

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
ИСО 11266—  
2016

---

## КАЧЕСТВО ПОЧВЫ

Оценка аэробной биоразлагаемости  
органических химических веществ в почве

(ISO 11266:1994, IDT)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2016

## Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Некоммерческим партнерством «Координационно-информационный центр содействия предприятиям по вопросам безопасности химической продукции» (НП «КИЦ») 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. № 741-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 11266:1994 «Качество почвы. Оценка аэробной биоразлагаемости органических химических веществ в почве» (ISO 11266:1994 «Soil quality — Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions», IDT).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты Российской Федерации и межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

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))*

© Стандартинформ, 2016

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

## Содержание

1 Область применения . . . . .	1
2 Нормативные ссылки . . . . .	1
3 Термины и определения . . . . .	1
4 Сущность метода . . . . .	2
5 Материалы . . . . .	2
5.1 Почва . . . . .	2
5.2 Испытуемые материалы . . . . .	3
6 Отбор проб . . . . .	3
7 Проведение испытания . . . . .	3
7.1 Введение испытуемого вещества . . . . .	3
7.2 Инкубация . . . . .	3
7.3 Анализ . . . . .	5
8 Представление результатов . . . . .	5
9 Протокол испытания . . . . .	5
Приложение А (справочное) Библиография . . . . .	6
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам Российской Федерации . . . . .	7

## Введение

Органические вещества могут быть введены в почву как намеренно, так и случайно, после чего они могут разлагаться биологически. Для химических веществ, которые разлагаются, скорость разложения может варьироваться в зависимости не только от молекулярной структуры химического соединения, а также и от почвенных условий, таких как температура, вода и доступ кислорода, которые влияют на активность микроорганизмов. Активность микроорганизмов часто играет важную роль в процессах разложения.

Для оценки скорости и степени биоразложения и, таким образом, персистентности органических химических веществ в почве должны быть соответствующие лабораторные испытания. Для оценки аэробного биоразложения существует большое число методов, но они значительно отличаются в зависимости от конкретных обстоятельств, например типа почвы, температуры и времени инкубации.

В настоящем стандарте приведены общие руководства для отбора и проведения испытаний для определения биоразлагаемости органических химических веществ в аэробных почвах.

На момент разработки стандарта не было единого мнения о методологии проведения испытаний биоразлагаемости в анаэробных почвах для разработки руководств.

## КАЧЕСТВО ПОЧВЫ

## Оценка аэробной биоразлагаемости органических химических веществ в почве

Soil quality. Evaluation of aerobic biodegradation of organic chemicals in soil

Дата введения — 2017—02—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает рекомендации по выбору и проведению соответствующих методов испытаний для определения биоразложения органических химических соединений в аэробных почвах. В стандарте не приведено какого-либо конкретного метода испытания.

## 2 Нормативные ссылки

ISO 9408:1991 Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the «ultimate» aerobic biodegradability of organic compounds — Method by determining the Oxygen demand in a closed respirometer (Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод оценки полной аэробной биоразлагаемости путем определения кислородной потребности в закрытом респиromетре)

ISO 10381-6:2009 Soil quality — Sampling — Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory (Качество почвы. Отбор образцов. Часть 6. Руководство по отбору, транспортировке и хранению образцов почвы для лабораторной оценки аэробных микробных процессов)

ISO 10390:1994 Soil quality — Determination of pH (Качество почвы. Определение pH)

ISO 10694:1995 Soil quality — Determination of organic and total carbon after dry combustion («Element analysis») (Качество почвы. Определение содержания органического и общего углерода после сухого сжигания (элементарный анализ))

ISO 11260:1994 Soil quality — Determination of cation exchange capacity and base Saturation — Method using barrum chloride Solution (Качество почвы. Определение эффективной катионообменной способности и порога насыщения с применением раствора хлорида бария)

ISO 11261:1995 Soil quality — Determination of total nitrogen — Kjeldahl method using titanium dioxide as catalyst (Качество почвы. Определение содержания общего азота. Модифицированный метод Кьельдаля)

