МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32291— 2013

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение коэффициента распределения н-октанол/вода методом медленного перемешивания

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила, рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ»), Техническим комитетом по стандартизации ТК 339 «Безопасность сырья, материалов и веществ» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 28 августа 2013 г. № 58-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 августа 2013 г. № 779-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32291—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test No. 123:2006 «Коэффициент распределения (н-октанол/вода), метод медленного перемешивания» [«Partition Coefficient (n-octanol/water): Slow-Stirring Method», IDT].

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Основные положения 1
4 Описание метода 3
5 Результаты и подготовка отчета 7
Приложение А (обязательное) Таблица для расчета минимальных объемов воды, необходимых для обнаружения тестируемых соединений с различными значениями $\log K_{ow}$ в водной фазе 9
Приложение В (рекомендуемое) Пример сосуда для перемешивания со стеклянной оболочкой для метода медленного перемешивания при определении K_{ow} 12
Библиография 13

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение коэффициента распределения н-октанол/вода методом медленного перемешивания

Testing of chemicals of environmental hazard.
Determination of partition coefficient (n-octanol/water) by slow-stirring method

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы испытаний для определения коэффициента распределения н-октанол/вода методом медленного перемешивания.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **коэффициент распределения н-октанол/вода (K_{ow}):** Соотношение равновесных концентраций вещества, растворенного в двухфазной системе, состоящей из двух практически несмешивающихся растворителей.

2.2 **log K_{ow}:** Логарифм K_{ow}.

2.3 **ВЭЖХ:** Высокоэффективная жидкостная хроматография.

3 Основные положения

3.1. Введение

3.1.1 Значения K_{ow} выше $\log K_{ow}$ 8,2 были точно определены в ряде экспериментов методом медленного перемешивания. Поэтому этот метод является подходящим экспериментальным подходом для прямого определения K_{ow} высокогидрофобных веществ.

3.1.2 Другие методы, описывающие определение коэффициента распределения, приведены в [2] и [3]. Первый относится к методу «встряхивания во флаконе», а последний описывает определение коэффициента распределения из индекса удержания обращенно-фазовой ВЭЖХ. Метод встряхивания во флаконе склонен к искажению в связи с переходом микрокапель октанола в водную фазу. С ростом значений коэффициента распределения наличие этих капель в водной фазе приводит к увеличению завышения концентрации испытуемого вещества в воде. Таким образом, его использование ограничено для веществ с $\log K_{ow}$ меньше четырех. Второй метод основан на достоверных данных непосредственно установленных значений K_{ow} для градуировки взаимосвязи между индексом удержания ВЭЖХ и измеренными значениями K_{ow}.

3.1.3 Это руководство было разработано в Нидерландах. Точность метода в данном принципе была утверждена и оптимизирована в ходе кольцевого теста, в котором приняли участие 15 лабораторий.

3.2 Первоначальные положения

3.2.1 Для инертных органических веществ была обнаружена весьма значительная взаимосвязь между K_{ow} и их биоаккумуляцией в рыбе. Более того, было доказано, что коэффициент распределения взаимосвязан с токсичностью для рыб так же, как с сорбцией химических веществ в твердых телах, таких как почва и осадки.

Издание официальное

3.2.2 Был доказан широкий спектр взаимосвязей между K_{ow} и другими свойствами веществ, имеющих отношение к экотоксикологии и химии. Как следствие, K_{ow} сформировался как ключевой параметр в оценке рисков химических веществ для окружающей среды, а также в диагностике поведения химических веществ в окружающей среде.

3.2.3 Полагают, что метод медленного перемешивания способствует уменьшению образования микрокапель из капель н-октанола в водной фазе. Как следствие, в этом случае не происходит завышения водной концентрации вследствие того, что молекулы тестируемого вещества связаны с такими каплями. Поэтому метод медленного перемешивания особенно подходит для определения K_{ow} для веществ с ожидаемыми значениями $\log K_{ow}$, равными пяти и выше, для которых метод перемешивания во флаконе склонен давать ошибочные результаты.

3.3 Определение и единицы измерения

Коэффициент распределения веществ между водой и липофильным сольвентом (н-октанол) характеризует равновесное распределение химических веществ между двумя фазами. Коэффициент распределения между водой и н-октанолом (K_{ow}) определяется как отношение равновесных концентраций тестируемого вещества в н-октаноле, насыщенном водой (C_o), и воде, насыщенной 1-октанолом (C_w), по формуле (1)

$$K_{ow} = \frac{C_o}{C_w}. \quad (1)$$

Так как это соотношение концентраций, то данный показатель является безразмерным. Наиболее часто он приводится в виде логарифма по основанию 10 ($\log K_{ow}$). Коэффициент распределения зависит от температуры и отчетная информация должны содержать температуру измерений.

3.4 Принцип метода

3.4.1 Для определения коэффициента разделения вода, н-октанол и тестируемое вещество уравновешиваются друг с другом при постоянной температуре. Тогда концентрация тестируемого вещества определяется в двух фазах.

3.4.2 Сложности проведения эксперимента, связанные с образованием микрокапель во время метода «встряхивание во флаконе», могут быть снижены при использовании предлагаемого здесь эксперимента медленного перемешивания.

