

2017

Kvalita vod – Odběr vzorků –
Část 16: Návod pro biologické zkoušení vzorků

ČSN
EN ISO 5667-16

75 7051

idt ISO 5667-16:2017

Water quality – Sampling – Part 16: Guidance on biotesting of samples

Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons

Wasserbeschaffenheit – Probenahme – Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren

Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 5667-16:2017. Překlad byl zajištěn Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the European Standard EN ISO 5667-16:2017. It was translated by the Czech Office for Standards, Metrology and Testing. It has the same status as the official version.

Nahrazení předchozích norem

Touto normou se nahrazuje ČSN EN ISO 5667-16 (75 7051) z října 1999.

Národní předmluva

Změny proti předchozí normě

V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- doplnění nové kapitoly 3 Termíny a definice;
- podrobnější zpracování kapitoly týkající se odběru vzorků a jejich dopravy;
- úplné přepracování kapitoly Prokazování kvality pro biologické zkoušení.

Související ČSN

ČSN EN ISO 5667-1 (75 7051) Jakost vod – Odběr vzorků – Část 1: Návod pro návrh programu odběru vzorků a pro způsoby odběru vzorků

ČSN EN ISO 5667-3 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 3: Konzervace vzorků vod

a manipulace s nimi

ČSN EN ISO 5667-14 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 14: Návod pro prokazování a řízení kvality odběru vzorků vod a manipulace s nimi

ČSN EN ISO 5667-15 (75 7051) Jakost vod – Odběr vzorků – Část 15: Pokyny pro konzervaci a manipulaci se vzorky kalu a sedimentu

ČSN EN ISO 5667-19 (75 7051) Jakost vod – Odběr vzorků – Část 19: Návod pro odběr vzorků v mořských sedimentech

ČSN EN ISO 10253 (75 7742) Kvalita vod – Zkouška inhibice růstu mořských řas *Skeletonema costatum* a *Phaeodactylum tricornutum*

ČSN EN ISO 10993-12 (85 5220) Biologické hodnocení zdravotnických prostředků – Část 12: Příprava vzorků a referenční materiály

ČSN EN ISO 11074 (83 6150) Kvalita půdy – Slovník

ČSN EN ISO 11885 (75 7387) Jakost vod – Stanovení vybraných prvků optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES)

ČSN ISO 14442 (75 7743) Jakost vod – Návod na provedení zkoušek inhibice růstu řas s málo rozpustnými materiály, těkavými sloučeninami, kovy a odpadní vodou

ČSN EN ISO 15088 (75 7762) Jakost vod – Stanovení akutní toxicity vod pro jikry dania pruhovaného (*Danio rerio*)

ČSN EN ISO 19458 (75 7801) Jakost vod – Odběr vzorků pro mikrobiologickou analýzu

ČSN EN ISO 20079 (75 7745) Jakost vod – Stanovení toxických účinků složek vody na okřehek (*Lemna minor*) – Zkouška inhibice růstu okřešku

ČSN EN ISO/IEC 17025 (01 5253) Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří

ČSN P ISO/TS 20281 (75 7018) Jakost vod – Návod pro statistickou interpretaci ekotoxikologických údajů

TNI CEN ISO/TR 15462 (75 7782) Kvalita vod – Výběr zkoušek biologické rozložitelnosti

Vypracování normy

Zpracovatel: Sweco Hydroprojekt a. s., Praha, IČ 26475081, Ing. Lenka Fremrová

Pracovník Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví: Ing. Alena Mastná

EVROPSKÁ NORMA
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE
EUROPÄISCHE NORM

EN ISO 5667-16

Květen 2017

Kvalita vod - Odběr vzorků -
Část 16: Návod pro biologické zkoušení vzorků
(ISO 5667-16:2017)

Water quality - Sampling -
Part 16: Guidance on biotesting of samples
(ISO 5667-16:2017)

Qualité de l'eau - Échantillonnage -
Partie 16: Lignes directrices pour les essais
biologiques des échantillons
(ISO 5667-16:2017)

Wasserbeschaffenheit - Probenahme -
Teil 16: Anleitung zur Probenahme und
Durchführung
biologischer Testverfahren
(ISO 5667-16:2017)

Tato evropská norma byla schválena CEN dne 2017-02-09.

Členové CEN jsou povinni splnit vnitřní předpisy CEN/CENELEC, v nichž jsou stanoveny podmínky, za kterých se této evropské normě bez jakýchkoliv modifikací uděluje status národní normy. Aktualizované seznamy a bibliografické citace týkající se těchto národních norem lze obdržet na vyžádání v Řídicím centru CEN-CENELEC nebo u kteréhokoliv člena CEN.