ISO 11274:1998 Soil quality — Determination of the water retention characteristic — Laboratory methods (Качество почвы. Определение водоудерживающей способности. Лабораторные методы)

ISO 11277:2009 Soil quality — Determination of particle size distribution (Качество почвы. Определение гранулометрического состава минеральных почв. Метод просеивания и осаждения)

ISO 11461:2001 Soil quality — Determination of soil water content calculated on a volume basis — Gravimetric method (Качество почвы. Определение содержания почвенной влаги в виде объемной доли с применением трубок для отбора пробы. Гравиметрический метод)

## 3 Термины и определения

**3.1 биоразложение (biodegradation):** Разложение на молекулярном уровне органических соединений, происходящее в результате комплексного воздействия живых организмов.

**3.2 первичное биоразложение** (primary biodegradation): Разложение вещества в степени, достаточной для исчезновения некоторых характерных свойств исходной молекулы. На практике это определяется таким анализом, как потеря исходного соединения или утрата некоторых специфических функций исходного соединения.

**3.3 полное биоразложение** (ultimate biodegradation): Разрушение органического соединения диоксидом углерода, водой, оксидами или минеральными солями каких-либо присутствующих элементов и продуктов, связанных с обычными процессами метаболизма микроорганизмов.

**3.4 персистентность** (persistente): Продолжительность пребывания химических веществ в конкретном определенном объекте окружающей природной среды.

**3.5 время исчезновения DT-50** (the disappearance time DT-50): Время, за которое концентрация данного соединения уменьшается на 50 % от исходного значения.

**3.6 время исчезновения DT-90** (the disappearance time DT-90): Время, за которое концентрация конкретного соединения уменьшается на 90 % от исходного значения.

**3.7 связанные остатки, неэкстрагируемые остатки** (bound residues; non-extractable residues): Химические соединения в растениях и почвах, образовавшиеся из, например, органических молекул, которые не извлекаются методами, которые существенно не изменяют химическую природу этих остатков. Такие неэкстрагируемые остатки рассматривают для учета недостающих фрагментов метаболических процессов, приводящих к образованию конечных продуктов. (Для примеров и дополнительной информации см. [3] в приложении А.)

**3.8 минерализация** (mineralization): Полное разложение органического вещества в неорганические продукты.

## 4 Сущность метода

После добавления испытуемого соединения в выбранную почву (5.1) биоразложение измеряют в аэробных условиях (ИСО 9408). Использование соединения, помеченного радиоактивным изотопом, позволяет определить степень исчезновения испытуемого соединения и образование метаболитов, диоксида углерода, других летучих соединений и неэкстрагируемого остатка. Метаболиты следует идентифицировать, используя соответствующие аналитические методы. Исчезновение испытуемого соединения может также сопровождаться отдельным видом анализа.

## 5 Материалы

### 5.1 Почва

При практической осуществимости почвы, выбранные для испытания, следует отбирать непосредственно из места предполагаемого химического контакта. В случае, если невозможно получить чистые образцы из-за уже присутствующего загрязнения, выбранные почвы должны иметь сопоставимые свойства.

История поля используемой почвы должна быть изучена и приняты во внимание последние изменения, такие как методы обработки почвы и применение пестицидов. Должны быть представлены точные данные о месте отбора проб, расположении, присутствии растений или предыдущих культур, дате извлечения образца из поля и глубине отбора.

#### 5.1.1 Характеристики почвы

Знания характеристик почвы существенны для полной интерпретации результатов изучения. Также рекомендуется, чтобы по меньшей мере следующие испытания были проведены на выбранной почве:

а) физические свойства:

- 1) анализ размера частиц в соответствии с ИСО 11277;
- 2) содержание почвенной влаги в соответствии с ИСО 11461;
- 3) общая водоудерживающая способность и/или характеристика задерживания воды в соответствии с ИСО 11274;

б) химические свойства:

- 1) pH почвы в соответствии с ИСО 10390 или pH в растворе KCl или растворе CaCl<sub>2</sub>;
- 2) содержание органических веществ в соответствии с ИСО 10694;
- 3) емкость катионного обмена (СЕС) в соответствии с ИСО 11260;
- 4) содержание азота в соответствии с ИСО 11261;

с) биологические свойства:

Деятельность микроорганизмов определяют либо с помощью соответствующего биоразлагаемого вещества сравнения, либо путем определения активной биомассы в соответствии с нормативным документом.