3.5 Применимость метода

3.5.1 Поскольку присутствие других веществ, отличных от тестируемого вещества, может повлиять на коэффициент активности тестируемого вещества, то тестируемое вещество должно быть протестировано как чистое вещество. Для эксперимента н-октанол/вода должны быть использованы вещества высокой степени чистоты, доступные для приобретения.

3.5.2 Данный метод применим для чистых веществ, которые не диссоциируют или ассоциируют и которые не проявляют значительной активности на поверхности раздела фаз. Он может применяться для определения коэффициента разделения н-октанол/вода для подобных веществ и смесей. Когда метод используется для смесей, коэффициент распределения н-октанол/вода определяется условно и зависит от химического состава тестируемой смеси, а состав электролита используется в качестве водной фазы. При условии что будут предприняты дополнительные меры, данный метод может быть применен к диссоциируемым или ассоциируемым соединениям (см. 3.5.3).

3.5.3 Из-за многократного повторения условий фазового равновесия в воде и н-октаноле, участвующего в разделении диссоциирующих веществ, таких как органические кислоты и фенолы, органические основания и металлоорганические вещества, коэффициент распределения является условно постоянной величиной и сильно зависит от состава электролита. Поэтому определение коэффициента распределения н-октанол/вода требует, чтобы pH и электролитный состав контролировались при проведении экспериментов и приводились в отчетности. Для оценки этого отношения должна использоваться экспертная оценка. Используя значение константы диссоциации, должны быть выбраны соответствующие значения pH таким образом, чтобы отношение разделения определялось для каждого ионизированного состояния. Для тестирования металлоорганических соединений должны использоваться некомплексообразующие буферы. Принимая во внимание существующие знания в области химии

растворов (константа комплексообразования, константа диссоциации), экспериментальные условия должны выбираться таким образом, чтобы состав тестируемого вещества в водной фазе можно было бы оценить. С помощью использования фонового электролита ионная сила должна быть одинакова во всех экспериментах.

3.5.4 Сложности тестирования могут возрастать при проведении тестирования веществ с низким показателем растворимости или высоким показателем K_{ow} из-за того, что концентрации в воде становятся очень низкими, в связи с чем их точное определение затрудняется. В настоящем стандарте приводится руководство, как решить эту проблему.

3.6 Информация о тестируемом веществе

3.6.1 Используемые в опыте химические реактивы должны быть степени ч.д.а. или высокой степени чистоты. Предпочтительно использование не меченых радиоактивным изотопом химических веществ с известным химическим составом по крайней мере 99 % чистоты или рекомендовано использование меченых веществ с известным составом радиохимической чистоты. В случае использования элементов с малым периодом полураспада необходимо учитывать поправку на затухание. В случае меченого радиоактивным изотопом тестируемого вещества должны использоваться специальные химические аналитические методы для гарантии того, что измерения радиоактивности относятся непосредственно к тестируемому веществу.

3.6.2 Оценка $\log K_{ow}$ может быть получена путем использования промышленно доступного оборудования для оценки K_{ow} или путем использования соотношения растворимостей в обоих растворителях.

3.6.3 Перед проведением эксперимента методом медленного перемешивания необходимо знать следующую информацию о тестируемом веществе:

- структурная формула;
- соответствующие аналитические методы для определения концентрации вещества в воде и н-октаноле;
- константа диссоциации ионизируемых веществ;
- растворимость в воде;
- гидролиз;
- способность к биоразлагаемости;
- давление паров.

4 Описание метода

4.1 Оборудование и приборы

4.1.1 Требуется стандартное лабораторное оборудование, в частности следующее:

- магнитные мешалки и якоря для мешалки с тефлоновым покрытием для перемешивания водной фазы;
- аналитические контрольно-измерительные приборы, подходящие для определения концентрации тестируемого вещества в ожидаемых концентрациях;
- сосуд для перемешивания с краном в нижней части. В зависимости от оценки $\log K_{ow}$ и расчетного нижнего предела чувствительности тестируемого соединения должно быть учтено использование реакционного сосуда подобной конфигурации больше чем на один литр; таким образом может быть получен достаточный объем воды для химической экстракции и анализов. Это приведет к повышению концентрации в водной вытяжке и, следовательно, более надежному аналитическому определению. В приложении А приведена таблица А.1, содержащая оценку минимально необходимого объема, нижнего предела чувствительности соединения, его оценочный показатель $\log K_{ow}$ и его растворимость в воде. Таблица А.1 основывается на взаимосвязи между $\log K_{ow}$ и отношением между растворимостью в октаноле ($S_{окт}$) и воде ($S_в$), как показано в (2)

$$\log K_{ow} = 0{,}88 \log SR + 0{,}41, \qquad (2)$$

где $SR = \frac{S_{окт}}{S_в}$, в молярных концентрациях.

Растворимость в воде, рассчитываемая по формуле А.2, приведенной в приложении А, должна рассматриваться в качестве первоначальной оценки. Следует отметить, что пользователь может производить оценку растворимости в воде при помощи каких-либо отношений, которые лучше представлять в виде отношений между гидрофобностью и растворимостью. Например, для твердых соединений рекомендуется включение температуры плавления в предварительную оценку растворимости. В случае использования модифицированного уравнения необходимо удостовериться, что уравнение для расчета растворимости в октаноле применимо. Схематичное изображение сосуда для перемешивания со стеклянной оболочкой объемом приблизительно один литр представлено в приложении В на рисунке В.1. Пропорции сосуда, показанного в приложении В, признаны подходящими и должны быть сохранены в том случае, если используется аппарат другого размера.

