо проводить параллельное измерение контрольных и опытных проб. Рекомендуется иметь не менее трех повторностей опытной пробы. Для большей достоверности данных число повторностей опытной пробы может быть увеличено до 10 измерений. Существует два варианта измерений. Первый вариант - измеряется контрольная проба и запоминается значение интенсивности свечения. Затем измеряются повторности опытной пробы, и прибор автоматически фиксирует значения индекса токсичности каждой пробы, усредненное значение индекса токсичности и погрешности измерения. Второй вариант - измеряются последовательно три (или более) пары контроль-опыт. В каждой паре прибор автоматически фиксирует индекс токсичности и в конце измерения выдает значения усредненного индекса токсичности пробы и значения погрешности измерения. Объем добавляемой суспензии бактерий к пробе может быть произвольным, но равным в контроле и исследуемой пробе.

14.1 Л. В стандартном анализе отбирают по 0.1 мл рабочей суспензии бактерий и добавляют в три кюветы от люминометра контрольные и три (или более) кюветы для пробы. Затем добавляют в контрольные кюветы по 0.9 мл дистиллированной воды, которая была в контакте с контрольным фильтром. Добавляют в остальные кюветы опытную пробу по 0.9 мл, замечают время экспозиции и через определенный интервал времени измеряют интенсивность биолюминесценции бактерий и индекс токсичности на приборе “Биотокс”.

14.1.2. Измерение интенсивности биолюминесценции и индекса токсичности проводят с помощью прибора "Биотокс" согласно инструкции по эксплуатации прибора в стандартном варианте через 30 минут экспозиции. В экспрессном варианте допустимо проведение анализа через 5 минут.

14.2. Определение токсикологических параметров пробы, ЕС20 и ЕС50.

Эта операция предназначена для быстрого выяснения вопроса, при каких объемах исходного слабо токсического образца достигается установленный предел токсичности (ЕС20 и/или ЕС50) или при каких разведениях сильно токсический образец станет безопасным (величины менее ЕС20).

ЕС50 есть эффективный объем образца вызывающий тушение свечения биосенсора на 50% по сравнению с контролем. В этом случае образец сильно токсичен. ЕС20 есть эффективный объем образца, который приводит к 20%-ному тушению свечения биосенсора по сравнению с контролем. В этом случае образец токсичен. Все значения величин менее ЕС20 свидетельствуют о том, что образец безвреден для человека.

Вычисление величин ЕС проводят с использованием достаточно известной в токсикологии гамма-функции. Гамма-функция (G) представляет 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 биолюминесценции в контроле и опыте. Функция G очень удобна для точного определения величин ЕС20 и ЕС50 путем экстраполяции графической зависимости в случаях, когда токсичность образца очень небольшая или, наоборот, когда образец сильно токсичен. График G-функции в логарифмических координатах против объемов пробы (или концентрации отдельного вещества) теоретически есть прямая линия молекулярности реакции токсического вещества с одной или несколькими мишенями, связывающими эти токсиканты в тест-объекте. Люминометр "Биотокс" позволяет автоматически представлять величины G для каждой пробы, а также вычисляет величины ЕС20 и ЕС50 (см. описание к прибору "Биотокс").

14.2.1. Рекомендуется перед определением коэффициентов ЕС убедиться при измерении токсичности (п. 14.1) 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.

14.2.2. После вывода прибора в режим измерения ЕС для измерения параметров исследуются 4 пробы, получаемые путем разбавления исследуемой пробы 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.

14.2.3. Определение гамма-функции для каждого из предварительно разведенных образцов проводят в соответствии с процедурой определения показателя индекса токсичности (п. 12.1) за исключением введения дополнительной команды. При этом микроконтроллер по данным, хранящимся в оперативной памяти об интенсивности биолюминесценции в контрольных и опытных пробах (соответственно I_0 и I), производит вычисление G-функции с представлением результата на дисплее. При интенсивности биолюминесценции опыта больше или равным контролю вычисление не производится.

15. Обработка, оценка и оформление результатов

15.1. Оценку токсичности пробы проводят по относительному различию в интенсивности биолюминесценции контрольной и опытной проб и вычислению индекса токсичности "Т" (прибор "Биотокс" позволяет автоматически вычислять индекс токсичности). Абсолютная величина интенсивности биолюминесценции контроля не имеет принципиального значения в диапазоне допустимых значений прибора "Биотокс".

15.2. Индекс токсичности "Т" есть величина безразмерная, и определяется по формуле $T = 100 (I_0 - I) / I_0$, где I_0 и I 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 $T_1 - T_3$ - повторности проб. Величины T_1 , T_2 и T_3 получают из трех параллельных измерений контроль-опыт в короткий промежуток времени или при измерении в последовательности контроль, и затем серия опытного образца (до 10 повторностей).

15.3. В случае определения токсичности пробы (Т равно или больше 20) можно определить

насколько это связано со значениями pH исследуемого раствора. Для этого измеряют pH пробы и, если величина pH находится за пределами 6.5-8.0, приводят pH до значений 7.0-7.4 и повторяют измерение токсичности.

15.4. 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 о допустимой токсичности образца, и индекс токсичности принимает нулевое значение.

15.5. По величине индекса токсичности анализируемой пробы классифицируются на три группы

Группы	Значение "Т"	Вывод о степени токсичности пробы
1	меньше 20	допустимая степень токсичности
2	от 20 до 50	образец токсичен
3	равно или больше 50	образец сильно токсичен

15.6. Прибор серии "Биотокс-10" обеспечивает в автоматическом режиме вычисление усредненного значения индекса токсичности, погрешности измерения индекса токсичности и гамма-функции исследуемой пробы (токсикологических характеристик - EC20 и EC50).

15.7. Результат токсикологического анализа представляется в виде протокола (Приложение 1).

16. Контроль погрешности методики токсикологического анализа

16.1. Контроль качества оценки токсичности проводится по определению чувствительности тест-организмов к модельному "эталонному" токсиканту цинку сернокислому 7-водного ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). Расчет делается на ионы цинка. Диапазон концентраций модельного токсиканта, при действии которого в течение 30 минут интенсивность биолюминесценции ингибируется на 50%, составляет 0.6-1.5 мг/л.

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.

16.2. Процедура определения диапазона реагирования тест-системы "Эколюм" на модельный токсикант проводится в соответствии с аттестацией 4/7-93 путем действия раствора, содержащего 4.4 мг/л цинка сернокислого, при времени инкубации 30 минут с биосенсором. Должно происходить не менее чем 50%-ное ингибирование интенсивности биолюминесценции по сравнению с контролем. В случае если эта величина меньше, то следует проверить точность приготовления исследуемых растворов, условий проведения опытов. Если все правильно, то биосенсор не используется.

Приложение 1 (рекомендуемое) Форма регистрации условий и результатов биотестирования

ПРОТОКОЛ № определения токсичности пробы с помощью биотеста "Эколюм"

Наименование организации

Наименование пробы и место отбора

Метеорологические условия

Дата, время отбора пробы

Условия отбора и транспортировки пробы

Дата измерения проб

Число повторностей измерения проб

Условия проведения анализа

Результаты биотестирования Усредненный индекс токсичности

Погрешность измерения

Оценка токсичности пробы

Оператор, Ф.И.О.