**Примечание** — Может быть полезно определить деятельность микроорганизмов перед проведением испытания на биоразложение и определить, протекают ли какие-либо изменения в деятельности микроорганизмов во время испытания.

## 5.2 Испытуемые материалы

Вещества для испытания должны быть чистыми химическими веществами (химическая чистота более 98 %). Учитывают влияние носителей или ингредиентов композиции.

Для интерпретации результатов важны следующие данные о соединении:

- наименование (IUPAC);
- структура;
- относительная молекулярная масса;
- чистота;
- стабильность в воде и органических растворителях;
- растворимость в воде;
- давление паров;
- коэффициент распределения октанол/вода;
- константа сорбции;
- константа кислотной диссоциации;
- для химических веществ, помеченных радиоактивным изотопом:  
характер и положение метки,  
удельная радиоактивность,  
радиохимическая чистота.

**Примечание** — Результаты исследований с использованием материалов, помеченных радиоактивным изотопом, зависят от положения радиоактивного изотопа. Метка должна быть расположена таким образом, чтобы процесс трансформации проходил, насколько это возможно.

## 6 Отбор проб

Отбор проб осуществляют в соответствии с ИСО 10381-6, что позволяет обеспечить максимальную жизнеспособность микроорганизмов почвы.

## 7 Проведение испытания

### 7.1 Введение испытуемого вещества

Концентрация испытуемого вещества зависит от целей эксперимента. Испытуемое химическое вещество может быть добавлено следующими путями:

- a) в воду (в зависимости от растворимости в воде);
- b) в органические растворители (в зависимости от растворимости растворителя). Количество используемого растворителя должно поддерживаться на уровне минимально необходимого для применения соединения. Следует принять во внимание возможную токсичность и биоразлагаемость растворителя;
- c) непосредственно в виде твердого вещества, например в смеси с кварцевым песком.

С осторожностью следует добавлять испытуемый материал при высоких уровнях токсичности. Токсичные соединения или соединения, которые оказывают ингибирующее воздействие на почвенные микроорганизмы при примененной концентрации, будут мешать определению биоразложения. Также следует проявить осторожность, если вещество добавлено в воду, чтобы избежать переувлажнения или уплотнения почвы.

### 7.2 Инкубация

Обработанный образец почвы разделяют на равные части как минимум по 50 г (сухая масса эквивалента) и помещают в инкубационные колбы. Проводят инкубацию не менее двух проб для каждого определения. При увеличении количества повторов повышается точность испытания.

При использовании немаркированного исследуемого материала контрольные пробы следует запускать одновременно. Контрольные пробы должны содержать почву с водой или растворителем, который использовался для применения исследуемого материала в обработанных повторах.

### 7.2.1 Инкубационная система

Используемая инкубационная система будет зависеть от метода (методов) анализа и измерений. Доступен ряд систем, и некоторые из них перечислены в [1] и [2] в приложении А. Используемая инкубационная система должна гарантировать, что достаточное количество кислорода присутствует для поддержания аэробных условий. Если необходимо провести разделение между процессами биологического разложения и какого-либо еще разложения или рассеяния, необходимо использовать стерильную инкубацию.

Если для отслеживания процесса разложения используется оценка диоксида углерода, следует с осторожностью использовать щелочные почвы. Такие почвы могут абсорбировать диоксид углерода, что будет приводить к заниженной оценке выделения диоксида углерода.

Если измерение минерализации проводят с нерадиоизотопным соединением, следует обращать внимание на скорость минерализации контрольного образца и возможное выделение диоксида углерода из неорганических карбонатов.

Примечание — Ряд систем приведен в [1] и [2] в приложении А.