Важно наличие аппарата, поддерживающего температуру проведения эксперимента постоянной (термостат).

4.1.2 Сосуды должны быть сделаны из инертных материалов так, чтобы можно было пренебречь величиной адсорбции на поверхностях сосуда.

4.2 Приготовление тестируемых растворов

4.2.1 Определение K_{ow} должно проводиться с использованием н-октанола высокой степени чистоты, доступного для приобретения (по крайней мере + 99 %). Рекомендуется очистка н-октанола путем экстракции кислотой, основанием водой, а также последующая сушка. Кроме того, для очистки н-октанола может использоваться дистилляция. Очищенный н-октанол будет использоваться для подготовки стандартных растворов тестируемых веществ. Вода, используемая в эксперименте, должна быть дистиллирована в стеклянном или кварцевом сосуде либо получена из системы очистки или водой квалификации «для ВЭЖХ». Для дистиллированной воды требуется фильтрация через фильтр 0,22 мкм, и должна измеряться холостая проба для проверки отсутствия в концентрированных экстрактах примесей, которые могут повлиять на тестируемое вещество. Если используется фильтр из стекловолокна, то он должен быть очищен путем обжига при температуре 400 °С по крайней мере в течение трех часов.

4.2.2 До проведения эксперимента оба растворителя взаимно насыщаются путем уравновешивания их в достаточно большом сосуде. Этого достигают путем медленного перемешивания в двухфазной системе в течение двух дней.

4.2.3 Выбирается соответствующая концентрация тестируемого вещества и растворяется в н-октаноле (насыщенном водой). K_{ow} должен быть определен в разбавленных растворах н-октанола и воды. Поэтому концентрация тестируемого вещества не должна превышать 70 % его растворимости с максимальной концентрацией 0,1М в каждой фазе. Растворы н-октанола, используемые для эксперимента, не должны иметь твердых частиц тестируемого вещества.

4.2.4 Соответствующее количество тестируемого вещества растворяется в н-октаноле (насыщенном водой). Если оценочное значение $\log K_{ow}$ более пяти, необходимо принять во внимание, что растворы н-октанола, используемые для эксперимента, очищаются от твердых частиц тестируемого вещества. В связи с этим ниже приведена процедура для испытания химических веществ с оценочным значением $\log K_{ow}$ более пяти:

- тестируемое вещество растворяется в н-октаноле (насыщенным водой);
- этот раствор отстаивается достаточное количество времени до осаждения твердых частиц вещества. Во время отстаивания проверяется концентрация тестируемого вещества;
- после того как измеренные концентрации в н-октаноле достигнут устойчивых значений, основной раствор (маточный раствор) разводится соответствующим объемом н-октанола;
- измеряется концентрация разбавленного основного раствора. Если значение концентрации соответствует разбавлению, то основной раствор может использоваться в методе медленного перемешивания.

4.3 Экстракция и анализ образцов

4.3.1 Для анализа тестируемого вещества должны использоваться признанные аналитические методы. Исследователи должны предоставлять доказательства того, что концентрации в воде, насыщенной н-октанолом, так же как и октанол, насыщенный водной фазой, во время эксперимента выше границы предела количественного определения аналитического метода. В тех случаях, когда требуются методы экстракции, перед проведением эксперимента необходимо организовать аналитическое извлечение тестируемого вещества из водной фазы и из н-октанола. Необходимо скорректировать аналитический сигнал холостой пробы и принять во внимание, что может произойти перенос исследуемого вещества из одного образца в другой.

4.3.2 Скорее всего, из-за довольно низкой концентрации гидрофобных тестируемых веществ в водной фазе будут необходимы предварительный анализ экстракции водной фазы органическим растворителем и предварительное концентрирование экстракта. По этой же причине необходимо уменьшить последующие концентрации холостых проб. Для этого необходимо в работе использовать растворители высокой чистоты, предпочтительно растворители для анализа остатков. Кроме того, работа с предварительно тщательно очищенной стеклотарой (например, промывка растворителем или обжиг при повышенной температуре) может помочь избежать перекрестного загрязнения.

4.3.3 Оценочное значение $\log K_{ow}$ может быть получено из оценочных программ или путем экспертной оценки. Если значение выше, чем шесть, то необходимо тщательно следить за исправлениями холостой пробы и переносом исследуемого вещества. Аналогичным образом, если оценочное значение $\log K_{ow}$ выше шести, то обязательно использование стандарта-имитатора для поправочной коррекции, поэтому высокие факторы переконцентрации могут быть достигнуты. В настоящее время доступен ряд коммерческого программного обеспечения для оценки $\log K_{ow}$, например Clog P, KOWWIN, ProLogP и ACD logP.

4.3.4 Чувствительность метода для определения тестируемого вещества в н-октаноле и воде устанавливается с помощью общепринятых методов. Уровень чувствительности метода может быть определен как концентрация в воде или н-октаноле, которая производит отношение сигнала к помехе в размере десяти. Должны быть выбраны соответствующая экстракция и метод предварительного концентрирования, а также определена аналитическая степень извлечения. Соответствующий фактор предварительной концентрации выбирается для получения сигнала требуемого размера на основании аналитического определения.