Tato evropská norma existuje ve třech oficiálních verzích (anglické, francouzské, německé). Verze v každém jiném jazyce přeložená členem CEN do jeho vlastního jazyka, za kterou zodpovídá a kterou notifikuje Řídicímu centru CEN-CENELEC, má stejný status jako oficiální verze.

Členy CEN jsou národní normalizační orgány Belgie, Bulharska, Bývalé jugoslávské republiky Makedonie, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.



Evropský výbor pro normalizaci
European Committee for Standardization

Comité Européen de Normalisation

Europäisches Komitee für Normung

Řídicí centrum CEN-CENELEC: Avenue Marnix 17, B-1000 Brusel

© 2017 CEN Veškerá práva pro využití v jakékoli formě a jakýmikoli prostředky

č. EN ISO 5667-16:2017 E

jsou celosvětově vyhrazena národním členům CEN.

Ref.

Evropská předmluva

Tento dokument (EN ISO 5667-16:2017) vypracovala technická komise ISO/TC 147 *Kvalita vod* ve spolupráci s technickou komisí CEN/TC 230 *Rozbor vod*, jejíž sekretariát zajišťuje DIN.

Této evropské normě je nutno nejpozději do listopadu 2017 udělit status národní normy, a to buď vydáním identického textu, nebo schválením k přímému používání, a národní normy, které jsou s ní v rozporu, je nutno zrušit nejpozději do listopadu 2017.

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. CEN [a/nebo CENELEC] nelze činit odpovědným za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv.

Tento dokument nahrazuje EN ISO 5667-16:1998.

Podle vnitřních předpisů CEN/CENELEC jsou tuto evropskou normu povinny zavést národní normalizační organizace následujících zemí: Belgie, Bulharska, Bývalé jugoslávské republiky Makedonie, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.

Oznámení o schválení

Text ISO 5667-16:2017 byl schválen CEN jako EN ISO 5667-16:2017 bez jakýchkoliv modifikací.

Předmluva.....	7
Úvod.....	8
1..... Předmět normy.....	9
2..... Citované dokumenty.....	9
3..... Termíny a definice.....	9
4..... Obecný návod k návrhu zkoušky.....	12
4.1..... Obecně.....	12
4.2..... Replikáty.....	12
4.2.1..... Obecně.....	12
4.2.2..... Nejnižší neúčinné ředění (LID).....	13
4.2.3..... Testování hypotéz - porovnání dvou vzorků.....	13
4.2.4..... Vztah odezvy ke koncentraci a ředění.....	14
5..... Vyhodnocování.....	14

5.1.....	Obecně.....	14
5.2.....	Statistická analýza.....	14
6.....	Odběr a doprava vzorků.....	14
6.1.....	Obecně.....	14
6.2.....	Vybavení pro odběr vzorků.....	15
6.2.1.....	Obecně.....	15
6.2.2.....	Vzorkovnice.....	15
6.3.....	Plnění vzorkovnic.....	16
6.4.....	Identifikace vzorků a záznamy.....	16
6.5.....	Dělení vzorků.....	16
6.6.....	Doprava.....	16
6.7.....	Znečištění během odběru vzorků.....	16
6.8.....	Postupy řízení kvality odběru vzorků.....	17
7.....	Úprava	

vzorků.....	17
7.1.....	
Obecně.....	17
7.2.....	
Konzervace a uchování.....	18
7.3.....	
Rozmrazování.....	18
7.4.....	
Homogenizace.....	18
7.5.....	
Oddělování rozpuštěných a nerozpuštěných látek.....	18
7.6.....	
Předběžné zkonzentrování.....	19
7.6.1.....	
Obecně.....	19
7.6.2.....	
Extrakční metody.....	19
7.7.....	
Úprava hodnoty pH.....	20
8.....	
Přístroje a vybavení.....	20
8.1.....	
Výběr přístrojů.....	20
8.2.....	
Čištění přístrojů a vybavení.....	20
9.....	
Rušivé vlivy při provádění zkoušky.....	21

9.1..... Problémy a preventivní opatření u vzorků obsahujících odstranitelné složky..... 21

9.1.1.....
Obecně.....
..... 21

9.1.2.....	
Těkání.....
.....	21
9.1.3.....	
Pěnění.....
.....	21
9.1.4.....	
Adsorpce.....
.....	21
9.1.5.....	Srážení
a koagulace.....
.....	22
9.1.6.....	
Rozklad.....
.....	22
9.2.....	Problémy a preventivní opatření u zbarvených nebo zakalených
vzorků.....	22
10.....	Příprava zásobních roztoků a zkoušených
sad.....	22
10.1.....	Látky rozpustné ve
vodě.....
.....	22
10.2.....	Těžko rozpustné
látky.....
.....	22
10.2.1..	
Obecně.....
.....	22
10.2.2..	Zkoušení v oblasti rozpustnosti ve
vodě.....
22	
10.2.3..	Disperze
a emulze.....
.....	23
10.2.4..	Speciální problémy se směsmi látek nebo technických
výrobků.....	23
10.2.5..	Limitní
zkouška.....