### 7.2.2 Условия инкубации

#### 7.2.2.1 Освещение

Инкубацию проводят в темноте во избежание роста водорослей на поверхности почвы. Однако если нужно учитывать влияние водорослей на процесс биоразложения, следует подобрать подходящие условия освещения. При таких условиях влияние фотоллиза на разложение может быть значащим и должно быть принято во внимание.

#### 7.2.2.2 Температура

Температуру инкубации следует подбирать в соответствии с особыми целями исследования. Обнаружено, что максимальная микробная активность в почве наблюдается в диапазоне от 25 °С до 35 °С. Для почв зон умеренного климата температура от 10 °С до 25 °С является представительной естественных условий. Минимум и максимум температуры следует измерять и записывать с регулярными интервалами в течение процесса инкубации, и они не должны отличаться более чем на  $\pm 2$  °С.

#### 7.2.2.3 Содержание воды

Содержание воды в почве должно соответствовать специфическим целям исследования. Содержание воды следует определять в начале исследования и следить за ним на протяжении всего процесса инкубации путем взвешивания. Любая потеря воды должна быть восполнена соответствующим количеством деионизированной или дистиллированной воды. Естественное содержание воды должно поддерживаться в пределах  $\pm 5$  %.

Содержание воды наиболее целесообразно выражать как давление поровой воды. Деятельность микроорганизмов в почвах оптимальна между  $-0,01$  МПа и  $-0,031$  МПа и возрастает по мере того, как почва становится переувлажненной (давление поровой воды около нуля) или чрезмерно сухой при большом отрицательном давлении поровой воды.

Давление поровой воды следует определять в соответствии с ИСО 11274.

В другом случае водоудерживающая способность (WHC) может использоваться, но это не рекомендуется, так как это не дает сравнимых измерений между образцами разных почв. Максимальная микробная активность обычно находится в пределах от 40 % до 60 % максимальной WHC данной почвы, также такая высокая WHC, как 75 %, может использоваться для специальных целей.

Примечание — Более подробная информация приведена в [4] (приложение А).

### 7.2.3 Продолжительность испытания

Рекомендуемой минимальной продолжительности для испытания не существует, так как активность микроорганизмов в почве возрастает при длительных инкубационных периодах, при этом рекомендуется, что испытание не следует продолжать более 120 дней.

### 7.2.4 Отбор проб

Пробы следует отбирать в течение инкубационного периода через регулярные интервалы времени, в зависимости от продолжительности испытания и скорости биоразложения испытываемого материала. Требуется по меньшей мере пять точек отбора пробы для построения кривой разложения. Поскольку многие материалы разлагаются намного быстрее во время ранних этапов инкубации, рекомендуется следующая частота отбора проб: 0 дней, 2 дня, 4 дня, 8 дней, 16 дней, 32 дня, 64 дня и 120 дней после



начала инкубации. При разрушаемых методах отбора проб, например прямом анализе почвы, рекомендуется постепенно отбирать все содержимое индивидуальной инкубационной колбы.

### 7.3 Анализ

Тип анализа зависит от целей исследования и от того, требуются ли данные первичного и/или полного биоразложения.

Анализы, выбранные для мониторинга процесса разложения, зависят от самих химических веществ и от того, является ли соединение помеченным радиоактивным изотопом или нет.

Рекомендуется рассмотреть следующие виды анализа:

- a) для первичного разложения (вещества, не меченные радиоизотопом):
  - распад исходного соединения;
- b) для полного разложения (вещества, не меченные радиоизотопом):
  - определение поглощения кислорода и/или выделения диоксида углерода;
  - распад исходного соединения;
- c) для метаболизма (вещества, меченые радиоизотопом):
  - определение выделения меченого диоксида углерода;
  - определение летучих соединений (как исходных соединений, так и метаболитов);
  - определение экстрагируемой воды или растворителей;
  - определение неэкстрагируемых связанных остатков.