4.3.5 На основе параметров аналитического метода и ожидаемых концентраций определяется приблизительный размер требуемого образца для точного определения концентрации соединения. Следует избегать использования проб воды, которые слишком малы, чтобы получить достаточный аналитический сигнал. Также следует избегать использования чрезмерно больших проб воды, так как иначе может остаться слишком мало воды для минимального количества необходимых анализов (n = 5). В приложении А приведены уровень обнаружения тестируемого вещества и растворимость тестируемого вещества в зависимости от минимального объема образца и объема сосуда.

4.3.6 Количественная оценка тестируемого вещества проводится путем сравнения калибровочных графиков соответствующих соединений. Концентрации в анализируемых образцах должны быть заключены в квадратные скобки согласно стандартам концентрации.

4.3.7 Для тестируемых веществ с оценочным значением $\log K_{ow}$ более шести перед проведением экстракции должен быть установлен стандарт-имитатор с добавлением известного количества определяемого вещества в образец воды для того, чтобы регистрировать потери по время экстракции и предконцентрации образцов воды. Для точной поправки на извлечение имитаторы должны иметь свойства, очень близкие или идентичные тестируемому веществу. Предпочтительно (постоянно) использование изотопно меченых аналогов интересуемого вещества (например, пердейтерированных или 13С-меченых). Если использование меченых стабильных изотопов, то есть 13С или 2Н, не представляется возможным, то необходимо показать из надежных источников литературы, что физико-химические свойства имитаторов очень близки к тестируемому веществу. Во время жидкость-жидкостной экстракции водной фазы могут образовываться эмульсии. Их образование может быть снижено путем добавления соли и отстаиванием эмульсии накануне. Необходимо сообщать методы, используемые для выделения и преконцентрации образцов.

4.3.8 Перед анализом образцы, извлеченные из фазы н-октанола, при необходимости могут быть разбавлены соответствующим растворителем. Кроме того, рекомендуется использование стандартов-имитаторов для поправочной корректировки для веществ, для которых эксперимент извлечения демонстрирует высокую степень различных вариаций в экспериментах извлечения (относительное стандартное отклонение более 10 %).

4.3.9. Необходимо сообщать подробную информацию об аналитическом методе. Он включает в себя метод экстракции, преконцентрацию и коэффициент разбавления, параметры прибора, процедуру проверки, диапазон калибровки, поправочную корректировку тестируемого вещества из воды и, помимо суррогатных стандартов для поправочной коррекции — значения холостой пробы, пределы обнаружения и предел количественного определения.

4.4 Выполнение метода

4.4.1 Оптимальное отношение объемов н-октанол/вода

4.4.1.1 При выборе объемов воды и н-октанола должны приниматься во внимание предел количественного определения в н-октаноле и воде, фактор предконцентрации, используемый для образцов воды, объемы образцов в н-октаноле и воде и ожидаемые концентрации. В результате экспериментов

объем н-октанола в методе медленного перемешивания должен выбираться так, чтобы слой н-октанола был достаточно толстым (более 0,5 см) для того, чтобы допустить испытание фазы н-октанола без ее нарушения.

4.4.1.2 Типичным отношением фаз, используемым для определения соединений со значением $\log K_{ow}$ от 4,5 и выше, является 20 к 50 мл н-октанола и 950 к 980 мл воды на один литр сосуда.

4.4.2 Условия испытаний

4.4.2.1 Во время теста реакционный сосуд термостатируется для уменьшения изменений температуры с целью уменьшения изменения температуры до уровня ниже 1 °С. Испытание должно проводиться при температуре 25 °С.

4.4.2.2 Экспериментальная система должна быть защищена от дневного света путем проведения эксперимента в темной комнате или путем покрытия реакционного сосуда алюминиевой фольгой.

4.4.2.3 Эксперимент должен быть выполнен в среде, очищенной от пыли (насколько это возможно).

4.4.2.4 Система н-октанол/вода перемешивается до достижения равновесия. В контрольном эксперименте длительность периода установления равновесия оценивается путем выполнения метода медленного перемешивания и периодического отбора проб воды и н-октанола. Точки времени отбора проб должны попадать в промежутки с минимальным периодом в 5 часов.

4.4.2.5 Каждое определение K_{ow} должно выполняться, используя по крайней мере не менее трех независимых экспериментов медленного перемешивания.

4.4.3 Определение времени установления равновесия

Равновесие достигается тогда, когда регрессия отношения концентраций н-октанола/воды по отношению ко времени в течение промежутка времени из четырех моментов дает наклон, который не существенно отличается от нуля на р-уровне 0,05. Минимальное время установления равновесия может начаться за один день перед отбором пробы. Проба веществ с оценочным значением $\log K_{ow}$ менее пяти может проходить в течение двух-трех дней. Уравновешивание может быть продлено для более гидрофобных соединений. Для соединения с $\log K_{ow}$, равным восьми, 23 (дихлорбифенил) достаточно 144 часа для установления равновесия. Равновесное состояние оценивается с помощью повторного отбора проб из отдельного сосуда.

4.4.4 Начало эксперимента

4.4.4.1 В начале эксперимента реакционный сосуд заполняют н-октанолом, насыщенным водой. Следует учесть достаточное количество времени для достижения температуры термостатирования.

