

# **JAKOST VOD – STANOVENÍ AKUTNÍ LETÁLNÍ TOXICITY LÁTEK PRO SLADKOVODNÍ RYBY ČSN EN ISO 7346-2**

**Lenka Mikulášková**

Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 7346-2:1997

# Tři části ISO 7346

1. Statická metoda – roztok se neobnovuje  
(jednoduché zařízení, látky se mohou v průběhu rozložit-  
zhoršení jakosti vody)
2. Obnovovací metoda – zkoušené roztoky  
obnovovány každých 24 h nebo 48 h
3. Průtočná metoda – nepřetržité obnovování



# Zkušební organismus

Danio pruhované

*Brachydanio rerio*

nadřád: *Teleostei*

čeleď: *Cyprinidae*



Vlastnosti potřebné pro test:

- celková délka 30 mm  $\pm$ 5 mm, což odpovídá hmotnosti 0,3 g  $\pm$ 0,1 g
- populace jednotného původu
- populace musí být aklimatizována a nejméně 7 dní před zkouškou udržována v ředící vodě
- krmení až do 24 h před zkouškou

Metoda je použitelná i pro určité další druhy sladkovodních ryb, ale musí být k jejich použití přizpůsobena.

(úpravou zkušebních podmínek- objem a jakost ředící vody, teplota)



# PODSTATA ZKOUŠKY

- Stanovení koncentrace, ve které jsou látky za určených podmínek letální pro 50% zkušební populace *Brachydanio rerio*, vystavené této látce po dobu 24 h, 48 h, 72 h, 96 h.

Dvě etapy:

- a) Předběžná zkouška- určení rozsahu koncentrací, údaje o akutních středních letálních koncentracích
- b) Základní zkouška



# ŘEDÍCÍ VODA

- hodnota pH  $7,8 \pm 0,2$  a suma vápníku a hořčíku (tvrdost) 2,5 mmol/l
- koncentrace rozpuštěných solí v destilované nebo demineralizované vodě:
  - 294,0 mg/l  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
  - 123,3 mg/l  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
  - 63,0 mg/l  $\text{NaHCO}_3$
  - 5,5 mg/l KCl
- provzdušňuje se, koncentrace rozpuštěného kyslíku nejméně 90% rovnovážného nasycení vlhkým vzduchem



# ZÁSObNÍ ROZTOKY ZKOUŠENÝCH LÁTEK

- připraví se rozpuštěním známé hodnoty zkoušené látky v definovaném objemu ředící, demineralizované nebo destilované vody
- k rozpuštění či dispergaci látek s nízkou rozpustností je dovoleno použít vhodné prostředky (ultrazvuk, organická rozpouštědla -  $c < 0,1 \text{ ml/l}$ )
- dvě kontroly:
  1. s rozpouštědlem v nejvyšší koncentraci
  2. bez rozpouštědla i zkoušené látky

## ZKOUŠENÉ ROZTOKY

- zásobní roztok zkoušené látky v ředící vodě
- ne více jak 100 ml zásobního roztoku na 10 l ředící vody



# PŘÍSTROJE A POMŮCKY

- všechny materiály, které přijdou do styku s rybami, musí být inertní a nesmí absorbovat zkoušenou látku
- nesmí být překročen dávkovací poměr 1 g ryb na litr vody
- nádoby se umyjí (neiontovým detergentem)
- teplota vody v nádržích  $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- zkoušky se provádějí při normálním laboratorním osvětlení s denní fotoperiodou od 12 h do 16 h



# POSTUP ZKOUŠKY

## Limitní zkouška

- důkaz, že 96 h LC50 je větší než rozpustnost zkoušené látky ve vodě

## Předběžná zkouška

- 6 nádob s 2,5 l- 5 l ředící vody
- 5 s vhodným objemem zásobního roztoku (geometrická řada koncentrací)
- vytemperováno na teplotu  $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  a během zkoušky se neprovzdušňuje
- do každé nádoby 3 ryby
- po 24 h nebo 48 h se připraví nové roztoky do nových nádob a přendají se do nich živé ryby, to opakujeme každých 24 h nebo 48 h
- nejméně 2x denně se zaznamenává počet uhynulých ryb a koncentrace rozpuštěného kyslíku





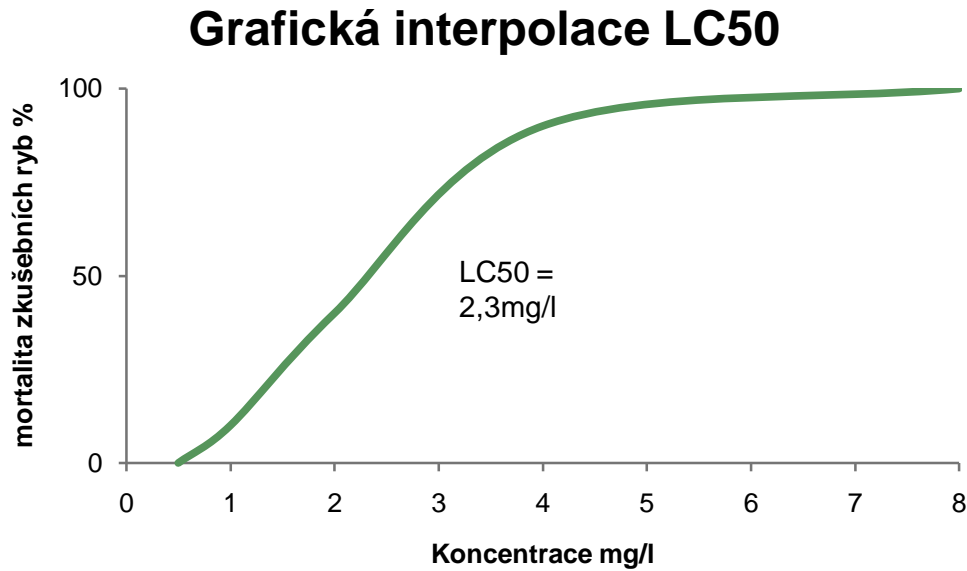
## Základní zkouška

- 5 koncentrací zahrnujících nejnižší, ve které za 96 h uhynuly všechny ryby, a nejvyšší neletální koncentraci
- 6 nádob, do každé se umístí 7 náhodně vybraných ryb
- po 24 h nebo 48 h se připraví nové roztoky do nových nádob a ihned se do nich přenesou živé ryby (začíná se od nejnižší koncentrace)
- nejméně 1x denně se zaznamenává počet uhynulých ryb, jakékoliv nezvyklé chování, koncentrace rozpuštěného kyslíku, pH a teplota
- je-li látka stálá, stanoví se koncentrace v nádobách nejméně na začátku a na konci první a poslední obnovovací periody
- je-li látka nestálá, stanovuje se koncentrace na počátku a na konci každé obnovovací periody



# STANOVENÍ LC50

## Grafické vyhodnocení



# PROTOKOL

- odkaz na tuto část ISO 7346
- chemické určení a další informace o zkoušené látce
- metoda přípravy ředící vody a zásobních a zkoušených roztoků
- všechny chemické, biologické a fyzikální údaje, týkající se zkoušky (podmínky aklimatizace)
- údaje brané v úvahu při hodnocení platnosti zkoušky (mortalita, koncentrace rozpuštěného kyslíku)
- hodnoty LC50
- grafické znázornění závislosti mortality na koncentraci
- jakékoliv neobvyklé reakce ryb
- jakékoliv odchylky od postupu