Для определения экстрагируемых материалов следует использовать растворители, которые не изменяют исходное соединение или его метаболиты. Следует соблюдать осторожность при проведении процедур экстракции, при которых будет удаляться большое количество экстрагируемых материалов. Анализ метаболитов и исходных соединений может быть проведен при помощи тонкослойной хроматографии (ТХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), газовой хроматографии (ГХ), масс-спектрометрии (МС) или спектрофотометрических измерений.

## 8 Представление результатов

Все данные следует представлять в табличной и графической форме (кривая разложения).

Значения DT-50 и DT-90 следует вычислять, используя, например, модели, приведенные в [6] (приложение А).

Дополнительная полезная информация включает определение летучих соединений, строение и персистентность метаболитов и неэкстрагируемые остатки.

**П р и м е ч а н и е** — Если биоразложения не наблюдается, наиболее вероятными являются следующие причины:

- a) испытуемое соединение токсично;
- b) испытуемое соединение не является биоразлагаемым;
- c) активность микроорганизмов в почве равна нулю.

**П р и м е ч а н и е** — Дополнительная информация по оценке результатов приведена в [5] (приложение А).

## 9 Протокол испытания

Протокол испытания разложения испытуемого соединения должен содержать следующую информацию:

- a) ссылку на настоящий стандарт;
- b) данные об используемом химическом веществе, см. 5.2;
- c) данные об используемых почвах, см. 5.1;
- d) данные о процедуре испытания, используемом методе испытания, используемых концентрациях, способах применения, данные по проведению испытания, данные отбора проб и т. п., см. п. 7;
- e) данные об используемых аналитических методах, например пределы обнаружения, процедуры контроля качества, анализируемые стандартные вещества;
- f) исходные необработанные данные результатов анализа;
- g) оценка и заключения.

Приложение А  
(справочное)

**Библиография**

- [1] Guth, J.A. Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil (1981), *Progress in Pesticide Biochemistry*, 1, pp. 85—114
- [2] Herrchen, M., Kördel, W., Klein, W. and Huber, R. (1988), Bioincubation System — a new compact and flexible System for biodegradation studies; *Proceedings 1988 Brighton Crop Protection Conference, Pest and diseases*, pp. 669—674
- [3] Keamey, P.C. IUPAC Pesticide Commission Report, Technical Communication (1982), *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 65, pp. 1030—1032
- [4] Paul, E.A. and Clark, F.E. *Soil Microbiology and Biochemistry* (1989), Academic Press. Inc.
- [5] Schinkel, K., Nolting, H.G. and Lundehn, J.R. Persistence of Plant Protection Products in the Soil — Degradation, Transformation and Metabolism (Dec. 1986), *Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, Part IV, 4-I*
- [6] Timme, G., Frehse, H. and Laska, V. Interpretation und graphische Darstellung des Abbauverhaltens von Pflanzenschutzmittel-Rückständen (1986), *II. Pflanzenschutz-Nachrichten, Bayer* 39, pp. 188—204

**Приложение ДА  
(справочное)**

**Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов  
национальным стандартам Российской Федерации**

Т а б л и ц а ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ISO 9408:1991	IDT	ГОСТ Р ИСО 9408—2016 «Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод оценки полной аэробной биоразлагаемости путем определения кислородной потребности в закрытом респирометре»
ISO 10381-6:2009	—	*
ISO 10390:1994	—	*
ISO 10694:1995	—	*
ISO 11260:1994	—	*
ISO 11261:1995	—	*
ISO 11274:1998	—	*
ISO 11277:2009	—	*
ISO 11461:2001	—	*
* Соответствующий национальный стандарт отсутствует.		
<p>П р и м е ч а н и е — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта: IDT — идентичный стандарт.</p>		

УДК 631.423.4:006.354

ОКС 13.080.30

Ключевые слова: качество почвы, химические элементы, органические соединения, испытания, лабораторные испытания, испытания почвы, определение, биоразлагаемость, общие условия

---

Редактор *И.А. Косорукова*  
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*  
Корректор *Л.С. Лысенко*  
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 06.07.2016. Подписано в печать 21.07.2016. Формат 60 × 84  $\frac{1}{8}$ . Гарнитура Ариал.

Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,20. Тираж 34 экз. Зак. 1739.

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)