4.4.4.2 В реакционный сосуд осторожно добавляют необходимое количество тестируемого вещества (растворенного в необходимом объеме н-октанола, насыщенного водой). Это важный шаг эксперимента, так как следует избегать турбулентного перемешивания двух фаз. С этой целью фаза н-октанола может медленно пипетироваться у противоположной стенки экспериментального сосуда, близко к поверхности воды. Впоследствии она будет стекать по стеклянной стенке и образовывать тонкий слой на поверхности водной фазы. Всегда следует избегать перелива н-октанола непосредственно в колбу; недопустимо попадание капель н-октанола прямо в воду.

4.4.4.3 После начала перемешивания скорость должна возрастать медленно. Если электродвигатель для перемешивания не может быть настроен должным образом, то следует рассмотреть возможность использования трансформатора. Скорость перемешивания должна быть отрегулирована так, чтобы воронкообразный водоворот на поверхности раздела между водой и н-октанолом составлял от 0,5 до максимально 2,5 см в глубину. Скорость перемешивания должна быть уменьшена, если воронкообразный водоворот превышает глубину 2,5 см, иначе из капель н-октанола в водной фазе могут образовываться микрокапли, что приводит к завышению концентрации тестируемого вещества в воде. Максимальная скорость перемешивания 2,5 см рекомендована на основе результатов, полученных в исследованиях кольцевого теста. Это нечто среднее между интенсивностью уравновешивания и ограничением образования микрокапель н-октанола.

4.4.5 Отбор и обработка пробы

4.4.5.1 Перед отбором проб мешалки должны быть отключены и жидкости должны прийти в состояние покоя. После завершения отбора проб мешалки снова начинают медленно вращаться, как описано выше, а затем скорость перемешивания постепенно увеличивается.

4.4.5.2 Водная фаза отбирается из запорного крана нижней части реакционного сосуда. Всегда следует сливать застоявшуюся воду, содержащуюся в кранах [примерно 5 мл в сосуде (см. приложение В)]. Вода в кранах не перемешивается и, следовательно, не находится в равновесии с основной массой. Отметьте объем пробы воды и убедитесь, что некоторое количество тестируемого вещества присутствует в отброшенной воде и принимается во внимание при расчете массового баланса. Потери

на испарение должны быть сведены к минимуму путем спокойного попадания воды в делительную воронку, чтобы не нарушился слой воды/н-октанола.

4.4.5.3 Пробы н-октанола получают путем забора нескольких аликвот (около 100 мкл) из слоя н-октанола с помощью комбинированного шприца на 100 мкл. Отбор следует проводить аккуратно, не нарушая границы раздела фаз. Затем записывается объем пробы жидкости. После разбавления образца н-октанола будет достаточно малых аликвот.

4.4.5.4 Следует избегать лишних шагов переноса пробы. В связи с этим необходимо определить объем образца гравиметрически. В случае проб воды этого можно достигнуть путем сбора проб воды в делительную воронку, которая содержит уже необходимый объем растворителя.

5 Результаты и подготовка отчета

5.1 Согласно настоящему стандарту коэффициент распределения определяется путем выполнения трех экспериментов медленного перемешивания (три экспериментальные установки) с исследуемым соединением в одинаковых условиях. Регрессия, используемая для подтверждения достижения равновесия, должна быть основана на результатах по меньшей мере четырех определений C_o/C_w в последовательные моменты времени. Это позволяет получить средний показатель для расчета дисперсии как меры неопределенности, полученной каждой экспериментальной установкой.

5.2 Коэффициент распределения может быть охарактеризован дисперсией в данных, полученных для каждой экспериментальной установки. Эта информация используется для расчета коэффициента распределения как средневзвешенного результата отдельных экспериментальных установок. Для этого используется обратная дисперсия результатов экспериментальных установок в качестве веса. В результате данные с большим разбросом (в виде дисперсии) и, таким образом, с маленькой надежностью оказывают меньшее влияние на результат, чем данные с низкой дисперсией.

5.3 Аналогично рассчитывается взвешенное стандартное отклонение. Оно характеризует повторяемость измерений коэффициента распределения. Низкое значение взвешенных стандартных отклонений указывает, что коэффициент распределения в одной лаборатории определяется с высокой воспроизводимостью. Формальная статистическая обработка данных изложена ниже.

5.4 Обработка результатов

5.4.1 Подтверждение достижения равновесия

Логарифм отношения концентрации тестируемого соединения в н-октаноле и воде $[\log(C_o/C_w)]$ рассчитывается для каждого времени отбора проб. Достижение химического равновесия подтверждается путем построения графика зависимости этого коэффициента от времени. Плато на этом графике, основанное по крайней мере на четырех последовательных моментах времени показывает, что равновесие достигнуто и что соединение действительно растворилось в н-октаноле. Если нет, то тест должен быть продолжен до наступления четырех последовательных моментов времени кривой наклона на графике, которые существенно не отличаются от 0 в р-уровне 0,05, что указывает на независимость C_o/C_w от времени.

5.4.2 Расчет $\log K_{ow}$

Значение $\log K_{ow}$ в экспериментальной установке рассчитывается как средневзвешенное значение $\log C_o/C_w$ для части кривой на графике зависимости C_o/C_w от времени, для которого было подтверждено равновесное состояние. Средневзвешенное значение рассчитывается путем взвешивания данных с обратной дисперсией, так что влияние данных на конечный результат обратно пропорционально неопределенности данных.