.....	23
11..... Prokazování kvality biologického zkoušení.....	24
11.1..... Obecně.....	24
11.2..... Prokazování kvality v kontextu výzkumu environmentálních vzorků.....	24
12..... Protokol o zkoušce.....	25
Bibliografie.....	27

Předmluva

ISO (Mezinárodní organizace pro normalizaci) je celosvětová federace národních normalizačních orgánů (členů ISO). Mezinárodní normy obvykle vypracovávají technické komise ISO. Každý člen ISO, který se zajímá o předmět, pro který byla vytvořena technická komise, má právo být v této technické komisi zastoupen. Práce se zúčastňují také vládní i nevládní mezinárodní organizace, s nimiž ISO navázala pracovní styk. ISO úzce spolupracuje s Mezinárodní elektrotechnickou komisí (IEC) ve všech záležitostech normalizace v elektrotechnice.

Postupy použité při tvorbě tohoto dokumentu a postupy určené pro jeho další udržování jsou popsány ve směrnících ISO/IEC, část 1. Zejména se má věnovat pozornost rozdílným schvalovacím kritériím potřebným pro různé druhy dokumentů ISO. Tento dokument byl vypracován v souladu s redakčními pravidly uvedenými ve směrnících ISO/IEC, část 2 (viz www.iso.org/directives).

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. ISO nelze činit odpovědnou za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv. Podrobnosti o jakýchkoliv patentových právech identifikovaných během přípravy tohoto dokumentu budou uvedeny v úvodu a/nebo v seznamu patentových prohlášení obdržných ISO (viz www.iso.org/patents).

Jakýkoliv obchodní název použitý v tomto dokumentu se uvádí jako informace pro usnadnění práce uživatelů a neznamena schválení.

Vysvětlení významu specifických termínů a výrazů ISO, které se vztahují k posuzování shody, jakož i informace o tom, jak ISO dodržuje principy WTO týkající se technických překážek obchodu (TBT), jsou uvedeny na tomto odkazu URL: [Foreword - Supplementary information](#).

Za tento dokument je odpovědná komise ISO/TC 147 *Kvalita vod*, subkomise SC 6 *Odběr vzorků*.

Toto druhé vydání zrušuje a nahrazuje první vydání (ISO 5667-16:1998), které bylo technicky revidováno.

Seznam všech částí ISO 5667 je možné nalézt na webové stránce ISO.

Úvod

Biologické zkoušky jsou vhodné pro stanovení účinku environmentálních vzorků nebo chemických látek na příslušný zkušební organismus za přesně určených normalizovaných podmínek.

Environmentální vzorky jsou např. čištěné komunální a průmyslové odpadní vody, sladká voda, vodné extrakty pevných materiálů (např. výluhy, eluáty), pórová voda sedimentů. Účinek může být stimulační nebo inhibiční a může být stanoven na základě reakce organismů (např. úhyn, růst, morfologické a fyziologické změny nebo obecně změny molekulárních mechanismů působení). Inhibiční účinky mohou být vyvolány toxickými složkami vody nebo jinými škodlivými vlivy.

Toxicita měřitelná biologickou zkouškou je výsledkem interakce (vzájemného působení) mezi jednotlivou toxickou látkou, směsí látek nebo složek environmentálního vzorku a zkušebním organismem. Ochranná schopnost biologického systému, tj. zkušebního organismu, například metabolická detoxikace a exkrece, je nedílnou součástí biologické zkoušky.

Kromě přímého toxického účinku jedné nebo více složek vzorku se biologické účinky mohou projevovat spojenými vlivy všech složek vzorku. Tento kombinovaný vliv zahrnuje např. účinek látek, které samy o sobě nejsou toxické, ale ovlivňují chemické nebo fyzikální vlastnosti zkoušených sad tím, že narušují přísady specifické pro zkoušku (např. živiny, soli), a v důsledku toho i životní podmínky zkušebních organismů. To se týká například látek snižujících obsah kyslíku, barevných látek nebo látek způsobujících zákal, které snižují světelnou expozici.

K biologickým zkouškám patří také zkoušky, kterými se zkoumá účinek organismů na látky, např. studie biologické rozložitelnosti.

Výsledky biologických zkoušek se vztahují hlavně k organismům používaným ke zkoušce a k podmínkám, které určuje zkušební postup. Škodlivý účinek stanovený normalizovanými biologickými zkouškami může odůvodnit obavy z ohrožení organismů a biocenóz. Výsledky však nedovolují vyvozovat přímé nebo extrapoláčnické závěry o výskytu podobných účinků ve vodním prostředí. To platí zejména pro zkoušky se subsystemy organismů vzhledem k tomu, že důležité vlastnosti a fyziologické funkce intaktních organismů (např. ochranné obaly, hojivé mechanismy) chybí nebo jsou deaktivovány.

Většinou však neexistuje zkušební organismus, který by bylo možno použít ke zkoušce všech možných účinků na ekosystém nebo biocenózu při různých kombinacích abiotických a biotických podmínek. V praxi lze zkoušet pouze několik („modelových“) druhů, které reprezentují významné ekologické funkce.

Vedle těchto základních a praktických omezení při výběru zkušebních organismů se mají během odběru a úpravy vzorků zohlednit některé otázky, aby se zamezilo změnám vlastností vzorku. To platí pro metodu odběru vzorků, včetně vybavení pro odběr vzorků a vzorkovnice, i pro dopravu do laboratoře. Metoda úpravy a uchovávání vzorků, stejně jako například příprava zásobních roztoků, mohou také ovlivnit výsledky zkoušky.

Mimo to vzorek, který má být zkoušen, může působit problémy při provádění zkoušky. Environmentální vzorky (např. odpadní vody, výluhy) jsou složitou směsí a mohou obsahovat například málo rozpustné, těkavé, nestálé, zbarvené látky, nebo suspendované, někdy koloidní částice. Složitost a heterogenita materiálů vyvolává při provádění biologických zkoušek řadu problémů.

Zvláštní problémy působí nestálost zkušebního materiálu v důsledku dále uvedených reakcí

a procesů

- fyzikálních (např. separace fází, sedimentace, těkání);
- chemických (např. hydrolyza, fotolýza, srážení); a/nebo
- biologických (např. biologický rozklad, biologická přeměna, biologický příjem organismy).

Další problémy se vyskytují v souvislosti se zákalem a barvou zkoušené sady, hlavně při spektrofotometrickém měření.

Statistická analýza dat z biologického zkoušení environmentálních vzorků se má provádět podle současného stavu vývoje, pokud není uvedena v příslušné normě pro biologickou zkoušku.

Nakonec se doporučuje zavést a udržovat systém managementu kvality, bez ohledu na to, zda je laboratoř zapojena do zkoušení látek nebo environmentálních vzorků.

Tato část ISO 5667 je jednou ze skupiny norem, které se zabývají vzorkováním vod a sedimentů. Má se používat společně s dalšími částmi ISO 5667, zejména s ISO 5667-1, ISO 5667-3 a ISO 5667-15.

1 Předmět normy

Tento dokument obsahuje praktický návod pro odběr vzorků a jejich úpravu, pro provádění zkoušek a hodnocení environmentálních vzorků na podkladě biologických zkoušek. Jsou zde uvedeny informace o tom, jak zvládat problémy biologického zkoušení související s povahou vzorku vody a s vhodností navržené zkoušky.

Záměrem je poskytnout praktické zkušenosti týkající se opatření, která je třeba dodržovat, tím že jsou popsány metody osvědčené při řešení nebo překonávání některých experimentálních problémů při biologickém zkoušení, například vod.

Tento dokument se zabývá především problémy odběru vzorků, které souvisí s látkami a s úpravou environmentálních vzorků (např. vzorků odpadních vod) pro provádění biologických zkoušek.

Tento návod se zabývá ekotoxikologickým zkoušením s organismy (jednodruhovými biologickými zkouškami

(biotesty); *in vivo* a *in vitro*). Pokud jde o odběr vzorků a jejich úpravu, uplatní se některé aspekty zmiňované v tomto dokumentu také při biologických zkouškách s použitím buněčných systémů (*in vitro*) a při studiích biologické rozložitelnosti. Pozornost je věnována také zkoušení látek v oblasti rozpustnosti ve vodě.

Byly zde pokud možno uvedeny odkazy na stávající mezinárodní normy a směrnice. Byly využity také informace převzaté z publikovaných článků nebo ústních sdělení.

Tento dokument se používá pro biologické zkoušky pro stanovení účinku environmentálních vzorků, například čištěných komunálních a průmyslových odpadních vod, podzemních vod, sladkých vod, vodných extraktů (např. výluhy, eluáty), pórové vody sedimentů a celých sedimentů. Tento dokument se používá také pro chemické látky.

Tento dokument nelze používat pro bakteriologické rozborů vody. Vhodné metody pro bakteriologické rozborů jsou popsány v jiných dokumentech (viz ISO 19458^[17]).

Konec náhledu - text dále pokračuje v placené verzi ČSN.