5.4.3 Среднее значение $\log K_{ow}$

5.4.3.1 Среднее значение $\log K_{ow}$ различных экспериментальных установок рассчитывается как среднее из результатов отдельных экспериментальных установок взвешенных дисперсий.

Расчет производится следующим образом

$$\log K_{ow,Av} = \left(\sum w_i \cdot \log K_{ow,i}\right) \cdot \left(\sum w_i\right)^{-1}, \quad (3)$$

где $\log K_{ow,i}$ — значение $\log K_{ow}$ в отдельной экспериментальной установке i;

$\log K_{ow,Av}$ — средневзвешенное значение отдельных определений $\log K_{ow}$;

w_i — статистический вес, назначенный значению $\log K_{ow}$ в экспериментальной установке i.

Обратная дисперсия $\log K_{ow,i}$ используется, как показано в (4)

$$w_i \left(w_i = \mathrm{var}\left(\log K_{ow,i}\right)^{-1} \right). \quad (4)$$

5.4.3.2 Ошибка среднего значения $\log K_{ow}$ оценивается как повторяемость $\log C_o/C_w$, определенная в ходе фазового равновесия в отдельных экспериментальных установках. Она выражается как взвешенное стандартное отклонение $\log K_{ow,Av}$ ($\sigma \log K_{ow,Av}$), которое, в свою очередь, является критерием ошибки, связанной с $\log K_{ow,Av}$. Взвешенное стандартное отклонение может быть вычислено из взвешенной дисперсии $\left(\mathrm{var}_{\log K_{ow,Av}}\right)$ по (5) и (6):

$$\mathrm{var}_{\log K_{ow,Av}} = \left(\sum w_i \cdot \left(\log K_{ow,i} - \log K_{ow,Av}\right)^2 \right) \cdot \left(\sum w_i \cdot (n-1) \right)^{-1}, \quad (5)$$

$$\sigma \log K_{ow,Av} = \left(\mathrm{var}_{\log K_{ow,Av}}\right)^{0,5}, \quad (6)$$

где n — число экспериментальных установок.

5.5 Протокол испытания

Протокол испытаний должен включать следующую информацию.

Тестируемое вещество:

- общепринятое наименование, химическое наименование, номер CAS, структурную формулу (с указанием позиции маркировки в случае использования меченых веществ) и соответствующие физико-химические свойства;
- степень чистоты тестируемого вещества;
- маркер чистоты меченых веществ и молярную активность (при необходимости);
- предварительную оценку $\log K_{ow}$ и метод, используемый для получения значения.

Условия испытания:

- даты выполнения исследования;
- температура проведения эксперимента;
- объемы н-октанола и воды в начале испытания;
- объемы изъятых проб н-октанола и воды;
- объемы н-октанола и воды, оставшихся в сосудах для испытаний;
- описание сосудов, используемых для испытаний, и условий перемешивания (размеры магнитной мешалки и сосуда для испытания, высота воронкообразного водоворота в мм и, при необходимости, скорость перемешивания);
- аналитические методы, используемые для определения тестируемого вещества и методы определения количественного предела;
- время взятия образцов;
- если pH соответствует ионизированным молекулам, то используемая pH водной фазы и буферы;
- число повторностей.

Результаты:

- воспроизводимость и чувствительность используемых аналитических методов;
- определение концентраций тестируемого вещества в н-октаноле и воде в зависимости от времени;
- подтверждение массового баланса;
- температура и стандартное отклонение или диапазон температуры во время эксперимента;
- регрессия отношения концентрации ко времени;
- среднее значение $\log K_{ow,Av}$ и его стандартная ошибка;
- обсуждение и интерпретация результатов;
- примеры значений исходных данных представленных анализов (все исходные данные должны храниться в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики), в том числе извлечение суррогатов и число уровней, используемых в калибровке (наряду с критерием коэффициента корреляции калибровочной кривой), и результаты обеспечения и контроля качества;
- при необходимости — утверждение отчета процедуры анализа (должен быть указан среди ссылок).

Приложение А
(обязательное)

Таблица для расчета минимальных объемов воды, необходимых для обнаружения тестируемых соединений с различными значениями $logK_{ow}$ в водной фазе

А.1 Допущения:

- максимальный объем отдельных аликвот равен 10 % от общего объема, 5 аликвот равен 50 % от общего объема;
- концентрация тестируемых веществ равна 0,7 · растворимость в любой фазе. В случае более низких концентраций большие объемы не требуется;
- объем, используемый для определения уровня обнаружения, равен 100 мл;
- зависимости $logK_{ow}$ от $logS_w$ и $logK_{ow}$ от SR ($S_{окт}/S_в$) являются достаточным представлением взаимосвязей для тестируемых соединений.

Таблица А.1 — Оценка растворимости в воде ($S_в$)

Журнал коэффициента распределения ($logP_{ow}$)	Уравнение	$logS_в$	$S_в$, мг/л
4,0	(–)0,922*$logK_{ow}$ + 4,184	0,496	3,133E+00
4,5		0,035	1,084E+00
5,0		– 0,426	3,750E-01
5,5		– 0,887	1,297E-01
6,0		– 1,348	4,487E-02
6,5		– 1,809	1,552E-02
7,0		– 2,270	5,370E-03
7,5		– 2,731	1,858E-03
8,0		– 3,192	6,427E-04

Таблица А.2 — Оценка растворимости в н-октаноле ($S_{окт}$)

Журнал коэффициента распределения ($logP_{ow}$)	Уравнение	$S_{окт}$, мг/л
4,0	$logK_{ow}$ = 0,88logSR + 0,41	3,763E+04
4,5		4,816E+04
5,0		6165E+04
5,5		7,890E+04
6,0		1,010E+05
6,5		1,293E+05
7,0		1,654E+05
7,5		2,117E+05
8,0		2,710E+05

Таблица А.3

Общая масса тестируемого вещества, мг	$Масса_{окт}/Масса_в$	$Масса_в$, мг	$Концентрация_в$, мг/л	$Масса_{окт}$, мг	$Концентрация_{окт}$, мг/л
1319	526	2,5017	2,6333	1317	26 333
1686	1664	1,0127	1,0660	1685	33 709

Окончание таблицы А.3

Общая масса тестируемого вещества, мг	$Масса_{окт}/Масса_{в}$	$Масса_{в}$, мг	$Концентрация_{в}$, мг/л	$Масса_{окт}$, мг	$Концентрация_{окт}$, мг/л
2158	5263	0,4099	0,4315	2157	43 149
2762	16644	0,1659	0,1747	2762	55 230
3535	52632	0,0672	0,0707	3535	70 691
4524	166436	0,0272	0,0286	4524	90 480
5790	526316	0,0110	0,0116	5790	115 807
7411	1664357	0,0045	0,0047	7411	148 223
9486	5263158	0,0018	0,0019	9486	189 713

Таблица А.4 — Минимальный объем, требуемый для водной фазы для каждого предела обнаружения концентрации

$logK_{ow}$	Предел обнаружения, микрограммы/л	0,001	0,010	0,100	1,000	10,000
4,0		0,04[1)]	0,38[1)]	3,80[1)]	38[1)]	380[3)]
4,5		0,09[1)]	0,94[1)]	9,38[1)]	94[1)]	938[4)]
5,0		0,23[1)]	2,32[1)]	23,18[1)]	232[3)]	2318[5)]
5,5		0,57[1)]	5,73[1)]	57,26[1)]	573[4)]	5726[5)]
6,0		1,41[1)]	14,15[1)]	141[2)]	1415[5)]	14 146[5)]
6,5		3,50[1)]	34,95[1)]	350[3)]	3495[5)]	34 950[5)]
7,0		8,64[1)]	86,35[1)]	864[4)]	8635[5)]	86 351[5)]
7,5		21,33[1)]	213[4)]	2133[5)]	21 335[5)]	213 346[5)]
8,0		52,71[1)]	527[4)]	5271[5)]	52 711[5)]	527 111[5)]
Объем, используемый для предела обнаружения, л		0,1				

[1)] Представляет < 10 % от общего объема водной фазы, равновесный сосуд, 1 литр.
[2)] Представляет < 10 % от общего объема водной фазы, равновесный сосуд, 2 литра.
[3)] Представляет < 10 % от общего объема водной фазы, равновесный сосуд, 5 литров.
[4)] Представляет < 10 % от общего объема водной фазы, равновесный сосуд, 10 литров.
[5)] Превышает 10 % даже в 10-литровом равновесном сосуде.

Таблица А.5 — Обзор требуемых объемов в зависимости от растворимости в воде и $logK_{ow}$ и минимальный объем, необходимый для водной фазы для каждого предела обнаружения концентрации, мл

$logK_{ow}$	$S_{в}$, мг/л	Предел обнаружения, микрограммы/л	0,001	0,010	0,100	1,000	10,000
4,0	10,000		0,01	0,12	1,19	11,90	118,99
	5,000		0,02	0,24	2,38	23,80	237,97
	3,000		0,04	0,40	3,97	39,66	396,62
	1,000		0,12	1,19	11,90	118,99	1189,86

Окончание таблицы А.5

$logK_{OW}$	$S_в$, мг/л	Предел обнаружения, микрограммы/л	0,001	0,010	0,100	1,000	10,000
4,5	5,000		0,02	0,20	2,03	20,34	203,37
	2,000		0,05	0,51	5,08	50,84	508,42
	1,000		0,10	1,02	10,17	101,68	1016,83
	0,500		0,20	2,03	20,34	203,37	2033,67
5,0	1,000		0,09	0,87	8,69	86,90	869,01
	0,500		0,17	1,74	17,38	173,80	1738,02
	0,375		0,23	2,32	23,18	231,75	2317,53
	0,200		0,43	4,35	43,45	434,51	4345,05
5,5	0,400		0,19	1,86	18,57	185,68	1856,79
	0,200		0,37	3,71	37,14	371,36	3713,59
	0,100		0,74	7,43	74,27	742,72	7427,17
	0,050		1,49	14,85	148,54	1485,43	14854,35
	0,100		0,63	6,35	63,48	634,8	6347,95
	0,050		1,27	12,70	126,96	1269,59	12695,91
	0,025		2,54	25,39	253,92	2539,18	25391,82
	0,0125		5,08	50,78	507,84	5078,36	50783,64
6,5	0,025		2,17	21,70	217,02	2170,25	21702,46
	0,0125		4,34	43,40	434,05	4340,49	43404,93
	0,006		9,04	90,43	904,27	9042,69	90426,93
	0,003		18,09	180,85	1808,54	18085,39	180853,86
7,0	0,006		7,73	77,29	772,89	7728,85	77288,50
	0,003		15,46	154,58	1545,77	15457,70	154577,01
	0,0015		23,19	231,87	2318,66	23186,55	231865,51
	0,001		46,37	463,73	4637,31	46373,10	463731,03
7,5	0,002		19,82	198,18	1981,77	19817,73	198177,33
	0,001		39,64	396,35	3963,55	39635,47	396354,66
	0,0005		79,27	792,71	7927,09	79270,93	792709,32
	0,00025		158,54	1585,42	15854,19	158541,86	1585418,63
8,0	0,001		33,88	338,77	3387,68	33876,77	338767,72
	0,0005		67,75	677,54	6775,35	67753,54	677535,44
	0,00025		135,51	1355,07	13550,71	135507,09	1355070,89
	0,000125		271,01	2710,14	27101,42	271014,18	2710141,77
Объем, используемый для предела обнаружения, л		0,1					

Приложение В
(рекомендуемое)

Пример сосуда для перемешивания со стеклянной оболочкой для метода медленного перемешивания при определении K_{ow}

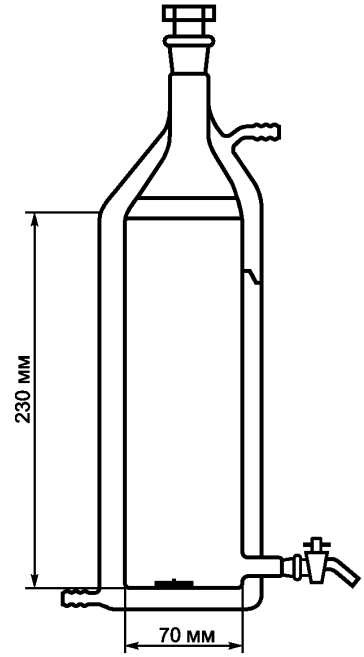

Рисунок В.1

Библиография

[1] De Bruijn JHM, Busser F., Seinen W., Hermens J. (1989) Determination of octanol/water partition coefficients with the 'slow-stirring' method. *Environ. Toxicol. Chem.* 8: 499—512

[2] OECD (1995) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 107 Partition Coefficients. Paris

[3] OECD (2004) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 117 Partition Coefficients by Reversed Phase Chromatography. Paris

[4] OECD (2000) OECD Draft Guideline for the Testing of Chemicals: 122 Partition Coefficient (n-Octanol/Water): pH-Metric Method for Ionisable Substances. Paris

[5] Tolls J. (2002) Partition Coefficient 1-Octanol/Water (Pow) Slow-Stirring Method for Highly Hydrophobic Chemicals, Validation Report. RIVM contract-Nrs 602730 M/602700/01

[6] Boethling R.S., Mackay D. (eds.) (2000) Handbook of property estimation methods for chemicals. Lewis Publishers Boca Raton, FL, USA

[7] Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D.M. (1993) Environmental Organic Chemistry. Wiley, New York, N.Y.

[8] Arnold C.G., Widenhaupt A., David M.M., Müller S.R., Haderlein S.B., Schwarzenbach R.P. (1997) Aqueous speciation and 1-octanol-water partitioning of tributyl- and triphenyltin: effect of pH and ion composition. *Environ. Sci. Technol.* 31: 2596—2602

[9] OECD (1981) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 112 Dissociation Constants in Water. Paris

[10] OECD (1995) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 105 Water Solubility. Paris

[11] OECD (2004) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 111 Hydrolysis as a function of pH. Paris

[12] OECD (1992) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 301 Ready Biodegradability. Paris

[13] OECD (1995) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: 104 Vapour Pressure. Paris

[14] Pinsuwan S., Li A. and Yalkowsky S.H. (1995) Correlation of octanol/water solubility ratios and partition coefficients, *J. Chem. Eng. Data.*, 40: 623—626

[15] Lyman W.J. (1990) Solubility in water. In: Handbook of Chemical Property Estimation Methods: Environmental Behavior of Organic Compounds, Lyman W.J., Reehl W.F., Rosenblatt D.H., eds. American Chemical Society, Washington, DC, 2-1 to 2-52

[16] Leo A., Weininger D. (1989) Medchem Software Manual. Daylight Chemical Information Systems, Irvine, CA

[17] Meylan W. (1993) SRC-LOGKOW for Windows. SRC, Syracuse, N.Y.

[18] Compudrug L. (1992) ProLogP. Compudrug, Ltd, Budapest

[19] ACD. ACD logP; Advanced Chemistry Development: Toronto, Ontario M5H 3V9, Canada, 2001

[20] Lyman W.J. (1990) Octanol/water partition coefficient. In Lyman W.J., Reehl W.F., Rosenblatt D.H., eds., *Handbook of chemical property estimation*, American Chemical Society, Washington, D.C.

[21] Rekker R.F., de Kort H.M. (1979) The hydrophobic fragmental constant: An extension to a 1000 data point set. *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* 14: 479—488

[22] Jübermann O. (1958) Houben-Weyl, ed, *Methoden der Organischen Chemie*, 386—390

УДК 658.382.3:006.354 МКС 71.040.50

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на окружающую среду, окружающая среда, водная среда, метод испытаний, коэффициент распределения

Редактор *Е.И. Мосур*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Р. Рычкова*
Компьютерная верстка *Д.В. Кардановской*

Сдано в набор 25.04.2019. Подписано в печать 15.07.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 2,02.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru