

ПРИЛОЖЕНИЕ 9

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ ОПАСНОСТИ ДЛЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Приложение 9

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ ОПАСНОСТИ
ДЛЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
A9.1 Введение	535
A9.2 Система согласованной классификации	540
A9.2.1 Область применения	540
A9.2.2 Классы и критерии классификации	540
A9.2.3 Обоснование	540
A9.2.4 Практическое применение	542
A9.2.5 Наличие данных	543
A9.2.6 Качество данных	543
A9.3 Водная токсичность	545
A9.3.1 Введение	545
A9.3.2 Описание испытаний	545
A9.3.3 Концепции водной токсичности	548
A9.3.4 Вес получаемых данных	551
A9.3.5 Трудные для испытания вещества	552
A9.3.6 Интерпретация качества данных	558
A9.4 Разложение	559
A9.4.1 Введение	559
A9.4.2 Интерпретация данных о способности к разложению	560
A9.4.3 Общие проблемы интерпретации	566
A9.4.4 Схема принятия решений	569
A9.5 Биоаккумуляция	571
A9.5.1 Введение	571
A9.5.2 Интерпретация данных о биоконцентрации	571
A9.5.3 Классы химических веществ, требующие особого внимания с точки зрения значений КБК и K_{ow}	576
A9.5.4 Противоречивые данные и отсутствие данных	578
A9.5.5 Схема принятия решений	579
A9.6 Использование КЗСА	580
A9.6.1 История вопроса	580
A9.6.2 Экспериментальные артефакты, приводящие к недооценке опасности	581
A9.6.3 Проблемы моделирования КЗСА	581
A9.6.4 Использование КЗСА в классификации видов опасности для водной среды	583
A9.7 Классификация металлов и соединений металлов	587
A9.7.1 Введение	587
A9.7.2 Применение данных о водной токсичности и данных о растворимости в целях классификации	590
A9.7.3 Оценка трансформации в окружающей среде	591
A9.7.4 Биоаккумуляция	592
A9.7.5 Применение критериев классификации к металлам и металлическим соединениям	593

СОДЕРЖАНИЕ (продолжение)

	Стр.
Дополнение I	Определение способности органических веществ к разложению 599
Дополнение II	Факторы, влияющие на разлагаемость в водной среде 607
Дополнение III	Основные принципы экспериментальных методов и расчета для определения КБК и K_{ow} органических веществ..... 613
Дополнение IV	Влияние внешних и внутренних факторов на способность к биоконцентрации органических веществ 619
Дополнение V	Руководящие принципы испытаний..... 623
Дополнение VI	Библиография..... 629

Приложение 9

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ ОПАСНОСТИ ДЛЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ¹

A9.1 Введение

A9.1.1 При разработке ряда критериев по идентификации веществ, опасных для водной среды, была признана необходимость в определении отдельных элементов, формирующих комплексную систему определения опасности для окружающей среды, для использования которой потребуются соответствующие методологические указания. Поэтому настоящий документ преследует двойную цель:

- a) обеспечить описание этой системы и указания в отношении ее реализации;
- b) обеспечить методологию интерпретации данных, используемых в процессе применения критериев классификации.

A9.1.2 Схема классификации видов опасности была разработана с целью идентификации веществ, представляющих, в силу присущих им свойств, опасность для водной среды. В этой связи водная среда представляет собой комплекс пресноводных и морских экосистем, а также обитающих в них организмов. Для многих веществ большинство имеющихся данных касается этой зоны окружающей среды. Это определение ограничено областью распространения, так как в него еще не включены ни водные отложения, ни более высокоорганизованные организмы, занявшие место на вершине пищевой цепочки в водной среде, хотя они и могут быть в некоторой степени охвачены избранными критериями.

A9.1.3 Широко признано, что, хотя эта зона окружающей среды и ограничивается областью распространения, она вдвойне уязвима ввиду того, что она является последней принимающей средой для многих вредных веществ и того, что она является средой обитания чувствительных организмов. Эта зона также сложна, так как любая классификационная система, пытающаяся идентифицировать виды опасности для окружающей среды, должна стремиться к определению воздействий с точки зрения более широких последствий для экосистем, а не только для особей, относящихся к данному виду или данной популяции. В последующих разделах подробно описывается ограниченный набор специфических свойств веществ, которые были избраны для наиболее точного описания опасности: острая токсичность в водной среде, хроническая токсичность в водной среде, отсутствие способности к разложению и потенциальная или фактическая биоаккумуляция. Причины, по которым были выбраны эти данные в качестве критериев определения опасности для водной среды, будут более подробно описаны в разделе A9.2.

A9.1.4 На данном этапе это - приложение ограничено применением критериев к веществам. Термин "вещества" охватывает широкий диапазон видов химических веществ, многие из которых весьма трудно классифицировать в соответствии с системой, основанной на жестких критериях. Таким образом, в последующих главах изложены некоторые указания в отношении того, как преодолеть эти трудности, опираясь одновременно как на практический опыт, так и на четкую научную основу. Хотя согласованные критерии легче применять к классификации отдельных веществ определенной структуры (см. определение в главе 1.2), некоторые вещества, подпадающие под этот класс, часто называют "сложными смесями". В большинстве случаев они могут быть охарактеризованы как гомологический ряд, состоящий из веществ, длина углеродной цепочки которых, число замещающих групп или степень замещения находятся в определенном диапазоне.

¹ *OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 27, Environment Directorate, Organization for Economic Co-operation and Development, April 2001.*

Разработаны специальные методы испытаний, благодаря которым получают данные, позволяющие оценить свойства, опасные для водных организмов, биоаккумуляцию и разложение. Более конкретные указания на этот счет приведены в различных разделах, посвященных этим свойствам. В приводимых методических указаниях эти вещества будут называться "сложными веществами" или "многокомпонентными веществами".

A9.1.5 Каждое из свойств этих веществ (т.е. острая токсичность в водной среде, хроническая токсичность в водной среде, разлагаемость, биоаккумуляция) может ставить сложные проблемы интерпретации, причем даже для специалистов. Хотя существуют признанные на международном уровне руководящие принципы испытаний, которые должны применяться ко всем новым полученным данным, многие данные, используемые при классификации, получают, не прибегая к таким стандартным испытаниям. Даже в тех случаях, когда были проведены стандартные испытания, некоторые вещества, такие как комплексные вещества, вещества, неустойчивые в воде, полимеры и т. д., создают проблемы при интерпретации результатов испытаний для составления какой-либо схемы классификации. Таким образом, получены данные в отношении большого разнообразия морских и пресноводных организмов, подвергнутых стандартным и нестандартным испытаниям, различающимся по продолжительности и своим целям. Данные о разложении могут касаться биологического или небιологического разложения и могут отличаться с точки зрения своей причастности к состоянию окружающей среды. Для многих органических соединений способность к биоаккумуляции может выражаться через коэффициент распределения октанол–вода. На эту способность к биоаккумуляции могут, однако, оказывать воздействие многие другие факторы, которые также необходимо принимать во внимание.

A9.1.6 Совершенно очевидно, что цель согласованной на глобальном уровне системы состоит в том, чтобы после принятия общего свода критериев использовался также общий набор данных, с тем чтобы результаты классификации, после того как она будет проведена, получили всеобщее признание. Для этого необходимо сначала достичь общего понимания в отношении типа данных, которые могут использоваться для применения критериев (вид и качество), а затем – общей интерпретации данных на основе установленных критериев. Поэтому была признана необходимость в разработке доступного для понимания руководства, в котором бы подробно излагались и объяснялись критерии, причем таким образом, чтобы можно было достичь общего понимания в отношении их смысла и общего подхода к интерпретации данных. Этот аспект имеет особо важное значение, так как любая согласованная система, применяемая к "области химической продукции", будет в значительной мере зависеть от принимаемых самими изготовителями и поставщиками классификаций, которые должны будут использоваться на международном уровне, не всегда подвергаясь тщательному рассмотрению со стороны регламентирующих органов. Поэтому эти Методические указания направлены на то, чтобы информировать читателя о ряде ключевых областей и, таким образом, последовательно ввести их в классификацию, обеспечивая тем самым составление поистине согласованной и автономно функционирующей системы.

A9.1.7 Во-первых, в этом документе будут подробно изложены критерии, обоснование их выбора и обзор функционирования этой системы на практике (раздел A9.2). В этом разделе будут рассмотрены общие источники данных, необходимость применения качественных критериев, способ проведения классификации в случае, если набор данных неполон или если объем данных приводит к неоднозначной классификации, а также другие часто встречающиеся проблемы классификации.

A9.1.8 Во-вторых, в документе будут даны подробные технические советы, касающиеся интерпретации данных, взятых из имеющихся баз данных, в том числе относительно того, как следует пользоваться нестандартными данными и критериями качества, которые могут применяться к отдельным свойствам веществ. В нем будут описаны проблемы интерпретации данных, касающихся "трудных веществ", т.е. веществ, в отношении которых стандартные методы испытаний либо не применимы, либо создают трудности с точки зрения интерпретации данных, а также будут даны советы относительно приемлемых решений. Упор будет сделан скорее на интерпретации данных, чем на испытаниях, так как в рассматриваемой системе будут использоваться, по мере возможности,

наиболее надежные из имеющихся данных и данные, требуемые для нормативных целей. Четыре основных свойства, а именно острая и хроническая токсичность в водной среде (раздел А9.3), способность к разложению (раздел А9.4) и биоаккумуляция (раздел А9.5), будут рассматриваться по отдельности.

А9.1.9 Диапазон проблем интерпретации может быть широким, и поэтому она всегда будет зависеть от квалификации и компетентности лиц, ответственных за классификацию. Однако можно идентифицировать некоторые часто встречающиеся трудности и дать указания, соответствующие приемлемому заключению специалиста и способные облегчить получение надежного и логически последовательного результата. Эти трудности можно подразделить на несколько частично совпадающих классов:

- a) трудности, связанные с применением существующих методик испытаний к некоторым типам веществ;
- b) трудности, связанные с интерпретацией данных, полученных как для этих "трудных для испытания" веществ, так и для других веществ;
- c) трудности, связанные с интерпретацией различных наборов данных, полученных из самых разнообразных источников.

А9.1.10 Для многих органических веществ испытания и интерпретация данных не представляют проблем, если применяются одновременно соответствующие руководящие принципы ОЭСР и критерии классификации. Однако могут возникать типичные проблемы интерпретации, которые характерны для определенного типа исследуемого вещества. Эти вещества обычно называют "трудными веществами":

- a) слаборастворимые вещества: эти вещества трудны для проведения испытаний, так как они создают проблемы, связанные с подготовкой растворов, а также с поддержанием и проверкой концентраций во время испытаний водной токсичности. Кроме того, многие из имеющихся данных по этим веществам были получены с использованием "растворов", концентрация которых превышает растворимость в воде, чем объясняются серьезные проблемы интерпретации при определении истинной $L(E)K_{50}$ или КНЭ для целей классификации. Интерпретация поведения при распределении может быть также проблематичной, если слабая растворимость в воде и октаноле сопровождается недостаточной чувствительностью аналитического метода. Растворимость в воде может быть трудна для определения, и она часто указывается как величина, находящаяся ниже предела обнаружения, что создает проблемы для интерпретации данных исследований, касающихся токсичности водной среды и биоаккумуляции. При исследованиях биоразложения пониженная растворимость может привести к слабому бионакоплению и, следовательно, к более низким, по сравнению с ожидаемыми, показателям скорости биоразложения. Поэтому решающее значение может иметь конкретный метод испытаний или выбор применяемых процедур;
- b) неустойчивые вещества: вещества, которые быстро разлагаются (или реагируют) в экспериментальных условиях и создают проблемы как для самих испытаний, так и для интерпретации их данных. Необходимо будет определить, была ли использована правильная методология, было ли испытано вещество или продукт разложения/реакции и подходят ли полученные данные для классификации исходного вещества;

- c) летучие вещества: эти вещества, которые, конечно, могут создавать проблемы во время испытаний в открытых системах, должны подвергаться оценке, направленной на обеспечение соответствующего поддержания концентраций воздействия. Потери испытуемого вещества во время испытаний на биоразложение неизбежны при некоторых методах тестирования и могут привести к ошибочной интерпретации результатов;
- d) сложные, или многокомпонентные вещества: эти вещества, например смеси углеводов, часто не могут растворяться, образуя при этом гомогенный раствор, тогда как их многочисленные компоненты делают наблюдение невозможным. Поэтому необходимо стараться воспользоваться данными испытаний на водную токсичность, проведенных на растворимых в воде фракциях, и использовать эти данные в классификационной схеме. Биоразложение, биоаккумуляция, коэффициент распределения и растворимость в воде – все эти характеристики создают проблемы интерпретации, так как каждый компонент смеси может вести себя по-разному;
- e) полимеры: эти вещества часто имеют широкий диапазон молекулярных масс, из которых в воде бывает растворима лишь какая-то часть. Для определения растворимой в воде фракции существуют специальные методы, и эту информацию необходимо будет использовать для интерпретации результатов испытаний в зависимости от критериев классификации;
- f) неорганические соединения и металлы: эти вещества, способные взаимодействовать со средой, могут иметь различные показатели водной токсичности в зависимости от таких факторов, как рН, жесткость воды и т. д. Сложные проблемы толкования могут возникать также при испытаниях существенных элементов, которые полезны для организма в определенных концентрациях. Для металлов и неорганических металлических соединений концепция способности к разложению, как она применяется к органическим соединениям, если и имеет значение, то лишь незначительное. Так же следует проявлять осторожность при использовании данных о биоаккумуляции;
- g) поверхностно-активные вещества: эти вещества могут образовывать эмульсии, для которых биоаккумуляция трудно определить даже в случае тщательной подготовки растворов. Мицеллообразование может привести к завышенной оценке фракции, поддающейся биологическому усвоению, даже в тех случаях, когда явно образованы "растворы". Это создает значительные проблемы толкования для каждой характеристики: растворимости в воде, коэффициента распределения, биоаккумуляции и водной токсичности;
- h) ионизирующиеся вещества: степень ионизации этих веществ может меняться в зависимости от количества противоионов в среде. Например, кислоты и основания будут иметь принципиально различную ионизацию в зависимости от рН;
- i) окрашенные вещества: эти вещества могут создавать проблемы при испытаниях водорослей или водных растений, задерживая падающий свет;
- j) примеси: некоторые вещества могут содержать примеси, процентная доля и химические свойства которых могут варьироваться в зависимости от производственной партии. Проблемы интерпретации могут возникнуть в том случае, если токсичность или растворимость в воде, или обе эти характеристики, выше в примесях, чем в исходном веществе, что может значительно повлиять на данные токсичности.

A9.1.11 В этом перечне отражены некоторые из проблем, встреченных при установлении достоверности данных, интерпретации данных и применении данных к схеме классификации. Подробные указания о том, как следует решать эти проблемы, а также другие смежные аспекты содержатся в следующих разделах. Вопросы интерпретации данных, касающихся острой или хронической водной токсичности, излагаются в разделе A9.3. В этом разделе рассматриваются проблемы интерпретации, свойственные вышеупомянутым "трудным веществам", а также содержатся советы о том, когда и каким образом можно использовать эти данные в схеме классификации. В ней содержится также общее описание используемых данных и методики испытаний, разработанные для их получения.

A9.1.12 Имеется широкий набор данных о разложении, которые следует интерпретировать с учетом критериев, касающихся способности к быстрому разложению. Поэтому требуются методические указания в отношении того, как следует пользоваться этими данными, полученными с помощью нестандартных методов испытаний, в частности относительно использования данных о периодах полураспада, когда они имеются, о первичном разложении, о скоростях разложения в почве и о возможности их экстраполяции на биохимический распад в водной среде, а также о скоростях разложения в окружающей среде. Включено также краткое описание методов оценки разлагаемости с учетом критериев классификации. Эти указания содержатся в разделе A9.4.

A9.1.13 Методы определения способности к биоаккумуляции описываются в разделе A.9.5. В этом разделе рассматривается зависимость между коэффициентом распределения, и коэффициентом биоконцентрации (КБК); даются указания в отношении того, как следует интерпретировать существующие данные, определять коэффициент распределения путем использования КЗСА, если отсутствуют экспериментальные данные, и, в частности, решать выявленные ранее проблемы, свойственные трудным веществам. Рассматриваются также проблемы, с которыми приходится сталкиваться при работе с веществами, имеющими высокомолекулярную массу.

A9.1.14 Один из разделов также посвящен общим вопросам использования КЗСА в системе, в частности вопросам о том, когда и как можно использовать значения этой зависимости для каждого из трех рассматриваемых свойств. Широко признано, что в качестве общего подхода следует использовать скорее экспериментальные данные, когда они имеются, чем данные о КЗСА. Таким образом, использование КЗСА должно быть ограничено ситуациями, когда не имеется достоверных данных. Однако не ко всем веществам удобно применять расчетные значения типа КЗСА, и в разделе A9.6 даны указания по этому вопросу.

A9.1.15 Наконец, один раздел посвящен особым проблемам, связанным с классификацией металлов и их соединений. Очевидно, что к этим соединениям не применим ряд конкретных критериев, таких как способность к биоразложению и коэффициент распределения октанол/вода, даже если отсутствие разрушения путем разложения и биоаккумуляция остаются важными концепциями. Поэтому необходимо выбрать другой подход. Металлы и соединения металлов могут вступать со средой во взаимодействия, которые влияют на растворимость иона металла, на его распределение в воде и на его свойства. В воде токсичность обуславливают обычно растворенные ионы металлов. В результате взаимодействия вещества со средой может возрасти или уменьшиться количество ионов, а, следовательно, и токсичность. Поэтому необходимо определить, могут ли из данного вещества образовываться ионы металла и, если да, образуются ли они настолько быстро, чтобы это вызывало беспокойство. В разделе A9.7 приведена схема интерпретации результатов такого типа исследования.

A9.1.16 Хотя в настоящем руководстве даются полезные советы в отношении того, каким образом применять критерии к широкому разнообразию ситуаций, он остается всего лишь общим руководством. Нельзя надеяться на то, что в нем будут отражены все ситуации, которые могут возникнуть в ходе классификации. Поэтому его следует рассматривать как документ, который находится в развитии и где на основе скорее опасностей, чем рисков, и с учетом установленных

критериев описываются фундаментальные принципы системы. Он также должен быть хранилищем опыта, накопленного при использовании схемы, т.е. предлагать интерпретации, позволяющие применять жесткие, на первый взгляд, критерии к широкому разнообразию нестандартных ситуаций.

A9.2 Система согласованной классификации

A9.2.1 Область применения

Были разработаны соответствующие критерии с учетом действующих систем классификации видов опасности, таких как европейская система, применимая к поставкам и использованию химических веществ, канадская и американская системы классификации пестицидов, процедура оценки рисков GESAMP, положения ИМО, касающиеся загрязнителей морской среды, европейская схема автомобильных и железнодорожных перевозок (МПОГ/ДОПОГ) и US Land Transport (Система наземного транспорта США). Эти системы включают поставки и последующее использование химических продуктов, а также их перевозку морским, автомобильным и железнодорожным транспортом. Поэтому согласованные критерии предназначены для того, чтобы единообразно идентифицировать опасную химическую продукцию для использования во всех этих системах. Для удовлетворения потребностей, существующих в различных секторах (перевозка, снабжение и использование), необходимо было создать два отдельных подвида классификации: один - для острой опасности в водной среде, состоящий из трех классов, а другой - для долгосрочной опасности в водной среде, состоящий из четырех классов. В подвид острой опасности входят два Класса (острая опасность 2 и острая опасность 3), которые обычно не используются, если речь идет о грузах в упаковке. В случае продуктов, перевозимых навалом/насыпью/наливом, применяется ряд нормативных решений, так как речь идет о больших количествах. Например, при выборе типа используемого судна важно учитывать все классы опасности - острый и хронический. В нижеследующих пунктах подробно описываются критерии, используемые для определения каждого из этих классов опасности.

A9.2.2 Классы и критерии классификации

Сведения о категориях опасности для острой и хронической водной токсичности и о связанных с ними критериях даны в главе 4.1, пункт 4.1.2.4 и таблица 4.1.1.

A9.2.3 Обоснование

A9.2.3.1 В согласованной системе классификации учитывается то обстоятельство, что характерная опасность для водных организмов представлена как острой, так и хронической или долгосрочной токсичностью вещества, относительная важность того и другого вида токсичности определяется действующими конкретными нормативными базами. Можно провести различие между острой опасностью и хронической опасностью и таким образом определить для этих двух свойств отдельные классы опасности, представляющие определенную градацию уровня установленной опасности. Ясно, что опасность, определенная как Класс хронической опасности 1, серьезнее хронической опасности 2. Поскольку острая опасность и долгосрочная опасность представляют собой различные типы опасности, то их нельзя сопоставлять с точки зрения их относительной интенсивности. Чтобы создать базу, предназначенную для всех систем регулирования, оба подкласса опасности следует применять для классификации веществ независимо друг от друга.

A9.2.3.2 Основные классы опасности, определенные на основе критериев, относятся преимущественно к потенциалу хронической опасности. Эта ситуация отражает главную озабоченность в отношении химической продукции, находящейся в окружающей среде, а именно то, что вызываемый эффект носит обычно сублетальный характер, например последствия для размножения, в результате долговременного воздействия. Признавая, что основное беспокойство вызывает хроническая опасность, в частности в связи с упакованными грузами, у которых возможный выброс в окружающую среду происходит в ограниченных масштабах, следует признать

также то, что получение данных о хронической опасности связано с большими затратами и что такие данные обычно нелегко получить для большинства веществ. Данные же об острой токсичности обычно легкодоступны, и их можно получить по строго стандартизованным протоколам. Таким образом, именно острая токсичность использовалась в качестве основного свойства при определении как острой, так и долгосрочной опасности в тех случаях, когда отсутствуют полные данные по испытаниям на хроническую токсичность. Вместе с тем было признано, что данные по хронической токсичности, если они существуют, следует в первую очередь использовать при определении класса долгосрочной опасности.

A9.2.3.3 Комбинация хронической токсичности и органически присущих веществу свойств отражает потенциальную опасность какого-либо вещества. Вещества, скорость разложения которых невелика, имеют большой потенциал в плане долгосрочного воздействия и поэтому должны классифицироваться по более строгому классу, чем вещества, которые быстро разлагаются (см. A9.3.3.2.2).

A9.2.3.4 Признано, что острая токсичность сама по себе не является достаточно точным средством прогнозирования хронической токсичности, чтобы она могла самостоятельно и напрямую использоваться с целью определения опасности, однако считается, что она может быть использована в сочетании со способностью к биоаккумуляции (т.е. $\log K_{ow} \geq 4$, если только КБК не < 500) или потенциальным долговременным воздействием (т.е. отсутствие быстрого разложения) в качестве подходящего заменителя в целях классификации. Вещества с высокой скоростью биоразложения, которые проявляют острую токсичность при существенной степени биоаккумуляции, как правило проявляют хроническую токсичность при существенно низких концентрациях. Также вещества, которые не разлагаются быстро, в большей степени способны вызвать долговременное воздействие, которое может, в свою очередь, привести к долгосрочной токсичности. Так, например, при отсутствии полных данных испытаний на хроническую токсичность вещество будет отнесено к Классу хронической токсичности 1, если будет удовлетворен один из следующих критериев:

- a) $L(E)K_{50}$ для любого соответствующего вида водного организма ≤ 1 мг/л и способность к биоаккумуляции ($\log K_{ow} \geq 4$, если только КБК не < 500);
- b) $L(E)K_{50}$ для любого соответствующего вида водного организма ≤ 1 мг/л и отсутствие быстрого разложения.

A9.2.3.5 Точное определение основных элементов этой системы подробно описывается в разделах A9.3, A9.4 и A9.5.

A9.2.3.6 Некоторые слаборастворимые вещества, которыми считаются обычно вещества, растворимость в воде которых < 1 мг/л, в ходе их токсикологических тестов, проводимых при предельной растворимости, острой токсичности не проявляют. Если, однако, для данного вещества КБК ≥ 500 или отсутствует, если $\log K_{ow} \geq 4$ (что указывает на способность к биоаккумуляции) и если вещество не поддается быстрому разложению, то для подстраховки это вещество относят к Классу хронической опасности 4. Для веществ этого типа продолжительность воздействия при кратковременных испытаниях может быть слишком недостаточной для достижения равновесной концентрации в подопытных организмах. Поэтому, даже если при кратковременном испытании (на острую токсичность) токсичность не была обнаружена, такие биоаккумулируемые и не поддающиеся быстрому разложению вещества могут тем не менее оказывать хроническое токсикологическое воздействие, в частности потому, что такая низкая способность к разложению может вести к более длительной продолжительности воздействия в водной среде.

A9.2.3.7 При измерении токсичности в водной среде невозможно подвергнуть тестированию все виды организмов, присутствующих в водной экосистеме. Поэтому выбирают виды-представители, которые охватывают определенный ряд трофических уровней и таксономических

групп. Таксоны (рыбы, ракообразные и водные растения), выбранные в качестве "базового множества" видов, служащих для расчета большинства параметров опасности, представляют минимальную совокупность данных, позволяющую осуществить исчерпывающую оценку опасности. Для определения класса опасности используется обычно самый низкий из имеющихся показателей токсичности. Учитывая широкое разнообразие видов организмов в окружающей среде, три испытанных вида представляют собой лишь приблизительную выборку, и поэтому для определения класса опасности выбирают из предосторожности наиболее низкий показатель. При этом признается, что чувствительность видов может иметь несколько порядков величины и что, следовательно, в окружающей среде могут быть более и менее чувствительные виды. Таким образом, при наличии ограниченных данных использование наиболее чувствительных из испытанных видов позволяет получить осторожное, но приемлемое определение опасности. В некоторых случаях, когда шкалу чувствительности можно установить с большей точностью, чем это обычно возможно, в частности когда имеется более обширная база данных, использование наиболее низкого значения токсичности с целью классификации может оказаться нецелесообразным. Такие базы данных следует оценивать с должной предосторожностью.

A9.2.4 *Практическое применение*

A9.2.4.1 Как правило, для классификации вещества необходимо заняться поиском баз данных и других источников соответствующих данных, чтобы получить следующие элементы информации:

- a) растворимость в воде;
- b) острая токсичность в водной среде (Л(Э)K_{50S});
- c) хроническая токсичность в водной среде (КНЭ и/или эквивалент ЭК_x);
- d) имеющиеся данные о разложении (и конкретные свидетельства способности к активному биоразложению);
- e) данные о стабильности в водной среде;
- f) коэффициент биоконцентрации в рыбах (КБК);
- g) коэффициент распределения октанол/вода (log K_{ow});

Хотя данные о растворимости в воде и водостойкости не используются в критериях, они имеют тем не менее важное значение, поскольку оказываются полезными при интерпретации данных, касающихся других свойств (см. пункт A9.1.10).

A9.2.4.2 Для проведения классификации следует сначала проанализировать имеющиеся данные о токсичности водной среды. Необходимо рассмотреть все имеющиеся данные и выбрать те из них, которые отвечают критериям качества, требуемым для классификации. Если данных, которые удовлетворяют критериям качества, требуемым стандартизованными на международном уровне методами, не имеется, то необходимо будет рассмотреть все имеющиеся данные, чтобы определить, может ли быть осуществлена классификация. Если данные показывают, что острая водная токсичность Л(Э)K₅₀ больше 100 мг/л для растворимых веществ и хроническая водная токсичность больше 1 мг/л, то вещество не классифицируется в качестве опасного. В некоторых случаях никакой эффект в ходе испытания не наблюдается, и тогда отмечается значение токсичности водной среды, превышающее растворимость в воде, т.е. отсутствие острой токсичности в диапазоне концентраций вплоть до растворимости в испытуемой среде. В таком случае, и когда растворимость в испытуемой среде составляет ≥ 1 мг/л, вещество не классифицируется.

A9.2.4.3 Если имеются данные о хронической токсичности в водной среде, пороговые значения будут зависеть от того, является ли скорость разложения данного вещества высокой или низкой. Поэтому для веществ, скорость разложения которых не является быстрой, и для веществ, по которым отсутствует информация о скорости их разложения, пороговые величины являются более высокими, чем величины для веществ, по которым быстрая скорость их разложения может быть подтверждена (см. Глава 4.1, таблицы 4.1.1 и 4.1.2).

A9.2.4.4 Когда наиболее низкие значения острой токсичности в водной среде составляют менее 100 мг/л и отсутствуют полные данные по хронической токсичности, следует в первую очередь решить, под какой класс опасности подпадает эта токсичность, а затем определить, относится ли данное вещество к подклассу хронической и/или острой опасности. Это решение принимается на основе простого анализа имеющихся данных о коэффициенте распределения $\log K_{ow}$ и о разложении. Если $\log K_{ow} \geq 4$ или если вещество не может рассматриваться как вещество, способное к быстрому разложению, то независимо применяется подходящий класс долгосрочной опасности или соответствующий класс острой опасности. Следует отметить, что, хотя $\log K_{ow}$ является наиболее легким для получения показателем способности к биоаккумуляции, предпочтение отдается КБК, полученному опытным путем. Если это значение известно, то предпочтительно использовать именно его, а не коэффициент распределения. В таких условиях КБК ≥ 500 может свидетельствовать о биоаккумуляции, достаточной для отнесения данного вещества к соответствующему классу долгосрочной опасности. Если вещество является как быстрорастворимым, так и имеет низкий потенциал биоаккумуляции (КБК < 500 или при его отсутствии $K_{ow} < 4$), то в этом случае его не следует помещать в класс долгосрочной опасности, если данные по хронической токсичности не указывают на иное (см. A9.2.4.3).

A9.2.4.5 В случае слаборастворимых веществ, обычно тех из них, которые обладают растворимостью в испытываемой среде < 1 мг/л и не проявляют токсичности для водной среды, следует продолжить анализ, чтобы установить, нужно ли их относить к Классу хронической токсичности 4. Так, если вещество не поддается быстрому разложению и явно способно к биоаккумуляции (КБК ≥ 500 или, при отсутствии данных о КБК, $\log K_{ow} \geq 4$), оно относится к Классу хронической опасности 4.

A9.2.5 *Наличие данных*

Данные, используемые для классификации веществ, могут быть получены из источников информации, требуемых для разработки нормативных документов, и из соответствующей справочной литературы, хотя существуют также и ряд признанных на международном уровне баз данных, которые могут послужить неплохой отправной точкой. Эти базы данных отличаются друг от друга по качеству и полноте данных, и маловероятно, чтобы все сведения, необходимые для соответствующей классификации, содержались в какой-либо одной из них. Некоторые базы данных специализируются на водной токсичности, другие – на прогнозе состояния окружающей среды. Поставщик химического вещества обязан произвести необходимый поиск и проверку, чтобы определить широту охвата и качество имеющихся данных и использовать полученную информацию в процессе присвоения соответствующего класса опасности.

A9.2.6 *Качество данных*

A9.2.6.1 Процедура точного использования имеющихся данных описывается в соответствующем разделе, но, как правило, предпочтение следует отдавать данным, полученным в соответствии со стандартными международными руководящими принципами и правильными лабораторными методами. Однако классификация может осуществляться на основе наилучших имеющихся данных. Так, если не имеется данных, отвечающих вышеизложенным критериям качества, классификацию тем не менее производить можно, но при условии использования достоверных данных. Для облегчения этой операции разработано и широко используется руководство по оценке качества данных, в котором предусмотрены в целом следующие классы:

- a) данные, полученные из официальных источников, утвержденных регламентирующими органами, таких, как монографии ЕС, посвященные вопросам качества воды, и критерии качества воды Агентства по охране окружающей среды США (US EPA). Эти данные могут считаться достоверными для целей классификации. Однако эти данные – не единственные из имеющихся данных, и необходимо должным образом проверять дату составления отчета, содержащего эти данные. В них могут быть не учтены недавно полученные данные;
- b) данные, полученные на основе испытаний, проведенных в соответствии с нормативами, признанными на международном уровне (например, Руководящие принципы ОЭСР), или с национальными нормативами равноценного качества. С учетом проблем интерпретации, рассматриваемых в следующих разделах, эти данные могут использоваться для классификации;
- c) данные, полученные на основе опытов, которые, не соответствуя строго какому-либо из вышеупомянутых нормативов, проведены с соблюдением принятых принципов и методов и/или были проанализированы равноценными регулятивными органами до их публикации. Если зарегистрированы не все экспериментальные данные, то для определения полученных данных может оказаться необходимой субъективная оценка. В принципе, такие данные могут использоваться в рамках схемы классификации;
- d) данные, полученные на основе методики испытаний, значительно отклоняющейся от стандартных руководящих принципов и считающейся мало надежной. Такие данные не должны использоваться в классификации;
- e) данные типа КЗСА. Условия использования этих данных и их достоверность рассматриваются в соответствующих разделах;
- f) данные, которые получены из вторичных источников, таких, как справочники, рефераты, ссылки и т.д., и качество которых нельзя непосредственно оценить. Следует проанализировать эти данные, чтобы определить, можно ли будет их использовать в случае отсутствия данных, соответствующих уровням качества 1, 2 или 3. Эти данные должны быть достаточно подробными, чтобы можно было оценить их качество. При определении приемлемости этих данных для целей классификации следует должным образом учитывать трудности, с которыми пришлось столкнуться в ходе испытаний и которые, возможно, повлияли на качество данных и могут привести к незначительным результатам с точки зрения уровня установленной опасности (см. А9.3.6.2.3).

А9.2.6.2 Классификацию можно также произвести на основе неполных наборов данных о токсичности, например когда не имеется данных по всем трем трофическим уровням. В этих случаях классификация может считаться "временной" до тех пор, пока не будет получена дополнительная информация. Как правило, прежде чем назначать класс опасности, необходимо учесть все имеющиеся данные. При отсутствии высококачественных данных необходимо учитывать данные более низкого качества. В таких условиях требуется субъективная оценка реального уровня опасности. Например, когда имеются высококачественные данные по отдельному виду или таксону, эти данные должны использоваться вместо любых данных более низкого качества, которые также могут иметься в распоряжении в отношении этого вида или таксона. Однако высококачественные данные по всем трофическим уровням не всегда могут иметься в базовом наборе данных. В случае трофических уровней, по которым не имеется высококачественных данных, необходимо будет учитывать данные более низкого качества. Для учета таких данных, однако, потребуются также учитывать трудности, связанные с получением достоверного результата. Например, в случае химической продукции,

неустойчивой в воде, особенности испытания и схема эксперимента могут иметь решающее значение для оценки возможностей использования некоторых данных, тогда как для другой химической продукции они могут иметь менее важное значение. Эти трудности более подробно описываются ниже в разделе А9.3.

А9.2.6.3 Обычно определение опасностей и, следовательно, классификация основаны на информации, непосредственно получаемой в ходе испытаний исследуемого вещества. Однако в некоторых случаях в ходе испытаний могут возникнуть трудности или их результаты не отвечают здравому смыслу. Например, некоторая химическая продукция, будучи устойчивой в емкости, более или менее быстро реагирует в воде, приводя к образованию продуктов разложения, которые могут обладать различными свойствами. Когда это разложение протекает быстро, полученные данные испытаний часто позволяют определить опасности, связанные с продуктами разложения, так как испытаниям подвергаются именно они. Как правило, эти данные могут быть использованы для классификации исходного вещества. Однако, если процесс разложения протекает более медленно, можно испытать исходное вещество и получить данные об опасности, как и в предыдущем примере. Затем может быть учтено последующее разложение, чтобы определить, к какому классу опасности относить данное вещество – острой или долгосрочной. В некоторых случаях испытываемое таким образом вещество может привести, разлагаясь, к образованию еще более опасного продукта. В таких условиях для классификации исходного вещества следует должным образом учитывать опасность, свойственную продукту разложения, а также скорость, с которой этот продукт может образовываться при нормальных условиях окружающей среды.

А9.3 Водная токсичность

А9.3.1 Введение

Определение опасности данного вещества для водной среды основано на водной токсичности этого вещества. В основе классификации лежат данные о токсичности, полученные в отношении рыб, ракообразных и водорослей или водных растений. Эти таксоны обычно принимают в качестве представителей водной фауны и флоры в целях определения опасности. Вероятность нахождения данных по этим таксонам относительно высока благодаря тому, что они широко признаны регулятивными органами и химической промышленностью. С целью более точного установления параметров опасности для водной среды используется также и другая информация о поведении веществ и организмов с точки зрения разложения и биоаккумуляции. В настоящем разделе описываются соответствующие испытания на определение экотоксичности, приводится ряд основных концепций оценки экспериментальных данных и использования результатов испытаний в их различных комбинациях для классификации, резюмируются подходы, используемые при работе с трудными веществами, и кратко излагаются сведения, касающиеся интерпретации качества данных.

А9.3.2 Описание испытаний

А9.3.2.1 В целях классификации веществ в рамках согласованной системы данные о токсичности для пресноводных видов и морских видов могут рассматриваться в качестве равноценных. Следует отметить, что некоторые виды веществ, например ионизирующаяся органическая химическая продукция или металлорганические вещества, могут проявлять разную токсичность в пресной воде и в морской воде. Поскольку цель классификации состоит в том, чтобы охарактеризовать опасность для водной среды в целом, то выбирается результат, показывающий наибольшую токсичность.

А9.3.2.2 Критерии СГС, используемые для определения опасностей для здоровья человека и окружающей среды, должны быть нейтральными по отношению к методу испытания и должны, таким образом, допускать различные подходы, если эти подходы научно правильны и обоснованны в соответствии с международными процедурами и критериями, уже используемыми в действующих

системах для определения соответствующих видов опасности, и если они позволяют получать взаимоприемлемые данные. В соответствии с предлагаемой системой (OECD, 1998):

"Острая токсичность обычно определяется с использованием значений ЛК₅₀ для рыб при 96-часовом воздействии (Руководящий принцип испытаний 203 ОЭСР или равноценный метод), значений ЭК₅₀ для ракообразных при 48-часовом воздействии (Руководящий принцип испытаний 202 ОЭСР или равноценный метод) и/или значений ЭК₅₀ для водорослей при 72- или 96-часовом воздействии (Руководящий принцип испытаний 201 ОЭСР или равноценный метод). Эти виды рассматриваются в качестве заменителей всех водных организмов, и могут также учитываться данные о других видах, таких как ряска (Lemna), если имеется подходящая методология испытаний".

Испытания на хроническую токсичность предполагают как правило продолжительное воздействие, которое может длиться от нескольких дней до одного года и даже больше в зависимости от репродуктивного цикла водного организма. Испытания на хроническую токсичность могут проводиться для оценки некоторых видов опасности, связанных с ростом, выживанием, размножением и развитием испытываемого организма.

"Данные о хронической токсичности имеются в меньшем объеме по сравнению с данными об острой токсичности, и процедуры соответствующих испытаний в меньшей степени стандартизированы. Допускается использование данных, полученных в соответствии с Руководящими принципами испытаний 210 ОЭСР (Рыба, испытания токсичности на ранних стадиях жизни), 202 (часть 2) или 211 (Размножение дафний) и 201 (Водоросли, испытание торможения роста). Могут использоваться и другие проверенные и международно признанные испытания. Должны использоваться данные о КНЭ или другие равноценные данные о CL(EC)x".

В документе ОЭСР описываются основные статистические методы анализа данных стандартизованных испытаний на экотоксичность (ОЭСР 2006 год).

A9.3.2.3 Следует отметить, что некоторые из руководящих принципов ОЭСР, приведенных в качестве примеров классификации, в настоящее время пересматриваются или готовятся к обновлению. В результате таких пересмотров могут быть внесены незначительные изменения в условия проведения испытаний. Поэтому группа экспертов, занимавшаяся разработкой согласованных критериев классификации, предусмотрела некоторую гибкость в отношении продолжительности испытаний и даже испытываемых видов.

A9.3.2.4 Имеются многочисленные источники, содержащие руководящие принципы приемлемых испытаний, проводимых на рыбах, ракообразных и водорослях (OECD, 1999; EPA, 1996; ASTM, 1999; ISO, UE). Монография ОЭСР № 11, Detailed Review Paper on Aquatic Toxicity Testing for Industrial Chemicals and Pesticides (подробный обзорный документ по испытанию водной токсичности промышленных химикатов и пестицидов), является хорошим сборником методов пелагических испытаний и источников информации по этому виду испытаний. Этот документ является также источником информации о других соответствующих методах испытаний.

A9.3.2.5 *Испытания на рыбах*

A9.3.2.5.1 Испытания острой токсичности

Испытания острой токсичности проводятся обычно в течение 96 часов на мальках весом 0,1–5 граммов. Наблюдаемым эффектом при этих испытаниях является гибель мальков. Рыбы, превышающие по весу этот порядок величины, и/или продолжительность испытаний, составляющая менее 96 часов, приводят обычно к меньшей чувствительности. Однако такие данные могут быть

использованы для классификации, если не имеется приемлемых данных по рыбам меньшего размера, наблюдавшимся в течение 96 часов, или если результаты таких испытаний, проведенных на рыбах иного размера или в течение иного промежутка времени, могут привести к включению в более опасный класс. Для классификации следует использовать испытания, соответствующие Руководящему принципу 203 ОЭСР (Рыбы, 96 часов, ЛК₅₀), или равноценный метод испытания.

A9.3.2.5.2 Испытания хронической токсичности

Испытания рыб на хроническую или долгосрочную токсичность могут проводиться на оплодотворенной икре, зародышах, мальках или репродуктивно активных взрослых особях. В рамках схемы классификации можно использовать испытания, совместимые с Руководящим принципом 210 ОЭСР (Рыба, испытания токсичности на ранних стадиях жизни), тестированием жизненного цикла рыбы (US EPA 850.1500), или равноценные испытания. Продолжительность может значительно варьироваться в зависимости от цели испытаний (от 7 до более 200 суток). Наблюдаемые эффекты могут включать успешное вылупление малька, рост (изменения длины и веса), успешный нерест и выживание. С технической точки зрения, Руководящий принцип 210 ОЭСР (Рыба, испытания токсичности на ранних стадиях жизни) является испытанием не на "хроническую", а на субхроническую токсичность, которое проводится на чувствительных стадиях жизни. Испытание этого типа широко признается как средство прогнозирования хронической токсичности и в этом качестве используется в целях классификации в рамках согласованной системы. Данных о токсичности на ранних стадиях жизни рыб имеется гораздо больше по сравнению с данными исследований жизненного цикла или размножения рыб.

A9.3.2.6 Испытания на ракообразных

A9.3.2.6.1 Испытания острой токсичности

Испытания острой токсичности, проводимые на ракообразных, начинают с личиночных стадий. В случае дафний испытание длится 48 часов. Для остальных ракообразных, таких как мизидии и другие, продолжительность испытания составляет обычно 96 часов. Результатом наблюдения является гибель или, вместо нее, иммобилизация. Иммобилизация определяется как отсутствие реакции на легкий толчок. Для классификации следует использовать испытания, соответствующие Руководящему принципу 202, часть 1, ОЭСР (Дафния, испытания немедленной иммобилизации), документу US EPA OPPTS 850.1035 (Острая токсичность для мизидий) или равноценным испытаниям.

A9.3.2.6.2 Испытания хронической токсичности

Испытания хронической токсичности, проводимые на ракообразных, начинают обычно также с личиночных стадий и продолжают до достижения испытываемыми организмами полового созревания и их размножения. В случае дафний для достижения полового созревания и воспроизводства трех поколений достаточно 21 дня. Для мизидий требуется 28 дней. Результаты наблюдений включают время, необходимое для получения первого поколения, численность потомства, произведенного одной самкой, рост и выживание. В схеме классификации рекомендуется использовать испытания, соответствующие Руководящему принципу 202, часть 2, ОЭСР (Дафния, испытания размножения), документу US EPA OPPTS 850.1350 (Хроническая токсичность для мизидий) или равноценным испытаниям.

A9.3.2.7 Испытания на водорослях/растениях

A9.3.2.7.1 Испытания на водорослях

Водоросли выращиваются и подвергаются воздействиям испытываемого вещества в среде, богатой питательными элементами. Следует использовать испытания, соответствующие

Руководящему принципу 201 ОЭСР (Водоросли, испытания торможения роста). При стандартных методах испытаний используется плотность клеток в культуре, способная обеспечить экспоненциальный рост на всем протяжении испытания, которое обычно длится от 3 до 4 дней.

Испытание на водорослях является кратковременным испытанием и оно нацелено на получение результатов, касающихся как острой, так и хронической токсичности. Предпочтительным результатом наблюдения при этом испытании является торможение скорости роста водорослей, так как она не зависит от плана испытания, тогда как биомасса зависит как от скорости роста подопытного вида, так и от продолжительности испытания, а также от других элементов плана испытания. Если результат испытания регистрируется лишь как уменьшение биомассы или конкретно не указывается, это значение может быть интерпретировано как равноценный результат.

A9.3.2.7.2 Испытания на водных макрофитах

Сосудистым растением, наиболее часто используемым в испытаниях на определение водной токсичности, является ряска (*Lemna gibba* и *Lemna minor*). Испытание с использованием ряски – это кратковременное испытание, и, хотя оно нацелено на получение результатов, касающихся как острой, так и субхронической токсичности, для классификации в рамках согласованной системы используется лишь острая ЭК₅₀. Испытания длятся до 14 дней и проводятся в богатой питательными элементами среде, которая аналогична среде, используемой при испытаниях на водорослях, но может быть более насыщенной. Результатом наблюдения является изменение числа образованных вегетативных талломов. Следует использовать испытания, соответствующие руководящему принципу испытаний на ряске ОЭСР (находится в стадии разработки) и документу US EPA 850.4400 (Ряска, токсичность для водного растения).

A9.3.3 *Концепции водной токсичности*

В настоящем разделе рассматриваются вопросы использования данных об острой и хронической токсичности в целях классификации и особое внимание уделяется режимам воздействия, испытаниям на определение токсичности для водорослей и использованию КЗСА. Более подробное описание концепций водной токсичности см. в Rand (1996).

A9.3.3.1 *Острая токсичность*

A9.3.3.1.1 Для целей классификации водная токсичность означает внутреннее свойство вещества быть вредным для организма при кратковременном воздействии. Обычно острая токсичность выражается в виде концентрации, являющейся смертельной для 50% подопытных организмов (ЛК₅₀), оказывает измеримое вредное воздействие на 50% подопытных организмов (например, иммобилизация дафний) или приводит к уменьшению на 50% реакций со стороны подопытных (подготовленных) организмов по сравнению с реакциями контрольных (неподготовленных) организмов (например, скорость роста водоросли).

A9.3.3.1.2 Вещества, острая токсичность которых, по определению, меньше одной части на миллион (1 мг/л), обычно рассматриваются как очень токсичные. Обращение с ними, их использование или выброс в окружающую среду представляют высокую степень опасности, и эти вещества входят в Класс хронической и/или острой опасности 1. В случае превышения этого значения для определения класса острой токсичности используются десятичные числа. Вещества, острая токсичность которых составляет от одной до десяти частей на миллион (1–10 мг/л), включаются в Класс 2 острой токсичности, от десяти до ста частей на миллион (10–100 мг/л) – в Класс 3 острой токсичности, а вещества, токсичность которых превышает сто частей на миллион (> 100 мг/л), рассматриваются как практически нетоксичные.

A9.3.3.2 *Хроническая токсичность*

A9.3.3.2.1 Для целей классификации хроническая токсичность означает присущие веществу свойства оказывать вредное воздействие на водные организмы в течение времени, определяемого в зависимости от жизненного цикла этого организма. Такое хроническое воздействие включает обычно серию сублетальных эффектов и выражается, как правило, в виде концентрации, не вызывающей видимого эффекта (КНЭ), или равноценной ЭКх. Наблюдаемые результаты испытаний включают обычно выживание, рост и/или размножение. Продолжительность воздействия при испытаниях хронической токсичности широко варьируется в зависимости от измеренного эффекта и испытываемого вида.

A9.3.3.2.2 Для классификации, основанной на хронической токсичности, производится дифференциация между быстроразлагающимися и медленноразлагающимися веществами. Вещества, которые не быстро разлагаются, классифицируются по Классу хронической токсичности 1 в тех случаях, когда определяемая хроническая токсичность $\leq 0,01$ мг/л. Для разбивки по классам хронической токсичности более высокого значения принята десятичная шкала исчисления. Вещества с измеренной хронической токсичностью в диапазоне 0,01-0,1 мг/л классифицируются по Классу хронической токсичности 2, в то время как вещества с измеренной токсичностью в диапазоне 0,1-1,0 мг/л классифицируются по Классу хронической токсичности 3, а вещества с измеренными значениями, превышающими 1,0 мг/л, рассматриваются как практически нетоксичные. Для веществ, скорость разложения которых является невысокой или в отношении которых отсутствует информация об их быстром разложении, предусмотрены две категории хронической токсичности: Хроническая токсичность 1 для тех веществ, по которым значение токсичности $\leq 0,1$ мг/л, и Хроническая токсичность 2 для веществ, показатели измеренной хронической токсичности которых находятся в диапазоне от 0,1 до 1,0 мг/л.

A9.3.3.2.3 Поскольку данные о хронической токсичности в некоторых секторах распространены в меньшей степени, чем данные об острой токсичности, то в схемах классификации потенциал хронической токсичности при отсутствии достаточных данных по хронической токсичности определяется путем соответствующей комбинации данных по острой токсичности, данных об отсутствии разлагаемости и/или значений потенциала или фактического показателя биоаккумуляции. Вместе с тем, когда имеются достаточные данные по хронической токсичности, эти данные используются в первую очередь в сравнении с классификацией, основанной на комбинации острой токсичности в сочетании со скоростью разложения и/или биоаккумуляции. Поэтому в таком контексте следует использовать нижеприводимый общий подход:

- a) если имеются достаточные данные по хронической токсичности по всем трем трофическим уровням, то их можно непосредственно использовать для определения соответствующего класса хронической опасности;
- b) если имеются достаточные данные по хронической токсичности для одного или двух трофических уровней, следует провести исследование того, имеются ли данные по острой токсичности для других трофических уровней. Потенциальная классификация производится для трофического уровня (уровней) с данными по хронической токсичности и сопоставляется с результатами использования данных по острой токсичности для другого трофического уровня (уровней). Окончательная классификация производится в соответствии с наиболее строгим результатом;
- c) с тем чтобы устранить или снизить систематику классификации по хронической опасности с использованием данных по хронической токсичности, необходимо продемонстрировать, чтобы используемые показатели КНЭ (или эквивалент ЭКх) были бы приемлемы для устранения или снижения степени беспокойства в отношении всех таксономических рядов, которые являются результатом

классификации на основе данных по острой токсичности в комбинации с показателями разлагаемости и/или биоаккумуляции. В весьма частых случаях это может быть достигнуто путем использования долгосрочного КНЭ для наиболее чувствительных видов, определенного по острой токсичности. Таким образом, если классификация была основана на острой токсичности ЛК₅₀ для рыб, как правило, невозможно устранить или снизить уровень систематики такой классификации с использованием долгосрочного показателя КНЭ на основе испытаний на токсичность беспозвоночных. В таком случае показатель КНЭ, как правило, необходимо получать на основе длительного испытания рыб того же самого вида или эквивалентного вида или вида с большей чувствительностью. Таким же образом, если классификация была составлена на основе острой токсичности для более чем одного таксона, весьма вероятно, что потребуется составление показателя КНЭ по каждой группе. В случае классификации вещества по хронической токсичности 4 необходимо обеспечить достаточные свидетельства того, что КНЭ или эквивалент ЭК_x для каждого таксона больше 1 мг/л или больше, чем степень растворимости в воде рассматриваемых веществ.

A9.3.3.2.4 Испытания на водорослях/ряске не могут использоваться для отмены или снижения уровня классификации, поскольку:

- a) эти испытания не являются долговременными;
- b) соотношение между острой токсичностью и хронической токсичностью обычно незначительно; и
- c) окончательные значения больше соответствуют результатам испытаний по острой токсичности над другими организмами.

Однако, если классификация была установлена исключительно на основе острой токсичности (Л(Э)К₅₀), отмеченной в ходе отдельного испытания на водоросли/водном растении, тогда как результаты, полученные после серии других испытаний на водорослях, показывают, что хроническая токсичность (КНЭ) для этой таксономической группы находится в диапазоне токсичности, соответствующей менее жесткому классу классификаций, или превышает 1 мг/л, эти результаты могут использоваться для рассмотрения возможности отмены или понижения класса классификации. В настоящее время этот подход не может применяться к водным растениям, так как еще не разработаны стандартные испытания хронической токсичности.

A9.3.3.3 *Режимы воздействия*

В испытаниях острой и хронической токсичности как в пресноводной, так и в соленоводной средах используются условия воздействия четырех типов: статический режим, статический режим с обновлением воды (полустатический), режим рециркуляции воды и проточный режим. Выбор используемого испытания зависит обычно от характеристик испытуемого вещества, продолжительности испытания, подопытных видов и нормативных требований.

A9.3.3.4 *Испытательные среды для водорослей*

Испытания на водорослях проводятся в средах, богатых питательными элементами, и следует тщательно подойти к выбору одного общего компонента, которым могут быть ЭДТА или другие хелатирующие агенты. При испытании токсичности органической химической продукции требуется незначительное количество хелатирующего агента, например ЭДТА, для создания комплекса микроэлементов в культурной среде; в случае отсутствия этого агента может быть значительно замедлен рост водорослей и может быть подвергнута сомнению правильность

полученных результатов. Вместе с тем хелатирующие агенты могут уменьшить наблюдаемую токсичность испытуемых металлических веществ. Поэтому в случае металлических соединений желательно критически оценивать результаты испытаний, проведенных при высокой концентрации хелатирующих агентов и/или избытке хелатора (соответственно недостатке железа) по стехиометрии. Хелатор в свободном состоянии может значительно замаскировать токсичность тяжелых металлов, особенно если речь идет о таких сильных хелатирующих агентах, как ЭДТА. Однако из-за отсутствия свободного железа в среде может быть ограничен рост водорослей, и поэтому следует осторожно относиться к данным, полученным в результате испытаний, проведенных без железа и без ЭДТА или с уменьшенным количеством этих веществ.

A9.3.3.5 *Использование КЗСА*

В целях классификации и при отсутствии экспериментальных данных можно опираться на данные о КЗСА для прогнозирования острой токсичности для рыб, дафний и водорослей веществ, не являющихся электролитическими, электрофильными или реакционноспособными в другом отношении (см. раздел A9.6 об использовании КЗСА). Это использование остается проблематичным для таких веществ, как фосфорорганические соединения, которые действуют посредством специальных механизмов, например функциональных групп, взаимодействующих с биологическими рецепторами или могущих образовывать сульфгидрильные группы с клеточными белками. Были получены достоверные данные о КЗСА для химической продукции обладающей общим наркотическим действием. Подобной химической продукцией являются неэлектролиты с низкой химической реактивностью, такие как углеводороды, спирты, кетоны и некоторые алифатические хлорсодержащие углеводороды, биологическое действие которых зависит от их коэффициентов распределения. Каждый вид органической химической продукции может оказывать наркотическое действие. Однако, если химическая продукция является электролитом и содержит некоторые специфические функциональные группы, оказывающие также ненаркотическое действие, всякий расчет токсичности исключительно на основе коэффициента распределения даст сильно заниженную оценку токсичности. Нельзя использовать данные о КЗСА, касающиеся острой токсичности для водной среды исходных соединений, чтобы определить воздействие токсичных метаболитов и продуктов разложения, если эти данные были получены после промежутка времени, превышающего продолжительность испытаний острой токсичности.

A9.3.4 *Вес получаемых данных*

A9.3.4.1 В качестве основы классификации следует использовать высококачественные данные. Классификация должна предпочтительно опираться на первичные источники данных. Весьма важно иметь четкие и полностью описанные условия проведения испытаний.

A9.3.4.2 Когда имеются многочисленные исследования данной таксономической группы, необходимо выбрать самые чувствительные и качественные из них. В каждом отдельном случае необходимо решить, следует ли использовать вместо исследования, соответствующего правильным лабораторным методам, исследование, которое не соответствует правильным лабораторным методам, но содержит более чувствительные результаты наблюдений. Как правило, для классификации необходимо использовать результаты, указывающие на высокую токсичность и полученные в ходе испытаний, проведенных в соответствии с руководящими принципами, которые не стандартизованы или не отвечают правильным лабораторным методам, тогда как исследования, демонстрирующие незначительную токсичность, могут потребовать более тщательного рассмотрения. Вещества, трудные для испытания, могут дать наблюдаемые результаты, которые более или менее соответствуют реальной токсичности. В таком случае для их классификации потребуются заключение специалиста.

A9.3.4.3 Если имеются данные, полученные в результате нескольких приемлемых испытаний и касающиеся одной и той же таксономической группы, то для классификации обычно используются самые чувствительные из них (с наиболее низкой $L(Э)K_{50}$ или $KN(Э)$). Однако делать это необходимо с

учетом каждого конкретного случая. При наличии более крупных наборов данных (четыре значения и более) по одному и тому же виду можно использовать среднегеометрическое экспериментальное значение в качестве показателя токсичности, характерного для этого вида. Для расчета таких средних значений не рекомендуется комбинировать испытания, касающиеся различных видов, составляющих одну и ту же таксономическую группу, или проведенные на различных стадиях жизни, в различных условиях или в течение различных промежутков времени.

A9.3.5 Трудные для испытания вещества

A9.3.5.1 Для правильного проведения испытаний водной токсичности требуется растворить испытуемое вещество в водной среде в соответствии с условиями, рекомендованными руководящими принципами. Кроме того, на протяжении всего испытания должна поддерживаться такая концентрация испытуемого вещества, которая обеспечивала бы биологическое накопление. Некоторые вещества трудны для испытания в водных системах, и для испытания этих материалов были разработаны соответствующие рекомендации DoE (Министерство энергетики США), 1996; ЕСЕТОС (Европейский центр экологии и токсикологии), 1996; и US EPA (Управление по охране окружающей среды США), 1996. ОЭСР завершает разработку руководства по испытаниям водной токсичности, касающимся "трудных" веществ и их смесей (OECD, 2000 год). Этот последний документ является хорошим источником информации о типах веществ, которые трудны для испытания, и об операциях, необходимых для обеспечения достоверных результатов испытаний этих материалов.

A9.3.5.2 Однако существуют многочисленные данные испытаний, полученные с помощью методов, которые, не соответствуя тому, что принято считать сегодня правильными лабораторными методами, могут тем не менее позволить получить информацию, подходящую для применения критериев классификации. Интерпретация таких данных требует специальных инструкций, хотя, в конечном счете, для подтверждения достоверности этих данных необходима экспертная оценка. Такие трудные для испытания вещества могут быть слабо растворимыми, летучими или способными к быстрому разложению под воздействием таких процессов, как фотопревращение, гидролиз, окисление или биологическое разложение. При испытании водорослей окрашенные материалы могут интерферировать с результатами испытания, ослабляя свет, необходимый для роста клеток. Так же, вещества, испытываемые в виде мутных насыщенных дисперсий, могут привести к ошибочным результатам измерения токсичности. Введение испытуемого материала в слой воды может быть проблематичным для частиц или таких твердых веществ, как металлы. Введение нефтяных дистиллятов в водную среду также может быть проблематичным и создавать трудности для интерпретации результатов при выборе соответствующей концентрации с целью определения значений $L(\Sigma)K_{50}$. В проекте руководства по испытаниям трудных веществ и смесей на водную токсичность описываются наиболее общие свойства многих типов веществ, способных создавать трудности при испытаниях.

- a) **Устойчивость:** Если ожидается, что концентрации испытуемой химической продукции упадут ниже 80% от номинальной, испытание, чтобы быть действительным, может потребовать режима воздействия, предусматривающего обновление испытуемого вещества. В этом случае предпочтение следует отдавать полустатичным или проточным режимам. Особые проблемы возникают при испытаниях на водорослях, для которых стандартные руководящие принципы обычно предусматривают статические испытания. Если для ракообразных и рыб возможны другие режимы воздействия, то испытания на водорослях часто проводятся в статическом режиме, в соответствии с международно признанными руководящими принципами. В ходе этих испытаний необходимо допускать некоторую степень разложения и другие соответствующие факторы, которые следует должным образом учитывать при расчетах токсических концентраций. В A9.3.5.6 излагаются некоторые подходы к решению этой проблемы. Если происходит разложение, важно также

учитывать влияние токсичности продуктов разложения на токсичность, зарегистрированную в ходе испытания. Для принятия решения о том, могут ли эти данные использоваться для классификации, требуется заключение специалиста.

- b) Разложение: Если в условиях испытания разрушается или разлагается какое-либо соединение, то для расчета токсичности в целях классификации требуется заключение специалиста, в частности, с учетом известных или вероятных продуктов разложения. Желательно знать концентрации исходного вещества и всех значимых токсичных продуктов разложения. Если ожидается, что продукты разложения будут относительно нетоксичными, то желательно предусмотреть режимы воздействия с обновлением испытательной среды, чтобы гарантировать поддержание концентраций исходных соединений.
- c) Насыщенность: Для однокомпонентных веществ классификация должна основываться исключительно на токсичных реакциях, наблюдаемых в диапазоне растворимости испытуемого вещества, а не на его общем количестве, выходящем за пределы растворимости. Часто получают данные, свидетельствующие о токсичности, уровень которой превышает растворимость в воде, и, хотя эти данные часто рассматриваются как недостоверные, тем не менее возможна их некоторая интерпретация. Эти проблемы обычно возникают при испытаниях слабо растворимых веществ; инструкции, касающиеся интерпретации таких данных, содержатся в А9.3.5.7 (см. также Руководство по испытаниям трудных веществ и их смесей на водную токсичность).
- d) Нарушение параметров испытательной среды: Могут понадобиться специальные меры, обеспечивающие растворение трудных для испытания веществ. Эти меры не могут привести к значительным изменениям испытательной среды, способным вызвать увеличение или уменьшение наблюдаемой токсичности и, таким образом, изменить уровень классификации испытуемого вещества.
- e) Сложные вещества: Многие вещества, охваченные схемой классификации, являются, по сути, смесями, для которых трудно, а в некоторых случаях и невозможно, измерить концентрации воздействия. Такие вещества, как нефтяные дистилляты, полимеры, вещества, содержащие большие количества примесей, и т. д., могут создавать особые проблемы, так как токсическую концентрацию трудно определить и невозможно проверить. Типичная методика испытаний часто бывает основана на образовании растворимой в воде фракции или растворенной в воде фракции, а полученные данные регистрируются в виде коэффициентов загрузки. Эти данные можно использовать в целях применения критериев классификации.

А9.3.5.3 Для классификации органических соединений желательно иметь стабилизированные и измеренные путем анализа испытуемые концентрации. Хотя предпочтение следует отдавать измеренным концентрациям, классификация может основываться и на исследованиях, касающихся номинальной концентрации, в тех случаях, когда речь идет о единственных имеющихся достоверных данных. Если вещество способно существенно разлагаться или каким-либо иным образом удалиться из водной среды, то следует осторожно подходить к интерпретации данных, и классификация должна осуществляться с учетом, если это целесообразно и возможно, потери токсиканта во время испытания. Кроме того, металлы создают ряд трудностей, которые характерны только для них и рассматриваются отдельно. В таблице А9.3.1 перечислены некоторые свойства трудных для испытания веществ и указана их релевантность с точки зрения классификации.

A9.3.5.4 В наиболее трудных условиях испытаний фактическая испытываемая концентрация будет, вероятно, ниже номинальной или предполагаемой испытываемой концентрации. Если острая токсичность $L(\Sigma)K_{50}$ трудного для испытания вещества оценена на уровне < 1 мг/л, то можно быть вполне уверенным в том, что это вещество будет отнесено к Классу острой опасности 1 (и, если уместно, к Классу хронической токсичности 1). Однако, если оцененная острая токсичность больше 1 мг/л, то речь идет, вероятно, о недостаточной репрезентативности для данной токсичности. В этих условиях для определения того, приемлемо ли для целей классификации испытание трудного вещества, требуется заключение эксперта. Если считается, что характер возникающих проблем, связанных с испытанием, оказывает значительное воздействие на реальную концентрацию, когда острая токсичность, по оценкам, больше 1 мг/л, а испытываемая концентрация не измерена, то следует с должной осторожностью использовать результаты этого испытания для целей классификации.

A9.3.5.5 В нижеследующих пунктах содержатся подробные указания, касающиеся некоторых из перечисленных проблем интерпретации. В этой связи не следует забывать, что речь идет лишь об указаниях, а не о жестких правилах. Учитывая природу трудностей, следует всегда использовать экспертную оценку, чтобы определить одновременно, получена ли в результате испытания достаточная информация, позволяющая судить о его достоверности, и можно ли рассчитать уровень токсичности, который можно было бы использовать в целях применения критериев классификации.

A9.3.5.6 *Нестабильные вещества*

A9.3.5.6.1 Хотя, в принципе, разработана методика испытаний, позволяющая свести к минимуму воздействие неустойчивости в испытательных средах, на практике почти невозможно, в случае ряда испытаний, поддерживать концентрацию испытываемого вещества на протяжении всего испытания. Наиболее частыми причинами такой неустойчивости являются окисление, гидролиз, фотодеградация и биоразложение. Хотя эти формы разложения можно было бы легко контролировать, такой контроль часто отсутствует во многих испытаниях. Однако при некоторых испытаниях, в частности при определении острой и хронической токсичности для рыб, имеется возможность выбрать режим воздействия, способствующий минимизации потерь по причине неустойчивости, и это следует учитывать, принимая решение относительно достоверности полученных в ходе испытания данных.

A9.3.5.6.2 Когда неустойчивость является одним из факторов, с которым необходимо считаться при определении уровня воздействия во время испытания, неизменным предварительным условием для интерпретации данных является наличие измеренных показателей концентрации воздействия на соответствующих стадиях испытания. При отсутствии данных о значениях концентрации, измеренных путем анализа, по крайней мере, в начале и в конце испытания, достоверную интерпретацию осуществить нельзя и испытание следует рассматривать как недействительное для целей классификации. Если имеются измеренные данные, то во время интерпретации можно руководствоваться рядом практических правил:

- a) Если имеются данные, измеренные в начале и в конце испытания (что является обычной процедурой для испытаний острой токсичности для дафний и водорослей), то $L(\Sigma)K_{50}$ для целей классификации можно рассчитать на основе среднего геометрического значения концентраций в начале и в конце испытания. Если значения концентрации в конце испытания ниже аналитического предела обнаружения, эти значения должны рассматриваться как равные половине этого предела обнаружения.
- b) Если имеются данные, измеренные в начале и в конце периодов обновления среды (как это может быть в случае испытаний в статическом режиме с обновлением воды), следует рассчитать среднее геометрическое для каждого периода обновления и на основе этих данных определить среднюю экспозицию за весь период воздействия.

- c) Если токсичность может быть отнесена на счет какого-либо продукта разложения и если известны значения концентрации этого продукта, можно рассчитать $L(E)K_{50}$ для целей классификации на основе среднего геометрического концентрации продукта разложения, пересчитанной для исходного вещества.
- d) Аналогичные принципы применяются к данным, измеренным в ходе испытаний хронической токсичности.

A9.3.5.7 *Слаборастворимые вещества*

A9.3.5.7.1 Эти вещества, растворимость в воде которых, как обычно считается, составляет < 1 мг/л, часто с трудом растворяются в испытательных средах, и растворенные концентрации нередко оказываются трудны для измерения на предполагаемом низком уровне. Для многих веществ истинная растворимость в испытательной среде будет неизвестна и будет часто считаться ниже предела обнаружения в очищенной воде. Однако такие вещества могут проявлять токсичность, и, когда токсичность не обнаружена, необходимо решить, может ли этот результат считаться достоверным для классификации. При этом необходимо проявлять осторожность и не следует недооценивать опасность.

A9.3.5.7.2 В принципе, необходимо применять испытания, в которых используются соответствующие методы растворения, а концентрация точно измерена в пределах растворимости в воде. Эти данные испытаний, в случае их наличия, следует предпочитать остальным данным. Однако можно, особенно при рассмотрении более старых данных, найти и значения токсичности, превышающие растворимость в воде, или случаи, когда растворенные количества находятся ниже аналитического предела обнаружения. В обоих случаях невозможно проверить реальные концентрации воздействия с помощью измеренных данных. Если эти данные являются единственными доступными данными для проведения классификации, то в качестве общего руководства можно воспользоваться некоторыми практическими правилами:

- a) Если острая токсичность наблюдается при концентрациях, превышающих растворимость в воде, то $L(E)K_{50}$ для целей классификации может считаться ниже или равной измеренной растворимости в воде. В этом случае данное вещество будет, вероятно, отнесено к Классу хронической опасности 1 и/или Классу острой опасности 1. Принимая это решение, необходимо также учитывать возможность того, что нерастворенное вещество, находящееся в избыточном количестве, могло само оказать физическое воздействие на подопытные организмы. Если такое воздействие считается вероятной причиной наблюдаемых эффектов, испытание должно считаться недействительным для целей классификации.
- b) Если острая токсичность не наблюдается при концентрациях, превышающих растворимость в воде, то $L(E)K_{50}$ для целей классификации может считаться выше измеренной растворимости в воде. В этом случае необходимо решить, должно ли вещество быть отнесено к Классу хронической опасности 4. Прежде чем делать вывод о том, что вещество не проявляет острой токсичности, следует должным образом учесть методы, используемые для достижения максимальных концентраций этого вещества. Если эти методы не считаются надежными, то испытание должно считаться недействительным для целей классификации.
- c) Если растворимость в воде ниже аналитического предела обнаружения для данного вещества и наблюдается острая токсичность, то $L(E)K_{50}$ для целей классификации может считаться ниже аналитического предела обнаружения. Если токсичность не наблюдается, то $L(E)K_{50}$ для целей классификации может считаться выше растворимости в воде. Следует также должным образом учитывать критерии качества испытаний, упомянутые выше.

- d) Если имеются данные о хронической токсичности, то следует применять те же общие правила. Подобным же образом, если эти данные не могут быть подтверждены на основе учета измеренных концентраций, можно применять методы, используемые для достижения максимальных концентраций растворенного вещества.

A9.3.5.8 *Другие факторы, способствующие уменьшению концентрации*

Уменьшению концентрации может способствовать ряд других факторов, но ее можно избежать с помощью правильного плана испытаний; в ходе интерпретации данных необходимо учитывать уменьшение концентрации, произошедшее под воздействием таких факторов, как

- a) седиментация: это явление может происходить во время испытания по ряду причин. Одним из наиболее распространенных объяснений является то, что вещество на самом деле не растворилось несмотря на видимое отсутствие частиц и что во время испытания происходит агрегация, ведущая к выпадению осадка. В этих условиях можно считать, что показатели Л(Э)К₅₀ для целей классификации основаны на значениях концентраций продукта в конце испытания. Так же, выпадение осадка может произойти в результате реакции среды. Этот случай рассматривался выше в связи с вопросом о неустойчивости;
- b) адсорбция: это явление может происходить с веществами, обладающими высокими адсорбционными характеристиками, такими как высокое значение $\log K_{ow}$. При адсорбции обычно происходит быстрое уменьшение концентрации, и концентрации, достигаемые к концу испытания, могут наиболее верно характеризовать оказанное воздействие;
- c) биоаккумуляция: уменьшение концентрации может произойти в результате биоаккумуляции вещества подопытными организмами. Это явление может происходить в особо крупном масштабе при низкой растворимости в воде и, следовательно, высоком значении $\log K_{ow}$. В целях классификации значения Л(Э)К₅₀ или КНЭ могут рассчитываться на основе среднегеометрического значения концентрации в начале и в конце испытания.

A9.3.5.9 *Нарушение параметров испытательной среды*

A9.3.5.9.1 Сильные основания и кислоты могут показаться токсичными, так как они способны изменить рН. Однако, как правило, изменения рН в водных системах предотвращают путем включения в состав испытательной среды буферных систем. Если не имеется никаких данных по конкретной соли, то эта соль должна, в принципе, классифицироваться таким же образом, что и анион или катион, т.е. как ион, которому по классификации присвоена наиболее опасная степень. Если эффективная концентрация касается лишь одного из ионов, то при классификации соли следует учитывать разницу молекулярных масс и скорректировать эту концентрацию, помножив ее на отношение $MM_{\text{соль}}/MM_{\text{ион}}$.

A9.3.5.9.2 Полимеры обычно не присутствуют в водных системах. Вододиспергируемые полимеры и другие высокомолекулярные материалы могут нарушать параметры испытательной среды, мешать поглощению кислорода и вызывать механический или вторичный эффект. Эти факторы необходимо принимать во внимание при рассмотрении данных, полученных в ходе испытаний этих веществ. Некоторые полимеры ведут себя, однако, как сложные вещества, имеющие значительную низкомолекулярную массовую долю, которая может быть получена выщелачиванием из массы полимера. Этот случай рассматривается ниже.

A9.3.5.10 *Сложные вещества*

A9.3.5.10.1 Сложные вещества характеризуются различными химическими структурами, которые часто находятся в одном гомологическом ряду, но обладают широким набором значений растворимости в воде и других физико-химических свойств. В присутствии воды достигают равновесия между растворенными и нерастворенными фракциями, и это равновесие характеризует количество введенного вещества. Поэтому такие сложные вещества часто испытываются в виде растворимой в воде фракции или растворенной в воде фракции, и Л(Э)К₅₀ регистрируется в зависимости от количества или номинальных концентраций. Дополнительных аналитических данных обычно не имеется, так как растворенная фракция сама будет являться сложной смесью компонентов. Параметр токсичности обозначают иногда как ЛКЗ₅₀, т.е. летальный коэффициент загрузки. Этот коэффициент загрузки, получаемый с учетом растворимой или растворенной в воде фракции, может использоваться непосредственно для классификации.

A9.3.5.10.2 Полимеры представляют собой особый вид сложного вещества, что требует учета типа полимера и его поведения с точки зрения растворения/дисперсии. Полимеры могут растворяться без изменений (истинная растворимость, связанная с размером частиц), диспергировать или частично переходить в раствор в виде низкомолекулярных массовых долей. В последнем случае при испытании полимера испытывается, по сути, способность низкомолекулярного материала выделяться в виде продукта выщелачивания из массы полимера, а также токсичность этого продукта. Таким образом, полимер может уподобляться сложной смеси, так как испытываемое количество полимера может оптимально характеризовать полученный продукт выщелачивания, и токсичность может, следовательно, быть связана с этим количеством.

Таблица A9.3.1: Классификация трудных для испытания веществ

Свойство	Описание возникающих проблем	Классификация
Слабо растворимое в воде	Получение/поддержание необходимой концентрации воздействия. Анализ воздействия.	Если наблюдаются токсичные реакции выше уровня наблюдаемой растворимости, то необходима экспертная оценка для подтверждения того, вызван ли этот эффект химической токсичностью или физической причиной; если никакого эффекта не наблюдается, необходимо доказать, что достигнуто полное насыщение водной фазы испытываемым веществом.
Токсичное при низких концентрациях	Получение/поддержание необходимой концентрации воздействия. Анализ воздействия.	Классификация на основе токсичности < 1 мг/л
Легучее	Поддержание и измерение концентрации воздействия.	Классификация должна быть основана на достоверных измерениях концентраций.
Поддающееся фотодеградации	Поддержание концентрации воздействия. Токсичность продуктов разложения.	Классификация требует экспертной оценки и должна осуществляться на основе измеренных концентраций. Токсичность важных продуктов разложения должна быть охарактеризована.
Неустойчивое в водном растворе	Поддержание концентрации воздействия. Токсичность продуктов разложения. Сопоставление периодов полураспада и режима воздействия, использованного в испытаниях.	Классификация требует экспертной оценки, должна быть основана на измеренных концентрациях; она должна учитывать токсичность важных продуктов разложения.

Свойство	Описание возникающих проблем	Классификация
Окисляемое	Получение, поддержание и измерение концентрации воздействия. Токсичность измененных химических структур или продуктов разложения. Сопоставление периодов полураспада и режима воздействия, использованного в испытаниях.	Классификация требует экспертной оценки, должна быть основана на измеренных концентрациях; она должна учитывать токсичность важных продуктов разложения.
Поддающееся коррозии/ трансформации (металлы/ соединения металлов)	Получение, поддержание и измерение концентрации воздействия. Сопоставление распределения периодов полураспада в водной среде и режима воздействия, использованного в испытаниях.	Классификация требует экспертной оценки, должна быть основана на измеренных концентрациях; она должна учитывать токсичность важных продуктов разложения.
Способно к биоразложению	Поддержание концентрации воздействия. Токсичность продуктов разложения. Сопоставление периодов полураспада и режима воздействия, использованного в испытаниях.	Классификация требует экспертной оценки, должна быть основана на измеренных концентрациях; она должна учитывать токсичность важных продуктов разложения.
Адсорбирующее	Поддержание концентрации воздействия. Анализ воздействия. Ослабление токсичности из-за пониженного содержания испытуемого вещества.	Для классификации должна использоваться измеренная концентрация имеющегося материала.
Хелатирующее	Проведение различия между хелатными и нехелатными фракциями в среде.	Для классификации должна использоваться измеренная концентрация материала, поддающегося биологическому усвоению.
Окрашенное	Ослабление света (проблема для водорослей).	Для классификации необходимо проводить различие между токсическими последствиями и замедлением роста из-за ослабления света.
Гидрофобное	Поддержание концентрации воздействия на постоянном уровне.	Для классификации должна использоваться измеренная концентрация.
Ионизированное	Поддержание концентрации воздействия. Токсичность продуктов разложения. Сопоставление периодов полураспада и режима воздействия, использованного в испытаниях.	Классификация требует экспертной оценки, должна быть основана на измеренных концентрациях; она должна учитывать токсичность важных продуктов разложения.
Многокомпонентное	Подготовка репрезентативных испытательных партий.	Рассматривается так же, как сложная смесь.

A9.3.6 *Интерпретация качества данных*

A9.3.6.1 *Стандартизация*

Влияние на результаты испытаний токсичности, связанных с водными организмами, могут оказывать многие факторы. Эти факторы включают свойства испытательной воды, план эксперимента, химические свойства испытуемого материала и биологические свойства подопытных организмов. Поэтому при проведении испытаний водной токсичности важно использовать стандартную методику испытаний, чтобы уменьшить влияние этих внешних переменных источников. Цель стандартизации испытаний и согласования этих стандартов на международном уровне состоит в уменьшении вариантности испытаний и улучшении точности, воспроизводимости и стабильности результатов испытаний.

A9.3.6.2 *Иерархия данных*

A.9.3.6.2.1 Классификация должна основываться на качественных первичных данных. Предпочтение следует отдавать данным, полученным в соответствии с руководящими принципами ОЭСР, или равноценными им положениями, и правильными лабораторными методами. Хотя предпочтение отдается данным, полученным в соответствии с согласованными на международном уровне методами испытаний, проведенных на стандартных видах организмов, могут также использоваться результаты испытаний, проведенных в соответствии с широко признанными международными или национальными методами или равноценными им положениями, например методы ISO или ASTM. Данные, которые были получены в результате испытаний, проведенных, по всей видимости, с соблюдением признанных руководящих принципов, но которые не совсем соответствуют правильным лабораторным методам, могут использоваться в случае отсутствия данных, соответствующих правильным лабораторным методам.

A.9.3.6.2.2 Педерсен и другие (Pedersen et al., 1995) предлагают систему оценки качества данных, совместимую со многими другими используемыми в настоящее время системами, включая систему, используемую US EPA для его базы данных AQUIRE. Менсинк и другие (Mensink et al., 1995) тоже исследуют качество данных. Система оценки качества данных, описанная Педерсеном и другими, включает схему оценки достоверности, которая может использоваться в качестве образца для классификации в рамках согласованной схемы. Первые три уровня данных, описываемые Педерсеном, соответствуют наиболее достоверным данным.

A.9.3.6.2.3 Данные, используемые для классификации в рамках согласованной системы, должны происходить из первичных источников. Однако, поскольку многие страны и многие регулятивные органы будут осуществлять классификацию, используя согласованную общую систему, то классификация должна позволить использовать исследования, полученные от национальных органов и от групп экспертов, так как эти исследования будут опираться на первичные источники данных. В этих исследованиях должны содержаться краткие отчеты об условиях испытаний, которые должны быть достаточно подробными, чтобы можно было оценить весомость доказательства и принять решение относительно классификации. В некоторых случаях можно использовать результаты исследований, проведенных хорошо зарекомендовавшими себя группами, такими как GESAMP, так как можно иметь доступ к первичным данным.

A.9.3.6.2.4 В случае отсутствия экспериментальных данных испытаний можно пользоваться значениями количественной зависимости "структура-активность" (КЗСА), подтвержденными для водной токсичности. Прогнозам типа КЗСА следует всегда предпочитать данные испытаний, если эти данные достоверны.

A9.4 **Разложение**

A9.4.1 *Введение*

A9.4.1.1 Способность к разложению является одним из важных внутренних свойств веществ, которые определяют их потенциальную экологическую опасность. Вещества, не поддающиеся разложению, сохраняются в окружающей среде и могут поэтому оказывать долгосрочное вредное воздействие на биоту. И напротив, вещества, способные к разложению, могут быть удалены через канализационные сети, станции очистки сточных вод или окружающую среду.

Классификация веществ основана, главным образом, на их внутренних свойствах. Однако степень разложения вещества зависит не только от сопротивляемости разрушению молекулы, но также и от реальных условий, существующих в принимающей зоне окружающей среды, таких как редокспотенциал, рН, присутствие соответствующих микроорганизмов, концентрация веществ, а также появление и концентрация других субстратов. Для интерпретации свойств разложения в связи с классификацией видов опасности для водной среды необходимо, таким образом, располагать

подробными критериями, позволяющими сбалансировать внутренние свойства вещества и существующие условия окружающей среды, чтобы прийти к заключению относительно потенциального долгосрочного вредного воздействия. Цель настоящего раздела – дать методические указания, позволяющие интерпретировать данные о способности органических веществ к разложению. В основу этих указаний положен анализ вышеупомянутых аспектов, касающихся разложения в водной среде. На основе этих указаний предложена подробная схема принятия решений, предназначенная для использования существующих данных о разложении в целях классификации. Настоящее руководство охватывает следующие виды данных о разложении: данные о непосредственной биоразлагаемости; данные о моделировании изменения вещества в воде, водных отложениях и почве; данные об отношении КПК₅/ХПК; и методы, позволяющие оценить способность к быстрому разложению в водной среде. В ней также рассматриваются способность к анаэробному разложению; внутренняя способность к биоразложению; данные об испытаниях станций очистки сточных вод, проведенных методом моделирования; данные о биотических превращениях, таких как гидролиз и фотолит; процесс удаления, такой как испарение; и наконец, данные, полученные в результате полевых наблюдений и мониторинговых исследований.

A9.4.1.2 В главе 4.1 разложение определяется как распад органических молекул на более мелкие молекулы и, в конечном счете, на двуокись углерода, воду и соли. В случае неорганических соединений и металлов концепция способности к разложению, в том виде, в каком она применяется к органическим соединениям, если и имеет значение, то весьма незначительное. Действительно, вещество может трансформироваться под действием обычных процессов в окружающей среде, в результате чего возрастает или уменьшается биоаккумуляция токсичных видов. Поэтому в настоящем разделе рассматриваются только органические вещества и металлоорганические соединения. Распределение вещества из водной среды в другие зоны окружающей среды рассматривается в разделе A9.7.

A9.4.1.3 Данные о свойствах разложения вещества могут быть получены в результате стандартных испытаний или других видов наблюдений или могут быть определены на основе структуры молекул. Интерпретация таких данных о разложении в целях классификации часто требует подробной оценки данных, полученных в результате испытания. В настоящей главе содержатся методические указания на этот счет, и дополнительная информация приведена в двух добавлениях к настоящему приложению, в которых описываются имеющаяся методология (дополнение A9.I) и факторы, влияющие на разложение в водных средах (дополнение A9.II).

A9.4.2 *Интерпретация данных о способности к разложению*

A9.4.2.1 *Способность к быстрому разложению*

Классификация опасностей веществ для водной среды обычно основана на существующих данных, касающихся особенностей их поведения в окружающей среде. Редко получают данные испытаний лишь с целью облегчения классификации. Часто в распоряжении имеется широкое разнообразие результатов испытаний, которые необязательно отвечают непосредственно критериям классификации. Поэтому необходимы рекомендации в отношении интерпретации существующих результатов испытаний в связи с классификацией видов опасности для водной среды. На основе согласованных критериев ниже излагаются методические указания, касающиеся трех видов данных, охватываемых выражением "быстрое разложение" в водной среде (см. A9.1.8, A9.1.9, A9.1.2.3.1–A9.2.3.4 и определения, содержащиеся в главе 4.1, пункт 4.1.2.11.3).

A9.4.2.2 *Способность к легкому биоразложению*

A9.4.2.2.1 Определение способности к легкому биоразложению содержится в Руководящих принципах 301 ОЭСР (OECD, 1992). Все органические вещества, которые разлагаются в степени, превышающей пороговый уровень, установленный в стандартном испытании ОЭСР на способность к легкому биоразложению или в каком-либо аналогичном испытании, должны считаться способными к

легкому биоразложению и, следовательно, также способными к быстрому разложению. В многочисленных данных испытаний, взятых из справочной научной литературы, однако, не указываются все условия, которые необходимо оценить, чтобы доказать, отвечает ли испытание требованиям, предъявляемым к испытанию способности к легкому биоразложению. Поэтому, прежде чем использовать эти данные в целях классификации, требуется экспертная оценка их достоверности. Прежде чем делать заключение о способности испытуемого вещества к легкому биоразложению, необходимо рассмотреть, по меньшей мере, следующие параметры.

A9.4.2.2.2 Концентрация испытуемого вещества

В испытаниях ОЭСР на способность к легкому биоразложению используются относительно высокие концентрации испытуемого вещества (2–100 мг/л). Многие вещества в столь высоких концентрациях могут, однако, быть токсичными и для инокулятов, вызывая слабое разложение во время испытаний, хотя те же самые вещества могут быстро разлагаться при более слабых нетоксичных концентрациях. Токсичность испытуемого вещества может быть доказана с помощью испытания токсичности на микроорганизмах (как, например, Руководящие принципы 209 ОЭСР "Активный ил, испытание ингибирования дыхания", испытания ISO 9509 – торможение нитрификацией или ISO 11348 – подавление бактериальной люминесценции). Если существует вероятность того, что отсутствие у вещества способности к легкому разложению вызвано эффектом ингибирования, то необходимо использовать, если они имеются в наличии, результаты испытания, в котором применялись более слабые и нетоксичные концентрации испытуемого вещества. Тогда можно установить, в зависимости от каждого конкретного случая, взаимосвязь между этими результатами и критериями классификации, касающимися быстрого разложения, хотя обычно предпочитают использовать результаты испытаний на разложение в поверхностных водах, с использованием экологически реалистичной микробной биомассы и низких, а значит также реалистичных с точки зрения окружающей среды, концентраций испытуемого вещества.

A9.4.2.2.3 Временной интервал

Согласованные критерии (см. 4.1.2.11.3) предусматривают – для всех испытаний на способность к легкому биоразложению – требование, в соответствии с которым пороговый уровень должен быть достигнут в течение 10 суток. Это требование не соответствует Руководящему принципу 301 ОЭСР, устанавливающему 10-суточный временной интервал для испытаний ОЭСР на способность к легкому биоразложению, но не к испытаниям MITI 1 (Руководящий принцип 301 С ОЭСР). В случае испытания в закрытом флаконе (Руководящий принцип 301D ОЭСР) вместо 10-суточного можно использовать 14-суточный временной интервал, если измерения не производились по истечении 10 суток. Кроме того, часто имеются лишь ограниченные сведения, касающиеся контрольных значений испытаний на способность к биоразложению. Так, на практике, если не имеется информации о 10-суточном временном интервале, для оценки способности к легкому биоразложению можно использовать непосредственно процентное значение разложения, достигнутого после 28 суток. Такой подход приемлем, однако, лишь в отношении существующих результатов испытаний, а также результатов испытаний, в которых не применяется требование о 10-суточном временном интервале.

В тех случаях, когда имеются достаточные основания, условие применения 10-дневного периода может быть снято для сложных, многокомпонентных веществ и может применяться временной интервал в размере 28 дней. Составляющие таких веществ могут иметь различную протяженность метаболической цепочки, степень и/или место распространения либо их стереоизомеры даже в своей наиболее чистой коммерческой форме. Испытание каждого отдельного компонента может быть дорогостоящим и практически ненужным. Если проводится проверка сложного, многокомпонентного вещества и предполагается, что поэтапное биоразложение отдельных структур имеет место, то в этом случае для толкования результатов такого испытания не следует применять 10-дневный период. Вместе с тем должна проводиться оценка каждого отдельного случая для выяснения того, даст ли испытание на биоразложение ценную информацию в отношении

биоразложения вещества как такового (т.е. в отношении биоразложения всех его составляющих) или же потребуется изучение степени разложения тщательно отобранных отдельных компонентов сложного, многокомпонентного вещества.

A9.4.2.3 *БПК₅/ХПК*

Информация о биохимической потребности в кислороде за пять суток (БПК₅) используется в целях классификации лишь в том случае, если не имеется других измеренных данных о способности к разложению. Так, предпочтение отдается данным испытаний способности к легкому биоразложению и данным моделирования способности к разложению в водной среде. Определение БПК₅ является традиционным испытанием биоразложения, которое в настоящее время заменяется испытаниями способности к легкому биоразложению. Поэтому в настоящее время это испытание не должно проводиться для оценки способности веществ к легкому биоразложению. Однако могут использоваться более ранние результаты испытаний, если не имеется других данных о способности к разложению. Для веществ, химическая структура которых известна, может быть рассчитана теоретическая потребность в кислороде (ТПК), и это значение следует использовать вместо химической потребности в кислороде (ХПК).

A9.4.2.4 *Другие убедительные научные доказательства*

A9.4.2.4.1 Быстрое разложение в водной среде может быть доказано с помощью других данных, не являющихся данными, упомянутыми в главе 4.1, пункт 4.1.2.11.3, а) и б). Такими данными могут быть данные о биотическом и/или небиотическом разрушении. Данные о первичном разложении могут использоваться лишь в том случае, если доказано, что продукты разложения не могут классифицироваться в качестве опасных для водной среды, т.е. в том случае, если они не отвечают критериям классификации.

A9.4.2.4.2 В соответствии с критерием С, содержащимся в пункте 4.1.2.11.3 с) главы 4.1, вещество должно разлагаться в водной среде до уровня $\geq 70\%$ в течение 28 суток. Исходя из кинетики первого порядка, что допустимо для слабых концентраций вещества, наблюдаемых в большинстве водных сред, скорость разложения в 28-суточном временном интервале будет относительно постоянной. Таким образом, требования, касающиеся разложения, будут выполнены, если константа средней скорости разложения будет составлять $k > -(\ln 0,3 - \ln 1)/28 = 0,043 \text{ сут.}^{-1}$. Это соответствует периоду полураспада $t_{1/2} < \ln 2/0,043 = 16 \text{ сут.}$

A9.4.2.4.3 Кроме того, поскольку процессы разложения зависят от температуры, этот параметр также должен приниматься в расчет при оценке разложения в окружающей среде. Для этой оценки следует пользоваться данными исследований, проведенных при реалистичных с точки зрения окружающей среды температурах. Если необходимо сравнить данные исследований, проведенных при других температурах, можно использовать традиционный подход Q10, в соответствии с которым скорость разложения делится пополам при уменьшении температуры на 10°C.

A9.4.2.4.4 Чтобы определить, отвечают ли данные этому критерию, требуется экспертная оценка каждого отдельного случая. Тем не менее ниже приводятся полезные для интерпретации различных видов данных рекомендации, которые можно использовать для подтверждения быстрого разложения в водной среде. Как правило, непосредственно применимыми считаются лишь данные испытаний биоразложения в водной среде, проведенные методом моделирования. Однако нужно также учитывать данные испытаний, проведенных методом моделирования, в отношении других зон окружающей среды, хотя следует отметить, что, как правило, эти данные требуют, прежде чем их использовать, более научной оценки.

A9.4.2.4.5 Испытания методом моделирования водной среды

Испытания методом моделирования водной среды являются лабораторными испытаниями, в ходе которых моделируются условия окружающей среды и используются культурные среды, взращенные из природных образцов. Результаты испытаний методом моделирования водной среды могут использоваться непосредственно для целей классификации, когда эти испытания моделируют реалистичные условия окружающей среды в поверхностных водах, а именно:

- a) концентрацию вещества, которая реалистична для общей окружающей среды (часто при низком значении мкг/л);
- b) инокулят, взятый из соответствующей водной среды;
- c) реалистичную концентрацию культурной среды ($10^3 - 10^6$ клеток/мл);
- d) реалистичную температуру (например, $5^\circ\text{C} - 25^\circ\text{C}$); и
- e) определение конечного разложения (т.е. определение скорости минерализации или отдельных скоростей разложения для процесса биоразложения в целом).

Вещества, которые в этих условиях разлагаются, по меньшей мере, на 70% в течение 28 суток, т.е. при периоде полураспада < 16 суток, считаются способными к быстрому разложению.

A9.4.2.4.6 Полевые наблюдения

Наряду с лабораторными испытаниями методами моделирования существуют полевые наблюдения или мезокосмические эксперименты. В рамках этих исследований могут изучаться будущее химической продукции и/или ее воздействие в окружающих средах или экологических нишах. Данные о будущем продукции, полученные в результате этого типа экспериментов, могут использоваться для оценки способности этого продукта к быстрому разложению. Однако такую оценку часто бывает трудно осуществить, так как она требует доказательства того, что произошло конечное разложение. Такое доказательство может быть документально подтверждено с помощью отчетов о равновесии материалов, в которых показано, что не образовано неразлагаемых промежуточных химических продуктов и в которых учтены фракции, удаленные из водной системы под действием других процессов, таких как сорбция отложениями или испарение с поверхности водной среды.

A9.4.2.4.7 Данные мониторинга

Данные мониторинга могут подтверждать удаление загрязняющих веществ из водной среды. Такие данные, однако, очень трудно использовать в целях классификации. Предварительно необходимо ответить на следующие вопросы:

- a) Является ли удаление результатом разложения или же других процессов, таких как разбавление или распределение между различными зонами (сорбция, испарение)?
- b) Исключается ли образование неразлагаемых промежуточных химических продуктов?

Эти данные могут рассматриваться на предмет использования в целях классификации лишь в том случае, если можно доказать, что удаление, как результат конечного разложения, отвечает критериям способности к быстрому разложению. Обычно данные мониторинга должны использоваться лишь в качестве дополнительного подтверждения устойчивости в водной среде или быстрого разложения.

A9.4.2.4.8 Испытания характерной способности к биоразложению

Вещества, которые разлагаются более чем на 70% в ходе испытаний природной способности к биоразложению (Руководящий принцип 302 ОЭСР), способны к конечному биоразложению. Однако, учитывая оптимальные условия этих испытаний, нельзя предполагать быстрой биоразлагаемости веществ, которым свойственно биоразложение в окружающей среде. Оптимальные условия испытаний природной способности к биоразложению стимулируют адаптацию микроорганизмов, тем самым повышая способность к биоразложению по сравнению с природными средами. Поэтому позитивные результаты, как правило, не следует интерпретировать как подтверждение способности к быстрому разложению в окружающей среде².

A9.4.2.4.9 Испытания методом моделирования станций очистки сточных вод

Результаты испытаний методом моделирования условий, существующих на станции очистки сточных вод (например, Руководящий принцип 303 ОЭСР), не могут использоваться для оценки разложения в водной среде. Основными причинами для этого является то, что микробная биомасса станций очистки сточных вод существенно отличается от биомассы в окружающей среде, состав субстратов во многом другой, а присутствие в сточных водах органических веществ, подверженных быстрой минерализации, облегчает разложение испытуемого вещества с помощью ко-метаболизма.

A9.4.2.4.10 Данные о разложении в почве и отложениях

Установлено, что для многих неабсорбирующих (нелипофильных) веществ отмечаются более или менее одинаковые скорости разложения в почве и поверхностных водах. Из-за частичной иммобилизации, вызванной сорбцией, липофильные вещества обычно разлагаются медленнее в почве, чем в воде. Таким образом, если в результате моделирования установлено, что данное вещество быстро разлагается в почве, то существует большая вероятность того, что оно будет быстро разлагаться и в водной среде. Поэтому предполагается, что быстрое разложение в почве, установленное экспериментальным путем, является достаточным документальным подтверждением быстрого разложения в поверхностных водах, однако при условии, что:

- a) почвенные микроорганизмы не подверглись никакому предварительному воздействию (предварительной адаптации);
- b) испытывается реалистичная с точки зрения окружающей среды концентрация вещества; и

² В связи с интерпретацией данных о разложении, отвечающим согласованным критериям ОЭСР для класса хронической опасности 4, постоянная рабочая группа ЕС рассматривает возможность использования некоторых типов данных, полученных в результате испытаний природной способности к биоразложению, в оценке каждого отдельного случая в качестве основы для неклассификации веществ, в других отношениях отвечающих этому критерию классификации.

Соответствующими испытаниями природной способности к биоразложению являются испытания Zahn Wellens (OECD TG 302 B) и испытания MITI II (OECD TG 302 C). В этом отношении установлены следующие условия использования:

- a) при данном методе не должны использоваться микроорганизмы, предварительно подверженные воздействию (предварительно адаптированные);
- b) в каждом испытании должно применяться ограниченное время адаптации, конечной стадией испытания должна быть лишь минерализация, а пороговый уровень и время, необходимое для его достижения, должны быть, соответственно, следующими:
 - i) пороговый уровень испытания MITI II > 60% за 14 суток;
 - ii) пороговый уровень испытания Zahn Wellens > 70% за 7 суток.

- с) вещество окончательно разлагается за 28 суток, т.е. период распада составляет < 16 суток, что соответствует скорости разложения $> 0,043 \text{ сут.}^{-1}$.

Эта же аргументация считается действительной для данных, касающихся распада веществ в отложениях в аэробной среде.

A9.4.2.4.11 Данные об анаэробном разложении

Данные, касающиеся анаэробного разложения, не могут использоваться для принятия решения о том, следует ли считать данное вещество быстроразлагающимся, так как водная среда считается обычно аэробной зоной, населенной водными организмами, в частности организмами, используемыми для классификации видов опасности для водной среды.

A9.4.2.4.12 Гидролиз

Данные, касающиеся гидролиза (например, Руководящий принцип испытаний 111 ОЭСР), могут приниматься в расчет в целях классификации лишь в том случае, если наиболее длительный период полураспада $t_{1/2}$, измеренный при рН в диапазоне 4–9, составляет менее 16 суток. Однако гидролиз не является конечным разложением и могут образовываться различные промежуточные продукты разложения, некоторые из которых могут разлагаться лишь медленно. Данные, полученные в результате исследования гидролиза, могут учитываться лишь в том случае, если удастся убедительно доказать, что образованные продукты гидролиза не отвечают критериям отнесения к веществам, опасным для водной среды.

Если вещество быстро гидролизуется (например, при $t_{1/2} <$ несколько суток), этот процесс является частью общего разложения, измеренного путем испытаний биоразложения. Гидролиз может представлять начальную стадию трансформации в процессе биоразложения.

A9.4.2.4.13 Фотохимический распад

Информацию о фотохимическом распаде (например, OECD, 1997) трудно использовать в целях классификации. Реальная степень фотохимического распада в водной среде зависит от местных условий (например, глубина воды, взвешенные твердые частицы, мутность), а опасность, представляемая продуктами разложения, обычно неизвестна. Вероятно, лишь в редких случаях можно будет располагать достаточной информацией для тщательной оценки, основанной на фотохимическом распаде.

A9.4.2.4.14 Определение степени разложения

A9.4.2.4.14.1 Был установлен ряд значений КЗСА для прогнозирования приблизительного периода полураспада при гидролизе, который следует принимать в расчет лишь в случае отсутствия экспериментальных данных. Однако данные о периоде полураспада при гидролитическом разложении можно использовать в целях классификации лишь с большой осторожностью, так как гидролиз не отражает конечной разлагаемости (см. "Гидролиз" в настоящем разделе). Кроме того, КЗСА, разработанные на сегодняшний день, имеют довольно ограниченное применение и позволяют прогнозировать способность к гидролизу лишь для немногих классов химических веществ. Например, программа для передачи данных о КЗСА, названная HYDROWIN (version 1.67, Syracuse Research Corporation), позволяет прогнозировать способность к гидролизу лишь для менее 20% зарегистрированных в Европейском союзе веществ, имеющих определенную (точную) структуру молекулы (Niemele, 2000).

A9.4.2.4.14.2 Вообще говоря, еще не существует достаточно точного метода количественного анализа (КЗСА), разработанного для оценки степени биоразложения органических веществ, чтобы можно было прогнозировать быстрое разложение. Однако результаты таких методов можно

использовать для предсказания отсутствия у данного вещества способности к быстрому разложению. Например, если в программе исчисления вероятности биоразложения Biodegradation Probability Program (BIOWIN, version 3.67, Syracuse Research Corporation) такая вероятность оценивается с помощью линейных или нелинейных методов как составляющая $< 0,5$, вещества должны считаться неспособными к быстрому разложению (OECD, 1994; Pedersen et al., 1995 & Landenberg et al., 1996). Могут также использоваться другие методы (КЗСА, а также экспертная оценка, например в случае, когда имеются данные о разложении соединений аналогичной структуры, но такую оценку следует проводить с большой осторожностью. В большинстве случаев прогнозирование, на основе КЗСА, отсутствия у вещества способности к быстрому разложению считается более достоверным методом, чем классификация по умолчанию, если не имеется полезных данных о разложении.

A9.4.2.4.15 Испарение

Химическая продукция может удаляться из некоторых водных сред в результате испарения. Природная способность к испарению определяется константой (H) вещества, установленной в законе Генри. Испарение из водной среды во многом зависит от условий окружающей среды в рассматриваемом водном объекте, коэффициентов газообмена (в зависимости от скорости ветра и расхода воды) и стратификации водного объекта. Поскольку испарение отражает лишь исчезновение химической продукции из водной фазы, константа Генри не может использоваться в качестве оценки разложения в целях классификации веществ в зависимости от их опасности для водной среды. В этом отношении могут, однако, более подробно рассматриваться, например, вещества, находящиеся в газообразном состоянии при температуре окружающей среды (см. также Pedersen et al., 1995).

A9.4.2.5 *Отсутствие данных о разложении*

Если не имеется полезных данных о разложении, полученных опытным путем или с помощью расчетов, вещество должно рассматриваться как неспособное к быстрому разложению.

A9.4.3 *Общие проблемы интерпретации*

A9.4.3.1 *Сложные вещества*

Согласованные критерии классификации химических продукции, опасной для водной среды, касаются, главным образом, индивидуальных веществ. Комплексные/сложные вещества являются типом многокомпонентных по своей природе веществ. Они обычно имеют природное происхождение, и должны иногда анализироваться. Речь в данном случае может идти о химической продукции, полученной из нефти или полученной из растительного сырья. С нормативной точки зрения такая сложная химическая продукция обычно рассматривается как индивидуальные вещества. В большинстве случаев они определяются как гомологический ряд, состоящий из веществ, имеющих определенный диапазон длины углеродной цепи и/или степени замещения. В подобном случае не предусматривается никакого большого различия в разлагаемости и степень разложения может быть установлена на основе испытаний сложной химической продукции. Исключение может представлять ситуация, когда выявлено минимальное разложение, так как в этом случае некоторые отдельные вещества могут быстро разлагаться, а другие нет. Такая ситуация требует более подробной оценки разлагаемости отдельных компонентов сложного вещества. Если неспособные к быстрому разложению компоненты составляют значительную долю сложного вещества (например, более 20% или, в случае опасного компонента, еще меньшее содержание), вещество должно считаться неспособным к быстрому разложению.

A9.4.3.2 *Наличие вещества*

A9.4.3.2.1 Разложение органических веществ в окружающей среде происходит, главным образом, в водных средах или в водных фазах почвы или отложений. Гидролиз, конечно, требует присутствия воды. Активность микроорганизмов зависит от присутствия воды. Кроме того,

биоразложение предполагает непосредственный контакт микроорганизмов с данным веществом. Растворение вещества в водной фазе, окружающей микроорганизмы, является поэтому самым непосредственным способом установления контакта между бактериями и грибами и субстратом.

A9.4.3.2.2 Существующие стандартные методы исследования разлагаемости химических веществ разработаны для легкорастворимых анализируемых соединений. Однако многие органические вещества слабо растворимы в воде. Так как для стандартных испытаний требуется 2-100 мг/л испытуемого вещества, то в случае веществ, имеющих низкую растворимость в воде, их может оказаться недостаточно. Для слабо растворимых соединений имеются иногда методы испытаний, предусматривающих постоянное перемешивание и/или продолжительное воздействие, или разработанные по специальному плану испытания, в которых испытуемое вещество используется в концентрациях ниже его растворимости в воде.

A9.4.3.3 *Испытание в течение менее 28 суток*

A9.4.3.3.1 Иногда признаются результаты разложения, полученные в ходе испытаний, завершающихся до истечения 28-суточного периода, предусмотренного стандартами (см. МПТ, 1992). Эти данные, конечно, непосредственно применимы в случае получения значения разложения, превышающего или равного пороговому уровню. При более низком уровне разложения результаты испытаний требуют осторожной интерпретации. В частности, существует возможность того, что продолжительность испытания была слишком недолгой и химическая структура разрушилась, вероятно, в ходе 28-суточного испытания биологической разлагаемости. Если существенное разложение происходит за короткий период, эту ситуацию можно сравнить с критерием БПК₅/ХПК $\geq 0,5$ или с условиями проведения испытаний на разложение в течение 10-суточного временного интервала. В этом случае вещество может рассматриваться как легко разлагаемое (и, следовательно, способное к быстрому разложению), если:

- a) конечная биологическая разлагаемость $> 50\%$ за 5 суток; или
- b) постоянная скорость конечного разложения за этот период $> 0,1 \text{ сут.}^{-1}$, что соответствует 7-суточному периоду полураспада.

A9.4.3.3.2 Эти критерии предлагаются для того, чтобы убедиться в том, что произошла быстрая минерализация, хотя испытание завершилось до истечения 28-суточного периода и до того, как был достигнут пороговый уровень. Следует весьма осторожно интерпретировать данные испытаний, которые не соответствуют предписанным пороговым уровням. Обязательно необходимо определить, вызвана ли биоразлагаемость ниже порогового уровня частичным разложением вещества, а не полной минерализацией. Если частичное разложение является вероятным объяснением наблюдаемой биоразлагаемости, то вещество должно рассматриваться как неспособное к быстрому разложению.

A9.4.3.4 *Первичное биоразложение*

В некоторых испытаниях определяется лишь исчезновение исходного соединения (т.е. первичное разложение), например путем отслеживания разложения с помощью химических анализов, специфических для испытуемого вещества или группы веществ, к которой оно относится. Данные о первичной биологической разлагаемости можно использовать для подтверждения быстрой разлагаемости только в том случае, если можно удовлетворительным образом доказать, что образованные продукты разложения не отвечают критериям классификации веществ как опасных для водной среды.

A9.4.3.5 *Противоречивые результаты отборочных испытаний*

A9.4.3.5.1 Если имеется несколько данных о разложении одного и того же вещества, то результаты могут быть противоречивыми. Как правило, противоречивые результаты, касающиеся вещества, испытанного несколько раз в рамках соответствующего испытания на биоразлагаемость, можно интерпретировать с помощью подхода, основанного на "весомости доказательства". Это означает, что если в ходе испытания легкой биоразлагаемости данного вещества были получены одновременно положительные результаты (т.е. разложение выше порогового уровня) и отрицательные результаты, то для определения легкой биоразлагаемости этого вещества следует использовать наиболее качественные и наиболее достоверные данные. Так, положительные результаты испытаний легкой биоразлагаемости можно рассматривать как действительные, независимо от отрицательных результатов, если у них высокое научное качество и если четко установлены условия проведения испытания, т.е. если соблюдены критерии руководящих принципов, включая использование культурной среды, которая не подвергалась предварительному воздействию (адаптации). Ни одно из различных предварительных испытаний не подходит к испытанию всех типов веществ, и, прежде чем принимать решение об использовании результатов, полученных по завершении процедуры испытаний, не подходящей для конкретного анализируемого вещества, эти результаты необходимо подвергнуть тщательной оценке.

A9.4.3.5.2 Так, существование противоречивых данных о биоразлагаемости, полученных в результате предварительных испытаний, может быть объяснено рядом факторов, таких, как:

- a) культурная среда;
- b) токсичность испытуемого вещества;
- c) условия проведения испытаний;
- d) растворимость испытуемого вещества; и
- e) испарение испытуемого вещества.

A9.4.3.5.3 Способность культурной среды разлагать испытуемое вещество зависит от присутствия и количества соответствующих агентов разложения. Если инокулят был получен из среды, которая была предварительно подвергнута воздействию испытуемого вещества, то он мог адаптироваться, что подтверждается потенциалом разложения, превышающим потенциал разложения культуры, полученной из неэкспонированной среды. По мере возможности инокулят следует отбирать из неэкспонированной среды, но это трудно или невозможно сделать в случае очень распространенных веществ, которые используются в больших количествах и высвобождаются в широком масштабе или же более или менее непрерывно. Если получены противоречивые результаты, то следует проверить происхождение инокулята, чтобы выяснить, вызвано ли это различиями в адаптации микробного сообщества.

A9.4.3.5.4 Как упоминалось выше, многие вещества могут быть токсичными или оказывать ингибирующее воздействие на культурную среду в случае их относительно высоких концентраций, используемых в испытаниях легкой биоразлагаемости. В частности, высокие концентрации (100 мг/л) предписываются в модифицированном испытании MITI (1) (Руководящий принцип 301C ОЭСР) и в испытании манометрической респирометрии (Руководящий принцип 301 F ОЭСР). Более слабые концентрации (2–10 мг/л) предписываются испытанием в закрытом флаконе (Руководящий принцип 301 D ОЭСР). Возможность токсичного воздействия можно оценить путем включения проверки токсичности в испытание легкой биоразлагаемости или путем сравнения испытуемой концентрации с результатами испытаний токсичности, проведенных на микроорганизмах, например испытание ингибирования дыхания (Руководящий принцип 209 ОЭСР), испытание на торможение нитрификации (ISO 9509) или, если не имеется других испытаний токсичности микробов, испытание подавления биолюминесценции (ISO 11348). Противоречивые результаты могут быть вызваны

токсичностью испытуемого вещества. Если оно не оказывает ингибирующего воздействия при реалистичных с точки зрения окружающей среды концентрациях, то наиболее сильное разложение, измеренное в ходе предварительных испытаний, может использоваться в качестве основы для классификации. Если в таких случаях имеются данные испытаний, проведенных методом моделирования, учет этих данных может иметь особенно важное значение, так как могла быть использована слабая и неингибирующая концентрация вещества, обеспечив тем самым более достоверное значение периода полураспада при биоразложении вещества в реалистичных с точки зрения окружающей среды условиях.

A9.4.3.5 Если растворимость испытуемого вещества ниже концентраций, использованных в испытании, то этот параметр может явиться ограничивающим фактом для измеренного реального разложения. В подобном случае преимущественную силу должны иметь результаты испытаний, в которых использовались самые низкие концентрации испытуемого вещества, т.е. во многих случаях результаты испытания в закрытом флаконе (Руководящий принцип 301 D ОЭСР). Как правило, испытание исчезновения ХПК (Руководящий принцип 301 A ОЭСР) и модифицированное предварительное испытание ОЭСР (Руководящий принцип 301 E ОЭСР) не подходят для испытания биоразлагаемости слаборастворимых веществ (например, Руководящий принцип 301 ОЭСР).

A9.4.3.5.6 Летучие вещества должны испытываться только в закрытых системах, какие существуют в испытаниях в закрытом флаконе (Руководящий принцип 301 D ОЭСР), испытании МПТ I (Руководящий принцип 301 C ОЭСР) и испытании на манометрическую респирометрию (Руководящий принцип 301 F ОЭСР). Следует осторожно подходить к оценке результатов других испытаний и учитывать их лишь в том случае, если можно доказать, например путем расчета равновесия материалов, что удаление испытуемого вещества не является результатом испарения.

A9.4.3.6 *Разброс экспериментальных данных моделирования*

Для некоторой химической продукции, имеющей высокий приоритет, имеется ряд экспериментальных данных, полученных путем моделирования. Часто такие данные представляют серию периодов полураспада в экологических средах, таких, как почва, отложения и/или поверхностные воды. Наблюдаемые различия между периодами полураспада, полученными в результате испытаний, проведенных методом моделирования на одном и том же веществе, могут отражать различия между условиями проведения испытаний, все из которых могут быть уместны с экологической точки зрения. Для классификации следует выбирать соответствующий период полураспада, расположенный в крайней верхней части амплитуды значений, полученных в результате этих исследований, причем следует применять подход, основанный на весомерности доказательства, и учитывать реалистичность и уместность использованных испытаний с точки зрения условий окружающей среды. Как правило, данные, полученные в результате испытаний методом моделирования поверхностных вод, следует предпочитать данным, полученным в результате испытаний методом моделирования водных отложений или почв, когда речь идет об оценке быстрой разлагаемости в водной среде.

A9.4.4 *Схема принятия решений*

Для облегчения принятия решения относительно быстрой разлагаемости в водной среде и классификации химической продукции, опасной для этой среды, может использоваться следующая схема принятия решений.

Вещество считается способным к быстрому разложению, если выполнено, по крайней мере, одно из следующих условий:

- a) в результате 28-суточного испытания легкой биоразлагаемости было доказано, что вещество способно к легкому биоразложению. Пороговый уровень испытания (удаление 70% ХПК или потребление 60% теоретической

потребности в кислороде) должен быть достигнут в течение 10 суток после начала биоразложения, если имеющиеся данные испытания позволяют оценить этот результат. Если это условие не выполнено, то пороговый уровень должен быть оценен, если возможно, в течение 14-суточного интервала времени или после завершения испытания; или

- b) доказано, что вещество способно к конечному разложению, в результате испытания в поверхностных водах, проведенного методом моделирования³, при периоде полураспада < 16 суток (что соответствует разложению > 70% в течение 28 суток); или
- c) доказано, что вещество способно к первичному разложению (биологическому или небιологическому) в водной среде при периоде полураспада меньше 16 суток (что соответствует разложению > 70% в течение 28 суток) и что продукты разложения не отвечают критериям классификации в качестве опасных для водной среды веществ.

Если этих данных не имеется, то быстрое разложение может быть доказано при выполнении одного из следующих критериев:

- d) доказано, что вещество способно к конечному разложению в результате испытания в водных отложениях или почве, проведенного методом моделирования³, при периоде полураспада < 16 суток (что соответствует разложению > 70% в течение 28 суток); или
- e) если имеются только данные о БПК₅ и ХПК, отношение БПК₅/ХПК $\geq 0,5$. Этот же критерий применяется к испытаниям легкой биоразлагаемости за менее чем 28 суток, если период полураспада, кроме того, составляет менее 7 суток.

Если никаких данных не имеется, то вещество считается неспособным к быстрому разложению. Это решение может быть подтверждено в случае выполнения, по крайней мере, одного из следующих критериев:

- i) в результате испытания на природную биоразлагаемость установлено, что вещество по своей природе не способно к биоразложению; или
- ii) медленная биоразлагаемость вещества предсказана научно достоверными КЗСА, например в программе Biodegradation Probability Program, результат быстрого разложения (линейная или нелинейная модель) составляет менее 0,5; или
- iii) вещество считается неспособным к быстрому разложению на основе косвенных доказательств, таких, например, как знание веществ, схожих в структурном отношении; или
- iv) не имеется никаких других данных, касающихся разлагаемости.

³ Испытания, проводимые методом моделирования, должны отражать реалистичные с точки зрения окружающей среды условия, такие как слабая концентрация химической продукции, реалистичная температура и использование окружающей микробной биомассы, которая не была подвергнута предварительному воздействию химической продукции.

A9.5 Биоаккумуляция

A9.5.1 Введение

A9.5.1.1 Биоаккумуляция является одним из важных, присущих веществам, свойств, которое определяет их потенциальную опасность для окружающей среды. Биологическое накопление вещества в организме само по себе опасностью не является, но результатом биоконцентрации и биоаккумуляции станет наличие в организме вредных веществ, которые могут вызвать токсикологический эффект. В согласованной системе классификации видов опасности химических веществ для здоровья человека и окружающей среды (OECD, 1998) дается термин "способность к биоаккумуляции". Однако следует проводить различие между биоконцентрацией и биоаккумуляцией. Биоконцентрация определяется как чистый итог поглощения, трансформации и выделения данного вещества организмом в результате воздействия, оказанного через воду, тогда как биоаккумуляция охватывает все пути воздействия (воздух, вода, отложения/почва и пища). Наконец, биомагнификация определяется как накопление и передача веществ по пищевой цепи, которые влекут за собой повышение внутренних концентраций в организмах, находящихся на более высоких уровнях трофической цепи (European Commission, 1996). Полагают, что для большинства органической химической продукции поглощение через воду (биоконцентрация) является наиболее распространенным путем абсорбции. Поглощение с пищей начинает играть значительную роль лишь в случае очень гидрофобных веществ. Кроме того, в согласованных критериях классификации используется фактор биоконцентрации (или коэффициент распределения октанол/вода) как мера измерения способности к биоаккумуляции. По этим причинам в настоящем руководстве рассматривается только биоконцентрация и не обсуждается поглощение с пищей или через другие пути воздействия.

A9.5.1.2 Классификация вещества основана, главным образом, на его внутренних свойствах. Однако степень биоконцентрации зависит также от таких факторов, как степень биоаккумуляции, физиология подопытного организма, поддержание постоянной концентрации воздействия, продолжительность воздействия, метаболизм внутри организма и экскреция. Интерпретация способности к биоконцентрации в целях классификации требует поэтому оценки внутренних свойств вещества, а также условий проведения испытания, при которых был получен данный фактор биоконцентрации (КБК). На основе этого руководства была разработана схема принятия решений, помогающая классифицировать данные на основе биоконцентрации или $\log K_{ow}$. В настоящей главе рассматриваются в первую очередь органические вещества и металлоорганические соединения. Биоаккумуляция металлов рассматривается также в главе A9.7.

A9.5.1.3 Данные о биоконцентрирующих свойствах вещества можно получить с помощью стандартных испытаний или определить на основе строения молекулы. Интерпретация таких данных о биоконцентрации в целях классификации часто требует подробной оценки результатов испытаний. Для облегчения такой оценки в настоящий документ были включены два дополнительных дополнения. В этих дополнениях описываются имеющиеся методы (дополнение III к приложению 8) и факторы, влияющие на способность к биоконцентрации (дополнение IV к приложению 8). Наконец, в двух других дополнениях (дополнения V и VI к приложению 8) содержатся, соответственно, список стандартных экспериментальных методов определения биоконцентрации и K_{ow} и ссылки.

A9.5.2 Интерпретация данных о биоконцентрации

A9.5.2.1 Классификация вещества с точки зрения опасности для окружающей среды основывается обычно на существующих данных, касающихся особенностей его поведения в окружающей среде. Данные испытаний редко получают лишь с целью облегчения классификации. Часто имеется широкий ряд экспериментальных данных, которые необязательно совпадают с критериями классификации. Поэтому требуются методические указания по интерпретации существующих экспериментальных данных в связи с классификацией опасности.

A9.5.2.2 Биоконцентрацию органического вещества можно определить опытным путем с помощью испытаний биоконцентрации, в ходе которых КБК измеряется как отношение концентрации вещества в организме к его равновесной концентрации в воде; биоконцентрация может также быть определена на основе кинетической константы поглощения (k_1) и кинетической константы выведения (k_2) (OECD 305, 1996). Как правило, способность органического вещества к биоконцентрации связана, главным образом, с его липофильностью. Мерой измерения липофильности является коэффициент распределения октанол/вода (K_{ow}), который в случае липофильных неионогенных органических веществ, подвергающихся минимальному метаболизму или биотрансформации в организме, находится в соотношении с фактором биоконцентрации. Поэтому K_{ow} часто используется для определения биоконцентрации органических веществ на основе эмпирического соотношения между \log КБК и $\log K_{ow}$. Для большинства органических веществ имеются методы оценки, позволяющие рассчитать K_{ow} . Данные о биоконцентрирующих свойствах вещества могут поэтому быть i) определены опытным путем; ii) рассчитаны на основе значений K_{ow} , определенных опытным путем; или iii) рассчитаны на основе значений K_{ow} , полученных путем применения количественных зависимостей "структура–активность" (КЗСА). Ниже даны методические указания по интерпретации этих данных, а также по оценке классов химических веществ, требующих особого внимания.

A9.5.2.3 Коэффициент биоконцентрации (КБК)

A9.5.2.3.1 Коэффициент биоконцентрации определяется как весовое соотношение между концентрацией химической продукции в биоте и ее концентраций в окружающей среде, в данном случае воде, в стационарном состоянии. Таким образом, КБК может быть определен опытным путем в условиях, соответствующих равновесному состоянию, на основе измеренных концентраций. Однако он может быть также рассчитан как соотношение между константами скорости поглощения и выведения первого порядка, причем этот метод не требует наличия стационарного состояния.

A9.5.2.3.2 Были документально подтверждены и одобрены различные руководящие принципы испытаний, направленные на определение опытным путем биоконцентрации у рыбы, причем наиболее распространенным из них является руководящий принцип испытаний ОЭСР (OECD 305, 1996).

A9.5.2.3.3 В целях классификации предпочтение в конечном счете всегда отдается полученным опытным путем высококачественным значениям КБК, так как эти данные имеют приоритет над косвенными данными, такими как, например, K_{ow} .

A9.5.2.3.4 Высококачественные данные определяются как данные, в отношении которых соблюдены и описаны критерии надежности примененного метода испытаний, например, поддержание постоянной концентрации воздействия, изменения содержания кислорода и температуры, подтверждение того, что было достигнуто стационарное состояние и т. д. Опыт будет считаться высококачественным исследованием, если будет предоставлено его надлежащее описание (например, в соответствии с правильными лабораторными методами), которое позволит проверить, были ли соблюдены критерии надежности. Кроме того, должен быть использован соответствующий аналитический метод для дозирования испытуемой химической продукции и ее токсичных метаболитов в воде и в тканях рыбы (подробнее см. раздел 1, дополнение III).

A9.5.2.3.5 Низкое или сомнительное качество значений КБК может привести к ошибочному или слишком низкому значению этого фактора; это происходит, например, в том случае, если были использованы измеренные концентрации испытуемого вещества в рыбе и в воде, но эти измерения были сделаны после слишком короткого периода воздействия, в течение которого не было достигнуто стационарное состояние (см. OECD 306, 1996, в отношении оценки времени, необходимого для достижения равновесия). Поэтому, прежде чем использовать эти данные, их необходимо тщательно оценивать, и следует рассмотреть возможность использования вместо них значения K_{ow} .

A9.5.2.3.6 Если не имеется данных о значении КБК для рыбы, могут использоваться высококачественные данные о значении КБК для других видов водных организмов (например, КБК, определенный для голубых мидий, устриц, гребешков (ASTM E 1022-94)). Значения КБК, сообщенные для микроводорослей, следует использовать осторожно.

A9.5.2.3.7 В случае сильно липофильных веществ, например со значением $\log K_{ow}$ выше 6, значения КБК, определенные опытным путем, имеют тенденцию к уменьшению при увеличении $\log K_{ow}$. Теоретически эта нелинейность объясняется, главным образом, снижением кинетики проникновения через мембраны или уменьшением жирорастворимости крупных молекул. В таком случае произойдет лишь незначительное биоаккумулятивное и поглощение этих веществ организмом. Могут оказать свое влияние и другие факторы, в частности экспериментальные артефакты, такие как недостигнутое равновесие, снижение биоаккумулятивного в результате сорбции органических веществ в водной фазе и аналитические ошибки. Поэтому следует особенно осторожно оценивать экспериментальные данные о КБК сильно липофильных веществ, так как эти данные будут отличаться гораздо более высоким уровнем неточности по сравнению со значениями КБК, определенными для менее липофильных веществ.

A9.5.2.3.8 КБК в различных подопытных видах организмов

A9.5.2.3.8.1 Значения КБК, используемые для классификации, основаны на измерениях, касающихся всего организма. Как указывалось выше, оптимальными данными для классификации являются значения КБК, полученные с помощью метода испытания 305 ОЭСР или равноценных международных методов, в которых используется мелкая рыба. Поскольку соотношение между площадью жабр и весом у мелких организмов выше по сравнению с крупными организмами, то у них будет быстрее достигнуто стационарное состояние. Размер организмов (рыбы), используемых в исследованиях биоконцентрации, имеет поэтому существенное значение с точки зрения продолжительности фазы поглощения, тогда как значение КБК основано исключительно на концентрациях в рыбе и в воде, измеренных в стационарном состоянии. Поэтому, если в исследованиях биоконцентрации была использована крупная рыба, например взрослые лососи, необходимо определить, был ли период поглощения достаточно продолжительным, чтобы было достигнуто стационарное состояние или чтобы могла быть точно установлена константа скорости поглощения.

A9.5.2.3.8.2 Кроме того, когда в целях классификации используются существующие данные, может оказаться, что значения КБК были получены путем использования нескольких различных видов рыбы или других видов водных организмов (например, венерок) и в отношении различных органов рыб. Сопоставление этих данных между собой и их сравнение с критериями классификации потребуют, следовательно, некоторых общих баз данных или стандартизации. Было отмечено, что существует тесная связь между содержанием жиров в рыбе или в водном организме и наблюдаемым значением КБК. Поэтому, когда сопоставляют значения КБК для различных видов рыбы или когда переводят значения КБК для отдельных органов в значения, относящиеся ко всему организму, то, как правило, значения КБК выражают с учетом сопоставимого содержания жиров. Если, например, в научной литературе находят значения КБК, касающиеся всего организма или его отдельных органов, то на первом этапе КБК рассчитывается по отношению к процентному содержанию жиров путем использования относительного содержания жиров в рыбе (значения жирности, типичные для подопытного вида организма, можно найти в научной литературе или в руководящем принципе испытаний) или ее органе. На втором этапе КБК рассчитывается в отношении всего типичного водного организма (мелкой рыбы) на основе теоретического среднего содержания жиров. Чаще всего по умолчанию присваивается значение, равное 5% (Pedersen et al., 1995), так как оно является эквивалентом среднего содержания жиров в мелкой рыбе, используемой в Руководящем принципе 305 ОЭСР (1996).

A9.5.2.3.8.3 Как правило, используется наиболее высокое допустимое значение КБК, выраженное по отношению к этой общей жировой базе, чтобы определить значение КБК по отношению к живому

весу для его сравнения с предельным значением, равным 500, в согласованных критериях классификации (см. таблицу 4.1.1 в главе 4.1).

A9.5.2.3.9 Использование меченых веществ

A9.5.2.3.9.1 Использование радиоактивных меченых веществ может облегчить анализ проб воды и рыбы. Однако измерение общей радиоактивности, если только оно не будет проводиться каким-нибудь специальным методом анализа, может отражать присутствие исходного вещества, а также одного или нескольких его возможных метаболитов и возможного метаболитированного углерода, который был инкорпорирован в органические молекулы тканей рыбы. Поэтому значения КБК, определенные с помощью меченых анализируемых веществ, обычно завышаются.

A9.5.2.3.9.2 Когда используются меченые вещества, радиоактивная метка наиболее часто вводится в устойчивую часть молекулы, и поэтому определенное таким образом значение КБК включает КБК метаболитов. У некоторых веществ именно метаболит проявляет наиболее высокую токсичность и наибольшую способность к биоконцентрации. Измерения, касающиеся исходного вещества, а также его метаболитов, могут поэтому иметь важное значение для интерпретации данных об опасности таких веществ для окружающей среды (включая способность к биоконцентрации).

A9.5.2.3.9.3 В опытах, где используются меченые вещества, наибольшую концентрацию радиоактивной метки часто обнаруживают в желчном пузыре рыб. Причина этого явления приписывается процессу биотрансформации в печени и последующего выделения метаболитов в желчный пузырь (Comotto et al., 1979; Wakabayashi et al., 1987; Goodrich et al., 1991; Toshima et al., 1992). Когда рыбы не питаются, содержимое их желчного пузыря не переходит в кишечник и в желчном пузыре могут накапливаться высокие концентрации метаболитов. Таким образом, пищевой режим может оказывать ярко выраженное воздействие на измеренный КБК. В научной литературе можно найти данные многочисленных исследований, авторы которых использовали меченые соединения и не давали рыбам корма. В результате в желчном пузыре были обнаружены высокие концентрации радиоактивного материала. В большинстве случаев биоконцентрация в этих исследованиях завышена. Таким образом, при оценке результатов испытаний, в ходе которых использовались меченые соединения, весьма важно определять также пищевой режим.

A9.5.2.3.9.4 Если КБК в пересчете на меченые остатки превышает или равен 1 000, то в Руководящем принципе 305 ОЭСР (1996) настоятельно рекомендуется идентифицировать и количественно определять, например в случае пестицидов, продукты разложения в тканях рыбы, если они представляют не менее 10% от общего количества остатков в стационарном состоянии. Если данных об идентификации и количественном определении метаболитов не имеется, оценка биоконцентрации должна основываться на значении КБК, измеренном для меченых соединений. Если в случае веществ, имеющих сильную тенденцию к биоаккумуляции ($K_{ow} \geq 500$), имеются лишь значения КБК, полученные для исходного соединения и меченых соединений, то для классификации этих веществ следует использовать данные по КБК меченых соединений.

A9.5.2.4 Коэффициент распределения октанол/вода (K_{ow})

A9.5.2.4.1 В случае органических веществ предпочтение следует отдавать использованию высококачественных значений K_{ow} , полученных опытным путем, или значений, определенных в результате исследований и назначенных в качестве рекомендуемых. В случае отсутствия экспериментальных данных высокого качества можно использовать в процессе классификации утвержденные данные типа качественной зависимости "структура-активность" (КЗСА) для определения $\log K_{ow}$. Такие подтвержденные значения КЗСА могут использоваться без изменения согласованных критериев, если они касаются только химической продукции, для которой четко установлена их применимость. В случае таких веществ, как сильные кислоты и основания, вещества, реагирующие с растворителем, или поверхностно-активные вещества, лучше иметь значения K_{ow} , рассчитанные на основе КЗСА или на основе индивидуальных показателей растворимости в октанолу

и воде, чем значение, основанное на K_{ow} , определенном аналитическим путем (ЕЕС А.8., 1992; OECD 117, 1989). В случае ионизирующихся веществ измерения должны осуществляться, когда они имеют не ионизированную форму (свободная кислота или свободное основание), причем использоваться должен только подходящий для этого буферный раствор, pH которого ниже pK в случае свободной кислоты или выше pK в случае свободного основания.

A9.5.2.4.2 Экспериментальное определение K_{ow}

Для экспериментального определения значений K_{ow} описан ряд стандартных методов, например метод встряхивания во флаконе и высокоэффективная жидкофазная хроматография (ВЭЖХ), в стандартных руководящих принципах, в частности в Руководящем принципе 107 ОЭСР (1995), Руководящем принципе 117 ОЭСР (1989), документах ЕЕС А.8 (1992), ЕРА-OTS (1982), ЕРА-FIFRA (1982), ASTM (1993) и в pH-метрическом методе (находящийся в стадии разработки руководящий принцип ОЭСР). Метод встряхивания во флаконе рекомендуется, когда значение $\log K_{ow}$ находится в диапазоне от -2 до 4. Он применяется только к практически чистым растворимым в воде веществам и октанолу. Для в высокой степени липофильных веществ, которые медленно растворяются в воде, более достоверными являются обычно данные, полученные с помощью метода медленного перемешивания. Кроме того, экспериментальные трудности, связанные с образованием микрокапелек во время встряхивания во флаконе, можно в некоторой степени преодолеть с помощью метода медленного перемешивания, при котором вода, октанолы и испытываемая смесь приводятся в равновесие в реакционном аппарате, в котором они медленно перемешиваются. Метод медленного перемешивания (находящийся в стадии разработки руководящий принцип ОЭСР) делает возможным точное и четкое определение K_{ow} смесей, у которых значение $\log K_{ow}$ доходит до 8,2 (проект руководящего принципа ОЭСР, 1998). Как и метод встряхивания во флаконе, метод медленного перемешивания применяется к практически чистым веществам, растворимым в воде и в октанол⁻¹. Метод ВЭЖХ, который проводится на аналитических колонках, рекомендуется, когда значение $\log K_{ow}$ находится в диапазоне 0–6. Метод ВЭЖХ менее чувствителен к примесям в испытываемом соединении по сравнению с методом встряхивания флакона. Еще одним методом изменения $\log K_{ow}$ является метод генерирующей колонки (USEPA 1985).

Поскольку K_{ow} не всегда удается определить опытным путем, например в случае хорошо растворимых в воде веществ, очень липофильных веществ и сурфактантов, можно использовать значение K_{ow} , определенное на основе КЗСА.

A9.5.2.4.3 Использование КЗСА для определения $\log K_{ow}$

Если найдено расчетное значение K_{ow} , то следует учитывать метод расчета. Для расчета K_{ow} разработаны и продолжают разрабатываться многочисленные КЗСА. Когда не имеется экспериментальных данных, для оценки риска часто используются четыре имеющиеся в продаже программы для ПЭВМ (CLOGP, LOGKOW (KOWWIN), AUTOLOGP, SPARC). CLOGP, LOGKOW и AUTOLOGP основаны на суммировании вкладов функциональных групп, тогда как SPARC основана на более фундаментальном алгоритме для моделирования строения химических соединений. Обычно только SPARC может использоваться для неорганических или металлоорганических соединений. Специальные методы необходимы для расчета $\log K_{ow}$ в случае поверхностно активных соединений, хелатирующих агентов и смесей. CLOGP рекомендуется в проекте утверждения методов оценки КЗСА, который был подготовлен совместно с Управлением по охране окружающей среды США и Европейским союзом (US EPA/EC 1993). В публикации Pedersen et al. (1995) рекомендуется в целях классификации программы CLOGP и LOGKOW в силу их надежности, наличия в продаже и легкости использования. В таблице A9.5.1 указаны методы оценки, рекомендуемые для классификации.

Таблица А9.5.1: КЗСА, рекомендуемая для расчета K_{ow}

Модель	Диапазон $\log K_{ow}$	Касается веществ
CLOGP	$0 < \log K_{ow} < 9^a$	Программа позволяет рассчитать $\log K_{ow}$ для органических соединений, содержащих атомы С, Н, N, О, галогена, Р, и/или S.
LOGKOW (KOWWIN)	$-4 < \log K_{ow} < 8^b$	Программа позволяет рассчитать $\log K_{ow}$ для органических соединений, содержащих атомы С, Н, N, О, галогена, Si, Р, Se, Li, Na, К и/или Hg. Она может также давать прогнозы по некоторым сурфактантам, таким как этоксилаты спиртов, красящие вещества и диссоциированные вещества.
AUTOLOGP	$\log K_{ow} > 5$	Программа позволяет рассчитать $\log K_{ow}$ для органических соединений, содержащих атомы С, Н, N, О, галогена, Р и S. В настоящее время разрабатываются усовершенствования с целью расширения области применения программы AUTOLOGP.
SPARC	Дает более надежные результаты по сравнению с программами KOWWIN и CLOGP для соединений, имеющих $\log K_{ow} > 5$	SPARC является скорее механической моделью, основанной на термодинамических принципах, чем детерминистической моделью, основанной на знаниях, полученных благодаря результатам наблюдений. Поэтому SPARC отличается от моделей, в которых используются КЗСА (например, KOWWIN, CLOGP, AUTOLOGP), тем, что для тестового ряда химической продукции не требуется никаких измеренных данных по $\log K_{ow}$. В общем только SPARC может использоваться для неорганических и металлоорганических соединений.

^a Проверка правильности данных, проведенная Ниелела, который сравнил значения $\log K_{ow}$, определенные опытным путем, с расчетными значениями, показала, что данная программа точно предсказывает $\log K_{ow}$ для большого числа видов органической химической продукции в диапазоне от менее 0 до более 9 ($n = 501$, $r^2 = 0.967$) (ТемаNord 1995: 581).

^b С учетом диаграммы разброса, в которой представлены расчеты и экспериментальные значения $\log K_{ow}$ (Syracuse Research Corporation, 1999), касающиеся 13 058 соединений, считается, что программа LOGKOW дает достоверные результаты для соединений, у которых значение $\log K_{ow}$ находится в диапазоне от -4 до 8.

А9.5.3 Классы химических веществ, требующие особого внимания с точки зрения значений КБК и K_{ow}

А9.5.3.1 Имеется ряд физико-химических свойств, которые могут затруднить определение КБК или его измерение. Существуют вещества, которые не концентрируются в биологических средах в соответствии с их другими физико-химическими свойствами. Например, пространственное затруднение или поверхностная активность, которая не позволяет использовать дескрипторы, делают нецелесообразными измерения и использование значений $\log K_{ow}$.

А9.5.3.2 Трудные вещества

А9.5.3.2.1 Некоторые вещества трудно испытывать в водных системах, и для облегчения испытаний этих материалов были подготовлены методические указания (DoE, 1996; ЕСЕТОС 1996; и US EPA 1996). ОЭСР завершает разработку руководства по испытаниям трудных веществ в водной среде (OECD, 2000). Этот документ является хорошим источником информации, который может

оказаться также полезным для исследований биоконцентрации, о типах трудных для испытания веществ и об этапах, необходимых для получения достоверных результатов при испытаниях этих веществ. Трудные для испытания вещества могут быть слаборастворимыми, летучими веществами или веществами, подвергающимися быстрому разложению в результате таких процессов, как фотопревращение, гидролиз, окисление или биологическое разложение.

A9.5.3.2.2 Чтобы вызвать свою биоконцентрацию в качестве органического соединения, вещество должно растворяться в жирах, присутствовать в воде и быть готовым к прохождению через жабры рыб. Свойства, которые изменяют эту готовность, изменяют, следовательно, истинную биоконцентрацию вещества по сравнению с прогнозами. Например, вещества, способные к быстрому биоразложению, могут присутствовать в водной среде только в течение короткого интервала времени. Так же летучесть и гидролиз уменьшают концентрацию и время, в течение которого вещество готово к биоконцентрации. Абсорбция твердыми примесями или через любую другую поверхность является еще одним важным параметром, способным уменьшить истинную концентрацию воздействия вещества. Имеется ряд веществ, в отношении которых было доказано, что они способны быстро трансформироваться в организме, где таким образом к более низкому, по сравнению с ожидаемым, значению КБК. Вещества, которые образуют мицеллы или агрегаты, могут концентрироваться в биологических средах в меньшей степени по сравнению с прогнозами, сделанными на основе простых физико-химических свойств. Так же обстоит дело и с гидрофобными веществами, содержащимися в мицеллах, образованных вследствие использования диспергаторов. Поэтому использовать диспергаторы в испытаниях на биоаккумуляцию не рекомендуется.

A9.5.3.2.3 В целом определение способности трудных для испытания веществ к биоконцентрации предполагает в качестве предварительного условия измерение значений КБК и K_{ow} с учетом исходного вещества. Кроме того, надлежащее определение испытуемой концентрации является предварительным условием для подтверждения правильности данного значения КБК.

A9.5.3.3 *Слаборастворимые вещества и сложные вещества*

Особое внимание следует уделять слабо растворимым веществам. Часто растворимость этих веществ бывает ниже предела обнаружения, что создает проблемы при интерпретации данных о способности к биоконцентрации. Для таких веществ способность к биоконцентрации должна основываться на значениях $\log K_{ow}$, определенных опытным путем или рассчитанных с учетом КЗСА.

Когда многокомпонентное вещество не может полностью растворяться в воде, важно установить компоненты смеси, насколько это практически осуществимо, и определить способность этого вещества к биоаккумуляции, используя имеющуюся информацию об этих компонентах. Если биоаккумулируемые компоненты составляют значительную часть сложного вещества (например, более 20% или даже меньшее содержание в случае опасных компонентов), это сложное вещество должно считаться биоаккумулируемым.

A9.5.3.4 *Высокомолекулярные вещества*

Начиная с некоторых размеров молекул, способность данного вещества к биоконцентрации уменьшается. Это явление вызвано, возможно, пространственным затруднением при прохождении вещества через жаберные перепонки. Было предложено применять к молекулярному весу пороговое значение, равное 700 (например, European Commission, 1996). Однако это предельное значение подверглось критике, так как оно исключало некоторые вещества, способные оказывать косвенное воздействие на водную среду (CSTEE, 1999), и вместо него было предложено использовать пороговое значение, равное 1 000. В целом следует учитывать биоконцентрацию возможных метаболитов или продуктов разложения крупных молекул в окружающей среде. Данные о биоконцентрации молекул с большим молекулярным весом следует поэтому тщательно оценивать и использовать лишь в том случае, если такие данные считаются абсолютно достоверными в отношении как исходного соединения, так и его возможных метаболитов или продуктов разложения в окружающей среде.

A9.5.3.5 *Поверхностно-активные агенты*

A9.5.3.5.1 Сурфактанты состоят из липофильной части (чаще всего – алкильная цепь) и гидрофильной части (полярная головная группа). В зависимости от заряда головной группы сурфактанты подразделяются на анионоактивные, катионоактивные, неионогенные или амфотерные. В силу разнообразия полярных головных групп поверхностно-активные вещества представляют собой класс различных в структурном отношении соединений, которые определяются скорее их поверхностной активностью, чем их химическим строением. Способность сурфактантов к биоаккумуляции необходимо поэтому рассматривать применительно к различным подклассам (анионоактивные, катионоактивные, неионогенные, амфотерные), а не ко всей группе в целом. Поверхностно-активные вещества могут образовывать эмульсии, биоаккумуляцию которых установить трудно. Образование мицелл может повлечь за собой изменение фракции, поддающейся биологическому усвоению, даже если явно присутствует раствор, что создает проблемы для интерпретации данных, касающихся способности к биологическому накоплению.

A9.5.3.5.2 Коэффициенты биоконцентрации, полученные опытным путем

Значения КБК, измеренные на сурфактантах, показывают, что КБК может возрастать при увеличении длины алкильной цепи и зависит от места крепления полярной головной группы и других особенностей строения.

A9.5.3.5.3 Коэффициент распределения октанол/вода (K_{ow})

В случае поверхностно-активных веществ коэффициент распределения октанол/вода не может быть определен с помощью метода встряхивания флакона или медленного перемешивания из-за образования эмульсий. Кроме того, молекулы сурфактантов будут присутствовать в водной фазе почти исключительно в форме ионов, тогда как, чтобы раствориться в октанол, они должны будут соединиться с противоионом. Поэтому значение K_{ow} , полученное опытным путем, не характеризует распределения ионогенных сурфактантов (Tolls, 1998). С другой стороны, было доказано, что биоконцентрация анионоактивных и неионогенных поверхностно-активных веществ возрастает с повышением липофильности (Tolls, 1998). Толлс (Tolls (1998)) показал, что для некоторых поверхностно-активных веществ значение $\log K_{ow}$, рассчитанное с помощью программы LOGKOW, может быть показателем способности к биоаккумуляции; однако для других сурфактантов требуется "коррекция" значения $\log K_{ow}$, рассчитанного по методу Робертса (Roberts (1989)). Эти результаты показывают, что качество отношений между рассчитанными значениями $\log K_{ow}$ и биоконцентрацией зависит от класса и конкретного вида соответствующих сурфактантов. Поэтому следует осторожно проводить классификацию способности к биоконцентрации на основе значений $\log K_{ow}$.

A9.5.4 *Противоречивые данные и отсутствие данных*

A9.5.4.1 *Противоречивые данные, касающиеся КБК*

В случае, если имеются многочисленные данные, касающиеся КБК, результаты могут оказаться противоречивыми. Как правило, противоречивые результаты, относящиеся к веществу, которое несколько раз подвергалось соответствующему испытанию на биоконцентрацию, нужно интерпретировать исходя из весомости доказательства. Это означает, что если для данного вещества были получены экспериментальные значения КБК одновременно \geq и $<$ 500, то для определения способности этого вещества к биоконцентрации необходимо будет использовать наиболее качественные и обоснованные данные. Если сохраняются расхождения между значениями, например если имеются высококачественные данные о значении КБК для различных видов рыбы, то тогда необходимо будет выбрать, в качестве основы для классификации, самый высокий из имеющихся показателей.

Когда имеются более крупные наборы данных (4 значения или более), касающихся одного и того же вида и стадии жизни, можно использовать среднее геометрическое значение КБК в качестве показателя, характерного для данного вида.

A9.5.4.2 *Противоречивые данные о $\log K_{ow}$*

В случае, если имеются многочисленные данные о $\log K_{ow}$ по одному и тому же веществу, то результаты могут оказаться противоречивыми. Если для данного вещества получены значения $\log K_{ow}$, которые одновременно \geq и $<$ 4, то для определения способности этого вещества к биоконцентрации нужно будет использовать наиболее качественные и обоснованные данные. Если сохраняются расхождения, то обычно преимуществом пользуется наиболее высокое из допустимых значение. В этом случае значение $\log K_{ow}$, рассчитанное на основе КЗСА, может использоваться только для информационных целей.

A9.5.4.3 *Экспертная оценка*

Если не имеется никаких данных о КБК или $\log K_{ow}$, полученных опытным путем, и никаких прогнозов в отношении $\log K_{ow}$, то способность к биоконцентрации в водной среде может определяться с помощью экспертной оценки, такая оценка может основываться на сравнении строения молекулы со строением других веществ, в отношении которых имеются значения биоконцентрации или $\log K_{ow}$, полученные опытным путем, или же прогнозы в отношении K_{ow} .

A9.5.5 *Схема принятия решений*

A9.5.5.1 На основе анализа и заключений, приведенных выше, была разработана схема принятия решений с целью облегчения принятия решения в отношении способности данного вещества к биоконцентрации в водных организмах.

A9.5.5.2 В конечном счете для целей классификации предпочтение отдается высококачественным значениям КБК, полученным опытным путем. Значение КБК низкого или сомнительного качества не должны использоваться в целях классификации, если имеются данные о $\log K_{ow}$, так как они могут дать ошибочное или слишком низкое значение КБК в силу, например, слишком короткого периода воздействия, в течение которого не было достигнуто стационарное состояние. Если не имеется значения КБК для рыб, можно использовать высококачественные данные о КБК, полученные для других видов (например, мидий).

A9.5.5.3 В случае органических веществ предпочтительно использовать высококачественные значения K_{ow} , полученные опытным путем, или значения, которые были рассчитаны в исследованиях и присвоены в качестве рекомендуемых. Если не имеется высококачественных экспериментальных данных, то можно использовать, в процессе классификации, достоверные данные типа КЗСА (количественная зависимость "структура-активность") для определения $\log K_{ow}$. Такие достоверные значения КЗСА могут использоваться без изменения критериев классификации, если они касаются лишь химической продукции, для которой четко установлена их применимость. Для таких веществ, как сильные кислоты и основания, комплексы металлов и поверхностно-активные вещества, следует определить значение K_{ow} , рассчитанное на основе КЗСА или индивидуальных показателей растворимости в октанолу и воде, вместо того, чтобы определять K_{ow} аналитическим путем.

A9.5.5.4 Если данные имеются, но не были обоснованы, то необходимо использовать экспертную оценку.

A9.5.5.5 Решение о том, обладает ли данное вещество способностью к биоконцентрации в водных организмах, можно принять, используя следующую схему:

- a) Допустимое/качественное значение КБК, полученное опытным путем = ДА:
 - i) $\text{КБК} \geq 500$: Вещество обладает способностью к биоконцентрации
 - ii) $\text{КБК} < 500$: Вещество не обладает способностью к биоконцентрации.

- b) Допустимое/качественное значение КБК, полученное опытным путем = НЕТ:

Допустимое/качественное значение $\log K_{ow}$, полученное опытным путем = ДА:

 - i) $\log K_{ow} \geq 4$: Вещество обладает способностью к биоконцентрации
 - ii) $\log K_{ow} < 4$: Вещество не обладает способностью к биоконцентрации.

- c) Допустимое/качественное значение КБК, полученное опытным путем = НЕТ:

Допустимое/качественное значение $\log K_{ow}$, полученное опытным путем = НЕТ:
Использование достоверных КЗСА для расчета значения $\log K_{ow}$ = ДА:

 - i) $\log K_{ow} \geq 4$: Вещество обладает способностью к биоконцентрации
 - ii) $\log K_{ow} < 4$: Вещество не обладает способностью к биоконцентрации.

A9.6 Использование КЗСА

A9.6.1 История вопроса

A9.6.1.1 Количественную зависимость "структуры–активность" (КЗСА) в ходе испытания водной токсичности можно проследить по работам Овертона в Цюрихе (Липник, 1986 год) и Майера в Марбурге (Липник, 1989 год). Эти исследователи продемонстрировали, что способность веществ вызывать нечувствительность у головастиков и мелкой рыбы прямо пропорциональна их измеренному коэффициенту распределения оливковое масло/вода. В своей написанной в 1901 году монографии "Studien über die Narkose" Овертон высказал предположение, что эта взаимосвязь отражает токсичность, возникающую при стандартных молярных концентрациях или объеме на каком-либо участке молекулы внутри организма (Lipnick, 1991a). Кроме того, он пришел к заключению, что эта токсичность соответствует той же концентрации или тому же объему для различных организмов, что поглощение происходит через воду или по ингаляционному пути. В явлении отсутствия чувствительности эта взаимосвязь известна как теория Мейера–Овертона.

A9.6.1.2 Корвин Хэнш и его коллеги по колледжу Помона предложили использовать систему октанола/вода в качестве контрольной системы распределения и обнаружили, что эти коэффициенты распределения являются аддитивным, структурным свойством, которое можно непосредственно вычислить на основе химического строения. Кроме того, они установили, что для выведения модели КЗСА нужно использовать регрессивный статистический анализ результатов. Применяя такой подход, эти авторы объявили в 1972 году о разработке 137 моделей КЗСА в виде формулы $\log (1/C) = A \log K_{ow} + B$, где $\log K_{ow}$ – коэффициент распределения октанол/вода, а C – молярная концентрация химического вещества, дающая стандартную биологическую реакцию на воздействие, оказываемое простыми инертными органическими соединениями, не являющимися электролитами, на животные организмы, органы, клетки и даже чистые ферменты. Пять из этих уравнений, которые применяются к токсичности пяти одноатомных спиртов для пяти видов рыб, имеют почти идентичные наклоны и отрезки, которые практически совпадают с соответствующими параметрами, найденными в 1981 году Кёнеманном, с предыдущими трудами которого Хэнш был, по-видимому, не знаком. Кёнеманн и другие показали, что все эти простые инертные вещества, не являющиеся электролитами, оказывают наркотическое воздействие в ходе испытаний на определение острой токсичности для рыб, приводя к токсичности минимальной или контрольной величины (Lipnick, 1989b).

A9.6.2 Экспериментальные артефакты, приводящие к недооценке опасности

A9.6.2.1 Другие неэлектролиты могут обладать более высокой токсичностью по сравнению с токсичностью, предсказанной с помощью этих КЗСА, однако они не могут быть менее токсичными, если только в ходе опыта не произошло случайного явления. Такие экспериментальные артефакты включают данные, полученные для таких соединений, как углеводороды, имеющие тенденцию к испарению во время тестирования, а также очень гидрофобные соединения, для которых продолжительность испытания на острую токсичность может быть недостаточной для достижения стационарного равновесия между концентрацией в водной фазе (контрольный раствор в аквариуме) и внутренней гидрофобной зоной наркотического воздействия. График КЗСА, представляющий собой зависимость $\log K_{ow}$ от $\log C$ для этих простых инертных неэлектролитов, обнаруживает линейную зависимость при условии, если это равновесие устанавливается до завершения испытания. По завершении испытания наблюдается билинейная зависимость, причем самым токсичным химическим веществом является вещество с самым высоким значением $\log K_{ow}$, при котором установилось это равновесие (Lipnick, 1995).

A9.6.2.2 Другую проблему при испытаниях создает порог растворимости в воде. Если эффективная токсическая концентрация превышает растворимость соединения в воде, никакого эффекта наблюдаться не будет даже при насыщении воды. Соединения, у которых предсказанная токсическая концентрация близка к растворимости в воде, тоже не проявят никакого эффекта, если продолжительность испытания недостаточна для достижения равновесия. Такое же пороговое значение отмечается у сурфактантов, если токсичность предсказана при концентрации, превышающей критическую концентрацию мицеллового образования. Хотя такие соединения могут не проявлять токсичности в этих условиях, когда они испытываются отдельно от других веществ, они тем не менее способствуют токсичности смесей. В случае соединений, имеющих одно и то же значение $\log K_{ow}$, различия в растворимости в воде отражают различия в энтальпии плавления по отношению к точке плавления. Точка плавления отражает степень устойчивости кристаллической решетки, и ее значение обусловлено межмолекулярными водородными связями, отсутствием информационной гибкости и симметрией. Чем более симметрично соединение, тем выше будет ее точка плавления (Lipnick, 1990).

A9.6.3 Проблемы моделирования КЗСА

A9.6.3.1 Выбор соответствующей модели КЗСА означает, что эта модель даст достоверный прогноз токсичности и биологической активности неиспытанной химической продукции. Вообще говоря, достоверность уменьшается с возрастанием сложности химического строения, если только зависимость КЗСА не была установлена для узко определенного вида химической продукции, схожего в структурном отношении с веществом на стадии эксперимента. Модели КЗСА, полученные на основе узко определенных классов химической продукции, широко используются в разработке фармацевтических препаратов, как только идентифицировано новое начальное соединение и если есть необходимость во внесении незначительных структурных изменений для оптимизации его активности (и уменьшения токсичности). В общем, цель состоит в осуществлении расчетов путем скорее интерполяции, чем экстраполяции.

A9.6.3.2 Например, если имеются данные, касающиеся 96-часовой ЛК₅₀ для черного толстоголова, в отношении этанола, n-бутанола, гексанола-1 и нонанола-1, можно с определенной уверенностью прогнозировать этот результат для n-пропанола и пенатанола-1. Зато с меньшей уверенностью можно прогнозировать такой результат для метанола, так как в его случае речь бы шла об экстраполяции меньшего числа атомов углерода по сравнению с другой испытанной химической продукцией. Фактически поведение первого члена такого гомологического ряда является обычно в высшей степени ненормальным и не должно прогнозироваться на основе данных, касающихся остальных членов этого ряда. Даже токсичность спиртов с разветвленной цепью может оказаться необоснованным экстраполированием, в зависимости от рассматриваемого результата. Такое экстраполирование становится еще менее достоверным от того, что токсичность связана с

производством метаболитов с определенным результатом, а не со свойствами исходного соединения. Так же, если токсичность вызвана опосредованно через механизм связи с конкретным рецептором, то может наблюдаться сильное действие при незначительных изменениях химического строения.

A9.6.3.3 Достоверность таких прогнозов зависит в конечном счете от того, в какой мере соединения, использованные для получения модели КЗСА для определенного биологического результата, будут действовать посредством общего молекулярного механизма. Часто, и даже в большинстве случаев, КЗСА представляет собой не механистическую, а всего лишь корреляционную модель. По-настоящему достоверная механистическая модель должна устанавливаться на основе ряда видов химической продукции, все из которых действуют по общему молекулярному механизму, и соответствовать уравнению с одним или несколькими параметрами, непосредственно связанными с одной или несколькими стадиями рассматриваемого механизма. Такие параметры или свойства более широко известны под названием "молекулярные дескрипторы". Важно также иметь в виду, что многие такие обычно используемые молекулярные дескрипторы могут и не иметь прямого физического истолкования. Что касается корреляционной модели, то статистическое соответствие данных будет, вероятно, менее четким, чем для механистической модели, в силу вышеуказанных ограничений. Механизмы необязательно полностью понятны, но имеющихся данных может быть достаточно для того, чтобы уверенно применять этот подход. В случае корреляционных моделей достоверность подходов возрастает, если ограничено поле корреляции, т.е., например, для данного класса электрофилов, таких, как акрилаты, схожих по химической реактивности, токсичность может быть рассчитана для "новой" химической продукции с помощью модели, основанной исключительно на параметре $\log K_{ow}$.

A9.6.3.4 Например, первичные и вторичные спирты, содержащие двойную или тройную связь, сопряженную с гидроксильной функцией (например, аллолиловый или пропалгированный спирт) обладают более высокой токсичностью, чем токсичность, предсказанная на основе модели КЗСА для соответственных насыщенных соединений. Это поведение было приписано проэлектрофильному механизму, действующему метаболическую активацию универсальным ферментом алкогольдегидрогеназа в соответственных альфа-, бета-ненасыщенных альдегидах и кетонах, которые могут действовать как электрофилы через посредство донорно-акцепторного механизма типа механизма Майкла (Veith et al., 1989). В присутствии ингибитора алкогольдегидрогеназа эти соединения ведут себя как остальные спирты и не проявляют избыточной токсичности, что соответствует механистической гипотезе.

A9.6.3.5 Ситуация быстро усложняется, как только выходишь из этих гомологических рядов соединений. Возьмем, например, простые производные бензолы. Ряд хлорбензолов может рассматриваться как соответствующий гомологическому ряду. Вероятно, не будет большой разницы в уровнях токсичности трех изомеров дихлорбензола, так что модель КЗСА, основанная на результатах испытаний одного из этих изомеров, скорее всего адекватна. Что происходит в случае замещения других функциональных групп на бензоловом кольце? Добавление гидроксильной функции к бензоловому кольцу дает фенол, который, в отличие от алифатического спирта, перестает быть нейтральным веществом и становится ионизирующимся кислотным соединением вследствие резонансной стабилизации результирующего отрицательного заряда. По этой причине фенол не действует как истинное наркотическое вещество. С добавлением к фенолу электронно-акцепторных заместителей (например, атомов хлора) происходит сдвиг в сторону соединений, действующих как разобщители окислительного фосфорилирования (например, пестицид диносеб). Замещение альдегидной группы влечет за собой повышение токсичности через посредство электрофильного механизма, так как эти соединения реагируют с аминогруппами, такими как эpsilon-аминогруппа лизина, с образованием аддукта типа основания Шиффа. Подобным образом хлоридбензила действует как электрофильное соединение, образуя ковалентные аддукты с сульфогидридными группами. Занимаясь прогнозированием в отношении неиспытанного соединения, следует тщательно изучить химическую реактивность этих и многих других функциональных групп и их взаимодействие друг с другом, а также постараться подкрепить эту информацию данными из научно-технической литературы по химии (Lipnick, 1991b).

A9.6.3.6 Учитывая эти ограничения в использовании КЗСА в прогнозировании, эту информацию предпочтительно использовать как средство установления приоритетов для испытаний, а не как средство замены тестирования, если только по самому неиспытанному соединению не имеются некоторые механистические данные. Фактически неспособности предсказать последствия воздействия, оказанного известным выбросом в окружающую среду, может оказаться достаточно, чтобы инициировать испытания или разработку новой модели КЗСА для класса химической продукции, требующей такой информации. Модель КЗСА можно получить путем статистического анализа, в частности регрессивного, на основе результатов таких испытаний. При первой попытке можно использовать $\log K_{ow}$ – наиболее широко используемый молекулярный дескриптор.

A9.6.3.7 В противоположность этому, расчет механистической модели КЗСА требует понимания молекулярного механизма и знания параметра или параметров, которые соответствующим образом смоделировали бы эти действия, или наличия рабочей гипотезы на этот счет. Важно иметь в виду, что этот подход отличается от гипотезы в отношении способа действия, которая касается биологической/физиологической реакции, но не молекулярного механизма.

A9.6.4 *Использование КЗСА в классификации видов опасности для водной среды*

A9.6.4.1 Для целей классификации, касающейся водной среды, важны следующие внутренние свойства веществ:

- a) коэффициент распределения октанол/вода, $\log K_{ow}$;
- b) коэффициент биоконцентрации, КБК;
- c) небιологическая разлагаемость и биоразложение;
- d) острая водная токсичность для рыб, дафний и водорослей;
- e) долгосрочная токсичность для рыб и дафний.

A9.6.4.2 Если экспериментальные данные достоверны, они всегда имеют преимущественное значение по сравнению с прогнозами на основе КЗСА, которые используются для восполнения пробелов в данных в целях классификации. Поскольку достоверность и область применения имеющихся КЗСА варьируются, то к предсказанию каждого из этих результатов применяются различные ограничения. Однако, если испытанное соединение принадлежит к химическому классу или типу строения (см. выше), в отношении которых имеются основания полагать, что прогнозирование на основе модели КЗСА является достоверным, целесообразно сравнить этот прогноз с экспериментальными данными, так как нередко этот подход применяется для обнаружения в измеренных данных некоторых экспериментальных артефактов (испарение, недостаточная для достижения равновесия продолжительность испытания и предел растворимости в воде), которые в большинстве случаев могли бы привести к классификации веществ как менее токсичных по сравнению с их истинной токсичностью.

A9.6.4.3 Если применяются или вероятно применяются две или несколько КЗСА, полезно сравнить прогнозы этих различных моделей так же, как прогнозируемые данные должны сопоставляться с измеренными данными (как указывалось выше). Отсутствие расхождения между этими моделями внушает доверие в отношении достоверности прогнозов. Конечно, это может также означать, что модели были разработаны на основе данных об аналогичных соединениях и статистических методов. С другой стороны, совершенно различные прогнозы нуждаются в более глубоком анализе. Всегда существует возможность того, что ни одна из использованных моделей не позволяет сделать достоверный прогноз. На первом этапе следует рассмотреть строение и свойства химической продукции, использованной для получения каждой модели прогнозирования, чтобы определить, основана ли какая-либо из этих моделей на химической продукции, строение и свойства которой аналогичны строению и свойствам продукции, в отношении которой необходим прогноз.

Если в каком-либо наборе данных содержится соответствующий аналогичный продукт, который использовался для получения модели, то следует сравнить значение, измеренное для этого внесенного в базу данных соединения, с прогнозом, сделанным на основе модели. Если в целом результаты совпадают с моделью, то эта модель, вероятно, наиболее надежна для использования. Так же, если ни в одной модели не содержится экспериментальных данных по аналогичному соединению, то рекомендуется испытание данной химической продукции.

A9.6.4.4 Управление по охране окружающей среды США (ЮСЕПА) поместило недавно на своем веб-сайте проект документа "Development of Chemical Categories in the HPV Challenge Program", в котором предлагается использовать классы химической продукции, с тем чтобы "...добровольно собирать массив информационных данных о скрининге по всем химическим продуктам, входящим в перечень химических веществ, производимых в больших количествах в США... [для того, чтобы предоставить] основные данные о скрининге, необходимые для начальной оценки физико-химических свойств, прогноза состояния окружающей среды и воздействия химической продукции на здоровье человека и окружающую среду" (USEPA, 1999). Этот перечень состоит из "приблизительно 2800 химических продуктов, производимых в больших количествах, зарегистрированных в 1990 году в рамках обновления перечня токсичных веществ в соответствии с Законом о контроле над токсичными веществами".

A9.6.4.5 Один из предлагаемых подходов состоит, "...когда это научно обосновано.., в том, чтобы рассматривать родственную химическую продукцию как группу или класс, а не испытывать их как отдельные виды химической продукции. При таком подходе нет необходимости испытывать каждый вид химической продукции на определение каждого критерия, обуславливающего внесение этого вещества в массив информационных данных по скринингу. Такие ограниченные испытания могли бы быть оправданными при условии, что "...окончательная база данных позволит оценивать неисследованные последствия, в идеале – путем интерполирования между и среди членов одного класса". Процедуры определения этих классов и получения этих данных описываются в этом проекте документа.

A9.6.4.6 Второй из рассматриваемых подходов, который требует потенциально меньшее количество данных (US EPA, 2000a), состоит в «...применении принципов зависимости активности от структуры (ЗАС) к отдельному виду химической продукции, близкородственному одному или нескольким более хорошо изученным соединениям ("аналогичные вещества")». Третий предлагаемый подход состоит в использовании "комбинации этих двух подходов (аналогичные вещества и принадлежность к классу)... [для] отдельных химических продуктов... [по аналогии с] ECOSAR (US EPA, 2000b) – основанной на ЗАС компьютерной программе, вырабатывающей значения экотоксичности". В документе ЮСЕПА подробно излагается также история использования в программе ЮСЕПА, касающейся новых химической продукции, а также процедура сбора и анализа данных, предназначенных для использования в методах, основанных на ЗАС.

A9.6.4.7 Совет министров стран Скандинавии опубликовал доклад (Pederson et al., 1995), озаглавленный "Environmental Hazard Classification" ("Классификация видов опасностей для окружающей среды"), в котором содержатся информация о сборе и интерпретации данных, а также раздел (5.2.8), посвященный расчетам растворимости и острой водной токсичности на основе КЗСА. В этом разделе обсуждаются также вопросы определения физико-химических свойств, включая $\log K_{ow}$. В целях классификации рекомендуются методы расчета для прогнозирования "минимальной острой водной токсичности" для "...нейтральных, органических, инертных и неионизирующихся соединений, таких, как спирты, кетоны, простые эфиры, алкилгалогениды и арилгалогениды, которые могут также использоваться для ароматических углеводородов, галогенированных ароматических и алифатических углеводородов, а также сульфидов и дисульфидов", как указывается в ранее упоминавшемся руководстве ОЭСР (OECD, 1995). К скандинавскому документу приложены также дискеты, позволяющие применять некоторые из этих методов на ЭВМ.

A9.6.4.8 Европейский центр экологии и токсикологии химической продукции (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals – ECETOC) опубликовал доклад, озаглавленный "QSARs in the Assessment of the Environmental Fate and Effects of Chemicals" ("КЗСА в прогнозе состояния окружающей среды и оценке воздействия химических веществ"), в котором описывается использование КЗСА для "...проверки достоверности данных и восполнения информационных пробелов с целью установления приоритетов, оценки рисков и классификации веществ (ECETOC, 1998). КЗСА описываются как средства прогнозирования состояния окружающей среды и водной токсичности. В докладе отмечается необходимость согласованного набора данных, касающихся конкретного эффекта, для четко определенной гаммы химических строений ("области"), на основе которого можно было бы составить набор данных, полученных методом моделирования. В этом документе рассматриваются также преимущества механистических моделей, использование статистического анализа в разработке КЗСА и способы оценки резко отклоняющихся значений.

A9.6.4.9 *Коэффициент распределения октанол/вода (K_{ow})*

A9.6.4.9.1 Для расчета $\log K_{ow}$ непосредственно на основе химического строения существуют компьютерные программы, такие как CLOGP (US EPA, 1999), LOGKOW (US EPA, 2000a) и SPARC (US EPA, 2000b). CLOGP и LOGKOW основаны на суммировании групповых вкладов, тогда как SPARC основана на более теоретическом алгоритме для моделирования химического строения. Необходимо проявлять осторожность при использовании значений, рассчитанных для соединений, способных подвергнуться гидролизу в воде или другой реакции, так как эти превращения должны учитываться во время интерпретации экспериментальных данных, касающихся токсичности этих реакционно-способных химических веществ для водной среды. В целом для неорганических и органометаллических соединений может использоваться только модель SPARC. Расчет $\log K_{ow}$ или водной токсичности поверхностно активных соединений, хелатирующих агентов и смесей требует специальных методов.

A9.6.4.9.2 Значения $\log K_{ow}$ можно рассчитывать для пентахлорфенола и аналогичных соединений, причем как в ионизирующейся, так и в неионизирующейся (нейтральной) форме. В принципе, эти значения можно рассчитать для некоторых реактивных молекул (например, бензотрихлорида), однако их реакционная способность и последующий гидролиз также должны учитываться. Кроме того, для таких ионизирующихся фенолов величина pK_a является вторым параметром. Особые модели могут использоваться для расчета значений $\log K_{ow}$ для органометаллических соединений, однако их необходимо применять осторожно, так как некоторые из этих соединений действительно существуют в форме ионных пар в воде.

A9.6.4.9.3 В случае чрезвычайно липофильных соединений можно получить значения $\log K_{ow}$, достигающие приблизительно до 6–6,5, путем встряхивания флаконов, и показатель $\log K_{ow}$ можно повысить приблизительно до 8, используя метод медленного перемешивания. (Bruijn et al., 1989). Эти расчеты могут считаться полезными даже в случае экстраполяции за пределы значений, которые могут быть измерены с помощью одного из этих методов. Разумеется, не следует забывать, что если модели КЗСА для токсичности установлены на основе химической продукции, имеющих более низкие значения $\log K_{ow}$, то само прогнозирование тоже будет экстраполяцией; действительно, известно, что в случае биоконцентрации связь с $\log K_{ow}$ становится нелинейной при более высоких величинах. В случае соединений, имеющих низкое значение $\log K_{ow}$, можно также применять метод групповых вкладов, но этот метод не очень полезен для оценки опасности, так как у таких веществ, особенно тех из них, которые имеют отрицательные значения $\log K_{ow}$, на липофильных участках происходит лишь незначительное, а то и не наблюдается вовсе, распределение, и, как указывало Овертон, эти вещества проявляют токсичность благодаря осмотическому эффекту (Lipnick, 1986).

A9.6.4.10 *Коэффициент биоконцентрации (КБК)*

A9.6.4.10.1 Если имеются значения КБК, установленные опытным путем, то они должны использоваться для классификации. Биоконцентрация должна измеряться на чистых пробах при испытываемых концентрациях на уровне растворимости в воде, причем в течение интервала времени, достаточного для достижения стационарного равновесия между концентрацией продукта в воде и его концентрацией в тканях рыб. Кроме того, в случае продолжительных испытаний на определение биоконцентрации, корреляция со значениями $\log K_{ow}$ стабилизируется и, в конечном счете, уменьшается. При условиях окружающей среды биоконцентрация высоко липофильных химических продуктов происходит вначале путем комбинированного поглощения пищи и воды, а переход к исключительно пищевой абсорбции происходит при $\log K_{ow} = 6$. В других случаях значения $\log K_{ow}$ могут использоваться с моделью КЗСА для прогнозирования способности органических соединений к биологическому накоплению. Отклонения от этих моделей КЗСА имеют свойство отражать различия в интенсивности метаболизма веществ в рыбе. Поэтому некоторые химические соединения, как, например, фталаты, могут накапливаться в биологических средах в гораздо меньшей степени, чем прогнозировалось. Необходимо также проявлять осторожность, сравнивая прогнозируемые значения КБК со значениями, полученными путем использования меченых соединений, так как концентрация, обнаруженная таким образом в тканях, может представлять собой смесь исходного соединения и метаболитов или даже смесь ковалентно связанных исходного вещества или метаболита.

A9.6.4.10.2 Следует отдавать предпочтение использованию значений $\log K_{ow}$, полученных опытным путем. Однако значения, полученные ранее путем встряхивания во флаконах и превышающие 5,5, не являются достоверными, и во многих случаях лучше использовать среднюю величину вычисленных значений или произвести новые измерения, используя метод медленного перемешивания (Bruijn et al., 1989). Если имеются основания сомневаться в правильности измеренных данных, следует пользоваться рассчитанными значениями $\log K_{ow}$.

A9.6.4.11 *Разложение – абиотическое и биоразложение*

КЗСА, используемые для оценки небиологического разложения в водных фазах, являются линейными соотношениями свободных энергий (ЛССЭ), узко определенными для отдельных классов химических веществ и механизмов. Например, такие ЛССЭ имеются для гидролиза хлорбензолов с различными заместителями в ароматическом кольце. Эти узко определенные модели ЛССЭ имеют свойство быть весьма достоверными, если имеются необходимые параметры для одного или нескольких рассматриваемых заместителей. Фотодеградацию, т.е. реакцию с радикалами, образованными под действием ультрафиолетового излучения, можно экстраполировать на базе расчетов, сделанных для воздушной среды. Хотя эти абиотические процессы обычно не приводят к полному разрушению органических соединений, они часто являются важными отправными точками и могут ограничивать скорость. КЗСА, служащие для расчета биоразлагаемости, являются моделями, конкретно разработанными для каждого соединения (OECD, 1995), или моделями, в которых используется метод групповых вкладов, как, например, программа BIODEG (Hansch and Leo, 1995; Meylan and Howard 1995; Hilal et al., 1994; Howard et al., 1992; Boethling et al., 1994; Howard and Meylan, 1992; Loonen et al., 1999). Хотя область применения специфических достоверных моделей одного класса соединений весьма узка, область применения моделей, использующих метод групповых вкладов, потенциально более широка, но она ограничивается соединениями, содержащими субструктуры, охваченные данной моделью. В исследованиях, посвященных проблеме подтверждения правильности данных, высказывается мысль о том, что прогнозы биоразлагаемости на основе имеющихся моделей, в которых используется метод групповых вкладов, можно применять для предсказания "отсутствия способности к легкому биоразложению" (Pedersen et al., 1995; Langenberg et al., 1996; USEPA, 1993) и, следовательно, применительно к классификации видов опасности для водной среды, – "отсутствия способности к быстрому разложению".

A9.6.4.12 *Острая водная токсичность для рыб, дафний и водорослей*

Можно предсказывать острую водную токсичность инертных органических химических продуктов, не являющихся электролитами (предельно допустимую токсичность) на основе их значения $\log K_{ow}$ с высокой долей уверенности, если только не будет обнаружено присутствие электрофильных, проэлектрофильных или действующих по особому механизму (см. ниже) функциональных групп. Определение токсичности этих специфических токсичных веществ остается проблематичным, так как для них необходимо выбрать соответствующую модель КЗСА эмпирическим путем. Поскольку простых критериев, позволяющих идентифицировать соответствующие способы действия, по-прежнему не имеется, то для выбора подходящей модели требуется эмпирическая оценка эксперта. Так, если используется неправильная зависимость КЗСА, ошибка в прогнозировании может достичь нескольких порядков величины и, в случае предельно допустимой токсичности, привести скорее к заниженному, чем завышенному значению.

A9.6.4.13 *Долгосрочная токсичность для рыб и дафний*

Рассчитанные значения хронической токсичности для рыб и дафний не следует использовать для отмены классификации, основанной на экспериментальных данных, касающихся острой токсичности. Для расчета продолжительной токсичности для рыб и дафний имеется лишь незначительное число достоверных моделей. Эти модели, основанные исключительно на корреляциях с $\log K_{ow}$, применяются только к инертным органическим соединениям, не являющимся электролитами, и не подходят для химических веществ, предполагающих особые способы действия в условиях длительного воздействия. Надежная оценка значений хронической токсичности зависит от правильной дифференциации между специфическими и неспецифическими механизмами хронической токсичности; в противном случае предсказанная токсичность может отличаться от истинной на несколько порядков величины. Следует отметить, что, хотя для многих соединений избыточная токсичность 4 в испытании на хроническую токсичность соотносится с избыточной токсичностью в испытании на острую токсичность, хотя и не всегда.

A9.7 **Классификация металлов и соединений металлов**

A9.7.1 *Введение*

A9.7.1.1 *Согласованная система классификации веществ – это система, основанная на видах опасности, а их идентификация основывается, в свою очередь, на водной токсичности веществ и на информации об их поведении с точки зрения разложения и биологического накопления (OECD, 1998). Поскольку в настоящем документе рассматриваются исключительно виды опасности, связанные с данным веществом, когда это вещество растворено в водной среде, воздействие со стороны этого источника ограничивается растворимостью в воде этого вещества и его биоаккумулятивностью видами организмов, обитающих в водной среде. Так, схемы классификации видов опасностей в случае металлов и соединений металлов ограничиваются опасностями, которые эти металлы и металлические соединения представляют, когда они свободны (т.е. существуют в форме растворенных металлических ионов, например, в виде M^+ в группе $M-NO_3$), и не учитывают воздействие со стороны металлов или соединений металлов не растворенных в водной среде, но могущих, тем не менее, биологически усваиваться, как, например, металлы, присутствующие в пище. В этом разделе не рассматривается неметаллический ион (например, CN^-) соединений металлов, которые через посредство своих токсичных или органических свойств могут создать опасность биоаккумуляции или стойкости присутствия. В случае таких металлических соединений следует также учитывать опасности, связанные с неметаллическими ионами.*

⁴ *Избыточная токсичность, $T_i = (\text{прогнозируемая контрольная токсичность})/\text{наблюдаемая токсичность}$.*

A9.7.1.2 Количество металлических ионов, которое может присутствовать в растворе после добавления металла и/или его соединений, будет в значительной степени определяться двумя параметрами: степенью растворения, т.е. его растворимостью в воде, и степенью, в какой он может реагировать со средой, образуя растворимые в воде формы. Скорость и размах этого последнего процесса, который в целях настоящего руководства именуется "трансформацией", может широко варьироваться в зависимости от различных соединений и самого металла и является важным фактором для определения соответствующего класса опасности. Когда имеются данные о трансформации, их следует учитывать в целях классификации. Методология определения этой скорости трансформации содержится в приложении 10.

A9.7.1.3 Вообще говоря, скорость, с которой вещество растворяется, может и не определять его природной токсичности. Однако для металлов и многих слаборастворимых неорганических металлических соединений трудности, связанные с растворением с помощью обычных методов, настолько велики, что оба процесса – растворения и трансформации – становятся неразличимы. Так, когда соединение настолько слаборастворимо, что его количества, растворенные после обычных попыток растворения, не превышают $L(E)K_{50}$, необходимо учитывать скорость и степень трансформации. На трансформацию влияет ряд факторов, из которых немаловажное значение имеют свойства среды с точки зрения pH, жесткости воды, температуры и т. д. Помимо этих свойств, свою роль в определении уровня растворенных ионов металлов в воде будут играть и другие факторы, такие как размер и удельная поверхность испытанных частиц, продолжительность воздействия со стороны среды и, конечно, масса или нагрузка вещества на поверхностный слой среды. Как правило, данные о трансформации могут поэтому считаться достоверными в целях классификации лишь в том случае, если испытания были проведены в соответствии со стандартными методологиями, содержащимися в приложении 10.

A9.7.1.4 Эта методика нацелена на стандартизацию главных переменных, таким образом, чтобы позволить связать непосредственно количество растворенных ионов с нагрузкой добавленного вещества. Именно эта нагрузка определяет количество металлических ионов, эквивалентное имеющейся $L(E)K_{50}$, которое можно затем использовать для определения соответствующего класса опасности. Методология испытаний описана в приложении 10. Стратегия использования данных, полученных из протокола испытаний, а также данные, необходимые для того, чтобы эта стратегия действовала, описываются ниже.

A9.7.1.5 При классификации металлов и соединений металлов как легко растворимых, так и слаборастворимых, необходимо учитывать ряд факторов. Термин "разложение", как он определяется в Главе 3.10, означает разрушение органических молекул. Для неорганических соединений и металлов концепция разлагаемости, как она рассматривалась и использовалась в отношении органических веществ, если и имеет какое-нибудь значение, то, несомненно, ограниченное. Говоря точнее, вещество может трансформироваться под действием обычных процессов в окружающей среде таким образом, что биоаккумуляция токсических видов возрастает или уменьшается. Так же, $\log K_{ow}$ не может рассматриваться как мера измерения способности к аккумуляции. Тем не менее концепции, согласно которым вещество или метаболит/продукт токсичной реакции может не исчезнуть быстро из окружающей среды и/или может накапливаться в живых организмах, применяются как к металлам и металлическим соединениям, так и к органическим веществам.

A9.7.1.6 На состав растворимой формы могут оказывать влияние pH, жесткость воды и другие переменные, и этот состав может привести к образованию особых форм металлического иона, которые будут более или менее токсичными. Кроме того, металлические ионы могут стать несвободными в водной среде под действием ряда процессов (например, минерализация и распределение). Иногда эти процессы могут протекать достаточно быстро, чтобы их можно было считать аналогичными разложению при оценке хронической токсичности в целях классификации. Однако переход металлического иона из водной в другие зоны окружающей среды необязательно означает, что он перестал быть биоаккумулятивным или что он стал несвободным на все время.

A9.7.1.7 Сведений, касающихся степени отделения металлического иона от водной среды или степени, в которой какой-либо металл был обращен или может быть обращен в менее токсичную или нетоксичную форму, часто не имеется в отношении достаточно широкой гаммы условий, имеющих отношение к окружающей среде, и поэтому для облегчения классификации необходимо сформулировать ряд предположений. Эти предположения можно изменять, если появятся соответствующие данные. В первом случае следует предположить, что ионы металлов, оказавшись в воде, не покидают быстро водную среду и что, таким образом, эти соединения не отвечают критериям. В основе этого предположения лежит гипотеза, согласно которой, хотя вид образования может иметь место, виды останутся усвояемыми в соответствующих условиях окружающей среды. Как описывалось выше, это не всегда может происходить именно так, и любые факты, указывающие на то, что за 28 суток в биоаккумуляции произошли изменения, должны тщательно анализироваться. Биоаккумуляция металлов и неорганических металлических соединений является сложным процессом, и данными о биоаккумуляции следует пользоваться осторожно. Возможность применения критериев, касающихся биоаккумуляции, следует рассматривать в зависимости от каждого конкретного случая, должным образом учитывая все имеющиеся данные.

A9.7.1.8 Можно, кроме того, предположить, и такое предположение будет представлять собой осторожный подход, что в случае отсутствия всяких данных, измеренных или рассчитанных, о растворимости конкретного металлического соединения вещество будет достаточно растворимым, чтобы проявлять токсичность на уровне LC_{50} и, следовательно, сможет классифицироваться так же, как и другие растворимые соли. И в этом случае это не всегда, разумеется, происходит именно так, и было бы разумнее постараться получить соответствующие данные о растворимости.

A9.7.1.9 В настоящем разделе рассматриваются металлы и металлические соединения. В связи с данным руководством металлы и металлические соединения характеризуются следующим образом (и органометаллические соединения, следовательно, выходят за рамки этой главы):

- a) металлы, M^0 , в своем элементарном состоянии, не растворяются в воде, но могут трансформироваться, образуя усвояемую форму. Это означает, что металл, находящийся в элементарном состоянии, может реагировать с водой или водным раствором электролита, образуя растворимые катионные или анионные продукты, и что во время этого процесса металл окислится и трансформируется, перейдя от нейтрального состояния или нулевой степени окисления к более высокой степени окисления;
- b) в простом соединении металлов, таком, как оксид или сульфид, металл уже существует в окисленном состоянии, так что дальнейшее окисление металла вряд ли произойдет при введении этого соединения в водную среду.

Однако, хотя степень окисления может и не измениться, взаимодействие со средой может привести к образованию более растворимых форм. Соединение металлов средней растворимости может рассматриваться как соединение, для которого может быть найдено ионное производное воды и которое путем растворения даст небольшое количество усвояемой формы. Однако следует признать, что на конечную концентрацию раствора может оказать влияние ряд факторов, в том числе ионное производное некоторых металлических соединений, выпавших в осадок во время испытания на трансформацию/растворение, например гидроокись алюминия.

A9.7.2 Применение данных о водной токсичности и данных о растворимости в целях классификации

A9.7.2.1 Интерпретация данных о водной токсичности

A9.7.2.1.1 Исследования водной токсичности, проведенные в соответствии с признанным протоколом, должны, в принципе, приниматься в качестве достоверных в целях классификации. В разделе A9.3 также содержится анализ общих проблем, характерных для оценки, в целях классификации, всех элементов данных, касающихся водной токсичности.

A9.7.2.1.2 Образование комплексов металлов

A9.7.2.1.2.1 Токсичность конкретного металла в растворе, по-видимому, зависит в первую очередь от количества растворенных свободных металлических ионов, но строго этим не ограничивается. Абиотические факторы, включая щелочность, ионную силу и pH, могут влиять на токсичность металлов двояким образом: i) воздействуя на химический состав металла в воде (и, следовательно, на его усвояемость) и ii) воздействуя на поглощение и связывание активного металла биологическими тканями.

A9.7.2.1.2.2 Когда видоизменения происходят в большом масштабе, можно смоделировать концентрации различных форм металла, включая концентрации, способные оказать токсическое воздействие. Аналитические методы, позволяющие количественно установить концентрации воздействия и проводить различия между комплексными и некомплексными фракциями испытуемого вещества, могут не всегда быть в наличии или стоить дорого.

A9.7.2.1.2.3 Образование комплексов металлов с органическими и неорганическими лигандами в испытуемых средах и природной окружающей среде можно оценить на основе моделей образования комплексов металлов. Для расчета некомплексных и комплексных фракций металлических ионов можно использовать модели образования комплексов металлов, включающие pH, жесткость, ХПК и неорганические вещества, такие как модели MINTEQ (Brown and Allison, 1987), WHAM (Tipping, 1994) и CHESS (Santore and Driscoll, 1995). В качестве варианта можно использовать модель Biotic Ligand Model (BLM) (модель биологических лигандов), которые позволяют расщеплять концентрацию металлических ионов, вызвавшую токсический эффект на уровне организма. Модель BLM была пока подтверждена лишь для ограниченного числа металлов, организмов и результатов (Santore and Di Toro, 1999). Следует всегда четко указывать, какие модели и формулы были использованы для характеристики образования комплексов металлов в средах, так как это позволит использовать их применительно к природной окружающей среде (OECD, 2000).

A9.7.2.2 Интерпретация данных растворимости

A9.7.2.2.1 При рассмотрении имеющихся данных растворимости следует оценивать их достоверность и применимость к идентификации видов опасностей, связанных с металлическими соединениями. В частности, следует знать значение pH, при котором были произведены эти данные.

A9.7.2.2.2 Оценка существующих данных

Существующие данные могут быть трех видов. Для некоторых хорошо изученных металлов будут иметься данные о продуктах растворимости и/или данные растворимости в отношении различных неорганических металлических соединений. Будет также известно, возможно, соотношение между pH и растворимостью. Однако для многих металлов и металлических соединений, вероятно, имеющаяся информация будет чисто описательной, например упоминание о том, что вещество является слабо растворимым. К сожалению, похоже, что имеется лишь немного (последовательных) указаний относительно областей растворимости, соответствующих этим описательным терминам. В случае, если имеется лишь информация этого типа, необходимо, вероятно, будет получить данные растворимости, используя протокол о трансформации/растворении (приложение 10).

A9.7.2.2.3 Отборочное испытание на оценку растворимости металлических соединений

В случае отсутствия данных растворимости можно использовать, в отношении металлических соединений, обычное отборочное испытание на оценку растворимости, основанное на самой высокой за 24 часа скорости загрузки, как это описывается в протоколе о трансформации/растворении (приложение 10). Назначение предварительного испытания – выявить металлические соединения, которые подвергаются либо растворению, либо быстрой трансформации таким образом, что они становятся неотличимы от растворимых форм и, следовательно, могут классифицироваться на основе концентрации растворенных ионов. Когда имеются данные, полученные в результате предварительного испытания, подробно описанного в протоколе о трансформации/растворении, следует использовать максимальную растворимость, полученную в отношении испытанного диапазона водородного показателя. Если данные по полному диапазону рН отсутствуют, необходимо проверить, была ли эта максимальная растворимость получена исходя из подходящих термодинамических моделей образования комплексов металлов или других соответствующих методов (см. пункт A9.7.2.1.2.3). Следует отметить, что это испытание предназначено лишь для металлических соединений.

A9.7.2.2.4 Полное испытание на растворимость металлов и металлических соединений

Первая часть этого испытания состоит, как и в случае предварительного испытания, в определении водородного показателя или водородных показателей, при которых должно проводиться исследование. Обычно это полное испытание должно проводиться при значении рН, которое доводит до максимальной величины концентрацию металлических ионов в растворе. В этом случае значение рН может быть выбрано в соответствии с теми же рекомендациями, что и в отношении предварительного испытания.

На основе данных, полученных по результатам этого полного испытания, можно получить концентрацию металлических ионов в растворе по истечении семи суток для каждой из трех нагрузок (т.е. для 1 мг/л – "малый", 10 мг/л – "средний" и 100 мг/л – "большой"), использовавшихся в ходе испытания. Если цель этого испытания состоит в оценке долгосрочной опасности, связанной с данным веществом, то испытание при малой загрузке можно продлить до 28 суток и проводить его при подходящем значении рН.

A9.7.2.3 Сравнение данных водной токсичности с данными растворимости

Решение о том, следует ли классифицировать вещество как опасное для водной среды, будет зависеть от результатов сравнения данных водной токсичности с данными растворимости. Если $L(E)K_{50}$ будет превышено, независимо от того, были ли получены данные токсичности и растворимости при одном и том же водородном показателе и идет ли речь о единственных имеющихся данных, вещество необходимо будет классифицировать. Если имеются другие данные растворимости, показывающие, что концентрация после растворения не превышает $L(E)K_{50}$ для всего диапазона рН, то тогда вещество не следует классифицировать в его растворимой форме. Для принятия этого решения, возможно, понадобится использовать дополнительные данные, полученные на основе либо экотоксикологического испытания, либо применимых моделей биоаккумуляции–эффект.

A9.7.3 Оценка трансформации в окружающей среде

A9.7.3.1 Трансформация в окружающей среде одного вида металла в другой вид того же металла не является разложением в том смысле, в каком этот термин применяется к органическим соединениям, и может повышать или понижать биологическую активность и биоаккумуляцию токсичных видов. Однако под действием природных геохимических процессов металлические ионы могут отделяться от водной среды. Имеется довольно много данных о времени пребывания в водной среде, о явлениях, происходящих на границе раздела между водой и отложениями (т.е. сам процесс

отложения и ремобилизация), но они не были включены в настоящую базу данных. Однако этот подход можно интегрировать в классификацию, используя принципы и гипотезы, просматривавшиеся выше в разделе A9.7.1.

A9.7.3.2 В отношении таких оценок очень трудно делать какие-либо рекомендации, и, как правило, их следует производить в зависимости от каждого конкретного случая. Однако можно учитывать следующие элементы:

- a) изменения химического состава, если они ведут к неактивным формам, учитывая, однако, также возможность обратного превращения;
- b) преобразования в металлическое соединение, которое значительно менее растворимо, чем рассматриваемое металлическое изменение.

Рекомендуется, однако, проявлять осторожность (см. пункты A9.7.1.5 и A9.7.1.6).

A9.7.4 Биоаккумуляция

A9.7.4.1 Хотя $\log K_{ow}$ является хорошим средством прогнозирования КБК для некоторых типов органических соединений, например неполярных органических веществ, этот показатель, разумеется, не представляет интереса для неорганических веществ, таких как неорганические металлические соединения.

A9.7.4.2 Механизмы, регулирующие скорости поглощения и выведения металлов, очень сложны и различны, и в настоящее время не существует общей модели для их описания. Вместо этого биоаккумуляция металлов в соответствии с критериями классификации должна устанавливаться в каждом конкретном случае на основе экспертной оценки.

A9.7.4.3 Хотя значения КБК указывают на способность к биоаккумуляции, в ходе интерпретации значений КБК, измеренных для металлов и неорганических металлических соединений, может возникнуть ряд осложнений. Для некоторых металлов и неорганических металлических соединений существует обратная зависимость между концентрацией в воде и КБК внутри некоторых водных организмов, и следует проявлять осторожность при использовании данных биоконцентрации. Особенно это касается биологически важных металлов. Эти металлы активно регулируются в организмах, где они выполняют жизненно важную функцию. Поскольку пищевые потребности организмов могут превышать концентрацию металла в окружающей среде, то это активное регулирование может привести к более высоким значениям КБК и к обратной зависимости между КБК и концентрацией металла в воде. Когда концентрации в окружающей среде слабые, можно ожидать более высокие значения КБК, которые являются естественным следствием поглощения металла для удовлетворения пищевых потребностей и могут в этом случае считаться нормальным явлением. Кроме того, если внутренняя концентрация регулируется организмом, то измеренные значения КБК могут уменьшаться при повышении наружной концентрации. Когда наружные концентрации настолько высоки, что они превышают пороговый уровень или подавляют механизм регулирования, они могут нанести организму вред. Следует также иметь в виду, что металл, являющийся жизненно важным для данного организма, необязательно является таковым для остальных. Поэтому, когда металл не является важным или когда биоконцентрация важного металла превышает уровни кормления, следует уделить особое внимание способности к биоконцентрации и экологическим проблемам.

A9.7.5 *Применение критериев классификации к металлам и металлическим соединениям*

A9.7.5.1 *Введение в стратегию классификации металлов и металлических соединений*

A9.7.5.1.1 Схемы классификации металлов и металлических соединений описываются ниже и кратко изложены в виде диаграммы на рисунке A9.7.1. Эти схемы состоят из нескольких этапов, в которых данные используются в целях принятия решения. Схема классификации не имеет целью генерирование новых данных. В случае отсутствия достоверных данных необходимо будет использовать все имеющиеся данные и экспертную оценку.

В нижеследующих разделах ссылка на $L(\Delta)K_{50}$ относится к элементу или элементам информации, которые будут использованы для выбора класса классификации металла или металлического соединения.

A9.7.5.1.2 При рассмотрении данных, касающихся $L(\Delta)K_{50}$ металлических соединений, важно удостовериться в том, что элемент данных, используемый для обоснования классификации, выражен в весе молекулы металлического соединения, подлежащего классификации. Эта операция известна как введение поправки на молекулярный вес. Так, хотя большинство данных по металлам выражено, например, в мг/л металла, это значение должно быть скорректировано в зависимости от соответствующего молекулярного веса металлического соединения, т.е.:

$L(\Delta)K_{50}$ металлического соединения = $L(\Delta)K_{50}$ металла × (Молекулярный Вес металлического соединения/Атомный Вес металла)

Так же может оказаться необходимым скорректировать с поправкой на вес металлических соединений данные, касающиеся КНЭ.

A9.7.5.2 *Стратегия классификации металлов*

A9.7.5.2.1 Когда $L(\Delta)K_{50}$ для рассматриваемых металлических ионов > 100 мг/л, нет необходимости продолжать применять схему классификации к соответствующим металлам.

A9.7.5.2.2 Когда $L(\Delta)K_{50}$ для рассматриваемых металлических ионов составляет ≤ 100 мг/л или равняется этому значению, следует рассмотреть имеющиеся данные, касающиеся скорости и масштаба образования ионов из этого металла. Чтобы быть достоверными и практичными, такие данные должны быть получены с помощью протокола о трансформации/растворении (приложение 10).

A9.7.5.2.3 Когда таких данных не имеется, т.е. нет четких и достаточно достоверных данных, показывающих отсутствие трансформации в металлические ионы, то продукт следует классифицировать по соображениям безопасности (Класс хронической опасности 4), так как токсичность этих растворимых форм металла считается достаточно тревожной и поэтому они заслуживают классификации.

A9.7.5.2.4 Когда имеются данные, полученные с помощью протокола о растворении, то следует использовать эти результаты для облегчения классификации, соблюдая при этом следующие правила:

A9.7.5.2.4.1 7-суточное испытание на трансформацию

Если концентрация металлических ионов в растворе после 7 суток (или раньше) превышает $L(\Delta)K_{50}$, то классификация металла по умолчанию заменяется следующей классификацией:

- a) если концентрация металлических ионов в растворе при малой загрузке испытуемого продукта $\geq L(\text{Э})K_{50}$, металл должен быть отнесен к Классу острой опасности 1. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 1, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции;
- b) если концентрация металлических ионов в растворе при средней загрузке испытуемого продукта $\geq L(\text{Э})K_{50}$, металл должен быть отнесен к Классу острой опасности 2. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 2, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции;
- c) если концентрация ионов металла в растворе при высокой загрузке испытуемого продукта $\geq L(\text{Э})K_{50}$, металл должен быть отнесен к Классу острой опасности 3. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 3, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции.

A9.7.5.2.4.2 28-суточное испытание на трансформацию

Если результатом процесса, описанного в A9.7.5.2.4.1, является отнесение к Классу хронической опасности 1, то не требуется никакой дополнительной оценки, так как металл будет классифицирован независимо от всякой дополнительной информации.

Во всех других случаях могут быть получены дополнительные данные с помощью испытания на растворение/трансформацию, с тем чтобы показать, что классификация может быть изменена. Если для веществ, отнесенных к Классам хронической опасности 2, 3 или 4, концентрация металлических ионов в растворе при малой загрузке испытуемого вещества, после общей продолжительности в 28 суток, \geq долговременной КНЭ, то произведенная классификация отменяется.

A9.7.5.3 Стратегия классификации металлических соединений

A9.7.5.3.1 Когда $L(\text{Э})K_{50}$ для рассматриваемых металлических ионов ≥ 100 мг/л, нет необходимости продолжать применять схему классификации к соответствующим металлам.

A9.7.5.3.2 Если растворимость $\geq L(\text{Э})K_{50}$, то классификация должна осуществляться на основе растворимого иона.

A9.7.5.3.2.1 Все металлические соединения, растворимость которых в воде (измеренная, например, путем 24-часового предварительного испытания на растворение или рассчитанная, например, на основе продукта растворимости) $\geq L(\text{Э})K_{50}$ концентрации металлических ионов в растворе, считаются легкорастворимыми металлическими соединениями. Следует проявлять осторожность в случае, если растворимость близка к значению острой токсичности, так как условия, при которых измерена растворимость, могут значительно отличаться от условий проведения испытания на острую токсичность. В этом случае предпочтительно использовать результаты предварительного испытания на растворение.

A9.7.5.3.2.2 Легкорастворимые металлические соединения классифицируются на основе $L(\text{Э})K_{50}$ (с поправкой, если необходимо, на молекулярный вес):

- a) если $L(\text{Э})K_{50}$ растворенного металлического иона составляет ≤ 1 мг/л, то соединение должно быть отнесено к Классу острой опасности 1. Его следует также отнести к Классу хронической опасности I, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции;

- b) если $L(\text{Э})K_{50}$ растворенного металлического иона составляет > 1 мг/л, но ≤ 10 мг/л, то соединение должно быть отнесено к Классу острой опасности 2. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 2, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции;
- c) если $L(\text{Э})K_{50}$ растворенного металлического иона составляет > 10 мг/л, но ≤ 100 мг/л, то соединение должно быть отнесено к Классу острой опасности 3. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 3, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции.

A9.7.5.3.3 Если растворимость $< L(\text{Э})K_{50}$, соединение должно быть отнесено по умолчанию к Классу хронической опасности 4

A9.7.5.3.3.1 Применительно к критериям классификации, слабо растворимые металлические соединения определяются как соединения, известная растворимость которых (измеренная, например, путем 24-часового предварительного испытания на растворение или рассчитанная, например, на основе продукта растворимости) меньше $L(\text{Э})K_{50}$ растворимого металлического иона. В случаях, если растворимые формы металла в слабо растворимых металлических соединениях имеют $L(\text{Э})K_{50}$, которая ≤ 100 мг/л или если вещество может рассматриваться как слабо растворимое, классификация (хроническая опасность 4) должна проводиться по умолчанию из соображений безопасности.

A9.7.5.3.3.2 7-суточное испытание на трансформацию

В случае слабо растворимых металлических изменений, отнесенных по умолчанию к соответствующему классу из соображений безопасности, можно использовать дополнительную информацию, полученную в результате 7-суточного испытания на трансформацию/растворение. Такие данные должны включать уровни трансформации при малой, средней и большой загрузке испытуемого продукта.

Если концентрация металлических ионов в растворе после 7 суток (или раньше) превышает $L(\text{Э})K_{50}$, то классификация металла по умолчанию заменяется следующей классификацией:

- a) если концентрация металлических ионов в растворе при малой загрузке испытуемого продукта $\geq L(\text{Э})K_{50}$, металл должен быть отнесен к Классу острой опасности 1. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 1, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции;
- b) если концентрация металлических ионов в растворе при средней загрузке испытуемого продукта $\geq L(\text{Э})K_{50}$, металл должен быть отнесен к Классу острой опасности 2. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 2, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции;
- c) если концентрация металлических ионов в растворе при высокой загрузке испытуемого продукта $\geq L(\text{Э})K_{50}$, металл должен быть отнесен к Классу острой опасности 3. Его следует также отнести к Классу хронической опасности 3, если не будет доказательства как быстрого выделения из водной среды, так и отсутствия биоаккумуляции.

A9.7.5.3.3.3 28-суточное испытание на трансформацию

Если результатом процесса, описанного в A9.7.5.3.3.2, является отнесение к Классу хронической опасности 1, то не требуется никакой дополнительной оценки, так как металл будет классифицирован независимо от всякой дополнительной информации.

Во всех других случаях могут быть получены дополнительные данные с помощью испытания на растворение/трансформацию, с тем чтобы показать, что классификация может быть изменена. Если для веществ, отнесенных к Классам хронической опасности 2, 3 или 4, концентрация металлических ионов в растворе при малой загрузке испытуемого вещества, после общей продолжительности в 28 суток, ниже или равна долговременной КНЭ, то произведенная классификация отменяется.

A9.7.5.4 *Размер и площадь поверхности частиц*

A9.7.5.4.1 Размер и тем более площадь поверхности частиц является решающим параметром, так как всякое изменение размера или площади поверхности испытанных частиц может вызвать значительное изменение количеств металлических ионов, высвобожденных за данный интервал времени. Таким образом, эти размер или площадь поверхности частиц устанавливаются в целях испытания на трансформацию, что позволяет основывать сравнительные классификации исключительно на количествах испытанных продуктов. Обычно в полученных данных классификации используется самый маленький размер частиц, имеющихся на рынке, для определения степени трансформации. Могут быть случаи, когда данные, полученные в отношении конкретного металлического порошка, не считаются подходящими для классификации компактных форм. Например, когда может быть доказано, что испытанный порошок является в структурном отношении другим материалом (имеющим, например, другую кристаллографическую структуру) и/или был произведен путем особого метода и не может быть получен из компактного металла, этот компактный металл может классифицироваться на основе испытания, в котором используются более характерные размеры или площадь поверхности частиц, если такие данные имеются. Порошок может классифицироваться отдельно на основе данных, полученных по этому порошку. Однако в обычных условиях не предусмотрено, чтобы делалось более двух предложений о классификации одного и того же металла.

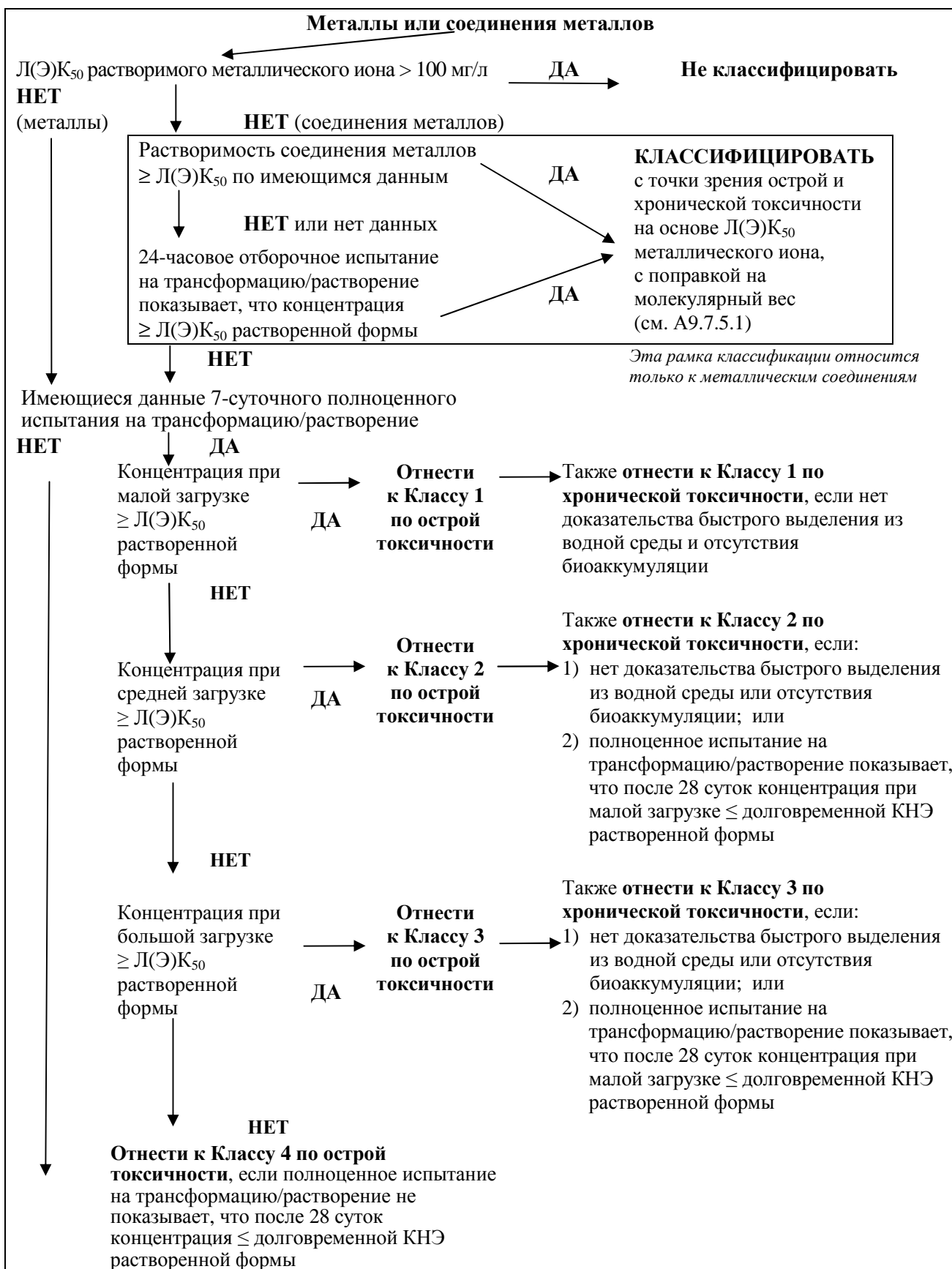
A9.7.5.4.2 Металлы, частицы которых меньше диаметра, установленного по умолчанию в размере 1 мм, могут испытываться на индивидуальной основе. В качестве примера можно привести металлические порошки, производимые по иной технологии, или порошки, дающие более высокую скорость растворения (или реакции) по сравнению с литой формой, что ведет к более строгой классификации.

A9.7.5.4.3 Испытанные размеры частиц зависят от анализируемого вещества и показаны в нижеследующей таблице:

Тип	Размер частиц	Замечания
Металлические соединения	Наименьший характерный размер, имеющийся на рынке	Никогда не превышает 1 мм
Металлические порошки	Наименьший характерный размер, имеющийся на рынке	Может понадобиться учет различных источников, если порошки обладают различными кристаллографическими/морфологическими свойствами
Компактные металлы	1 мм	Стандартное значение может быть изменено в случае достаточного обоснования

A9.7.5.4.4 Для некоторых форм металлов имеется возможность получить, используя протокол о трансформации/растворении (OECD, 2001), корреляцию между концентрацией металлического металла после установленного интервала времени и поверхностными зарядами испытанных форм. В таких случаях было бы возможно просчитать концентрацию растворенных металлических ионов для металла с различными частицами, используя предложенный Скиффом и другими (Skeaff et. al., 2000) метод, основанный на критической площади поверхности (см. соответствующую ссылку в части 5 дополнения VI – Металлы и металлические соединения). Т.е. на основе этой корреляции и с учетом соответствующих данных токсичности можно было бы, вероятно, определить критическую удельную поверхность вещества, соответствующую $L(\text{Э})K_{50}$, а затем конвертировать эту критическую площадь поверхности малых, средних и больших количеств загруженного вещества, которые использовались для определения опасности. Хотя этот подход обычно не используется для классификации, с его помощью можно получить полезную информацию, касающуюся маркировки и последующих решений.

Рисунок А9.7.1: Стратегия классификации металлов и соединений металлов



Приложение 9

ДОПОЛНЕНИЕ I

Определение способности органических веществ к разложению

1. Органические вещества могут разлагаться под действием абиотических или биотических процессов или их комбинации. Для определения способности к разложению имеется ряд стандартных процедур или испытаний. Общие принципы некоторых из них описываются ниже. Речь ни в коем случае не идет о том, чтобы дать всеобъемлющий обзор по методам испытаний разлагаемости, а чтобы лишь привязать эти методы к классификации видов опасности для водной среды.

2. Способность к абиотическому разрушению

2.1 Абиотическое разрушение включает химическую трансформацию и фотохимическую трансформацию. Обычно абиотические превращения приводят к образованию других органических соединений, но не вызывают полную минерализацию (Schwarzenbach *et al.*, 1993). Химическая трансформация определяется как трансформация, происходящая без света и без участия организмов, тогда как для фотохимических трансформаций требуется свет.

2.2 Примерами соответствующих процессов химической трансформации в водной среде являются гидролиз, нуклеофильное замещение и окислительно-восстановительные реакции (Schwarzenbach *et al.*, 1993). Более важным из них часто считается гидролиз – единственный процесс химической трансформации, в отношении которого обычно имеются международные руководящие принципы испытаний. Опыты на абиотическое разрушение химических веществ основаны обычно на определении скоростей трансформации в стандартных условиях.

2.3 Гидролиз

2.3.1 Гидролиз означает реакцию нуклеофилов H_2O или OH с химическим продуктом, при которой (выбывающая) группа химического продукта обменивается с группой OH . Гидролизу подвержены многие соединения, особенно производные кислот. Гидролиз может быть как абиотическим, так и биотическим, но применительно к испытаниям рассматриваться будет лишь абиотический гидролиз. Гидролиз может осуществляться под действием различных механизмов при различных рН ("нейтральный" гидролиз или гидролиз, катализируемый кислотами или основаниями), и его скорость может существенно зависеть от водородного показателя.

2.3.2 В настоящее время имеется два руководящих принципа оценки небиологического гидролиза – руководящий принцип 111 ОЭСР "Hydrolysis as a function of pH" ("Гидролиз в зависимости от рН") (соответствующий OPPTS 835.2110 и метод OPPTS 835.2130 Hydrolysis as a function of pH and temperature ("Гидролиз в зависимости от рН и температуры")). Руководящий принцип 111 ОЭСР позволяет определить общую скорость гидролиза при различных рН в чистой буферной воде. Испытание состоит из двух частей – предварительного испытания, проводимого на химических веществах, скорости гидролиза которых не известны, и более подробного испытания, проводимого на веществах, известных как неустойчивые в воде, и веществах, для которых предварительное испытание показало быстрый гидролиз. По истечении 5 суток после начала проведения предварительного испытания измеряется концентрация химического соединения в буферных растворах при значениях рН, диапазон которых обычно встречается в окружающей среде (4, 7 и 9) и при 50°C. Если концентрация химического продукта уменьшилась на менее чем 10%, то считается, что этот продукт устойчив в воде; в противном случае могут быть проведены углубленные испытания. При углубленных испытаниях общая скорость гидролиза определяется при трех значениях рН (4, 7 и 9) путем измерения концентрации химического продукта в зависимости от

времени. Скорость гидролиза определяется при различных температурах, чтобы можно было осуществить интерполирование или экстраполирование применительно к температурам, наблюдаемым в окружающей среде. По своему плану испытания OPPTS 835.2130 почти идентичны испытаниям, предусмотренным Руководящим принципом 111 ОЭСР: различие между ними связано, главным образом, с обработкой данных.

2.3.3 Следует отметить, что, помимо гидролиза, константы скоростей гидролиза, определенные в результате этих испытаний, включают все другие абиотические трансформации, которые могут происходить без света при данных условиях испытаний. Было отмечено хорошее совпадение скоростей гидролиза в природных водах и в чистой воде (OPPTS 835.2110).

2.4 *Фотолиз*

2.4.1 В настоящее время не имеется руководящего принципа ОЭСР, касающегося фотодегradации в водных средах, а существует лишь Руководство по прямому фотолизу в водных средах (OECD, 1997). Предполагается, что этот рабочий документ станет основой запланированного руководящего принципа. Согласно содержащимся в нем определениям, фотопревращение соединений в воде может принимать формы первичного или вторичного фотопревращения, причем первичное фотопревращение (фотолиз) может, в свою очередь, подразделяться на прямой фотолиз и непрямой фотолиз. Прямое фотопревращение (фотолиз) происходит в случае, когда химический продукт поглощает свет и подвергается трансформации, являющейся прямым следствием этого поглощения. Непрямое фотопревращение происходит в случае, когда другие возбужденные виды передают энергию, электроны или атомы водорода химическому продукту, вызывая таким образом трансформацию (сенсibilизированный фотолиз). Говорят, что фотопревращение вторично, если происходят химические реакции между химическим продуктом и короткоживущими реакционно-способными видами, такими как гидроксирадикалы, пероксирадикалы или синглетный кислород, который образуется в присутствии света под действием реакций, в которых участвуют возбужденные виды, такие как гуминовая кислота, фульвиновая кислота или нитраты.

2.4.2 Поэтому единственными имеющимися на сегодняшний день руководящими принципами, касающимися фотопревращения химических продуктов в воде, являются OPPTS 835.2210 "Direct photolysis rate in water by sunlight" ("Скорость прямого фотолиза, происходящего в воде под воздействием солнечных лучей") и OPPTS 835.5270 "Indirect photolysis screening test" ("Предварительное испытание на непрямой фотолиз"). В испытаниях OPPTS 835.2210 используется ярусный подход. На уровне 1 константа максимальной скорости прямого фотолиза (минимальный период полураспада) рассчитывается на основе измеренного молярного коэффициента поглощения. Уровень 2 включает две фазы. На фазе 1 химический продукт подвергается фотолизу под воздействием солнечных лучей, и таким образом получают приблизительную константу скорости. На фазе 2 определяют более точную константу скорости, используя актинометр, который количественно определяет интенсивность света, воздействию которого химический продукт был фактически подвержен. На основе измеренных параметров можно рассчитать фактическую скорость прямой фотодегradации при различных температурах и на различных широтах. Эта скорость разложения применяется лишь к верхнему слою водного объекта. Например, к первым 50 см или меньше, и лишь в том случае, если вода чистая и насыщена воздухом, что, понятно, не всегда можно встретить в природе. Полученные результаты, однако, можно распространить на другие условия окружающей среды, используя компьютерную программу, которая учитывает ослабление интенсивности света в природных водах и другие соответствующие факторы.

2.4.3 Предварительные испытания OPPTS 835.5270 касаются непрямого фотолиза химических веществ в водах, содержащих гуминовые вещества. Эти испытания построены на том принципе, что в природных водах, находящихся под воздействием естественного солнечного света, скорость измеренного фотопревращения включает как прямое, так и непрямое фотопревращение, тогда как в чистой воде происходит лишь прямое фотопревращение. Поэтому в соответствии с определениями, сформулированными в руководстве ОЭСР, разница между скоростью прямого

фоторазложения в чистой воде и общим разложением в природной воде является суммой непрямого фотолитического и вторичного фоторазложения согласно определениям, изложенным в приложении 9 Руководства. На практике, при проведении испытаний, используются гуминовые вещества промышленного происхождения для получения синтетической гуминовой воды, имитирующей природную воду. Следует отметить, что определенная скорость непрямого фотопревращения действительна лишь для времени года и широты, применительно к которым она была определена, и что невозможно перенести полученные результаты на другие широты и другие времена года.

3. Способность к биотическому разложению

3.1 Ниже приводится лишь краткий обзор методов испытания. Более подробную информацию смотри в сводном документе ОЭСР по испытаниям на определение способности к биоразложению (OECD, 1995).

3.2 Легкая биоразлагаемость

3.2.1 Стандартные испытания на определение легкой биоразлагаемости органических веществ разработаны рядом организаций, включая ОЭСР (руководящие принципы 301A-F ОЭСР), ЕС (испытания С.4), ОППТС (835.3110) и ИСО (9408, 9439, 10707).

3.2.2 Испытания на определение легкой биоразлагаемости являются строгими испытаниями, которые оставляют лишь мало шансов на то, чтобы биоразложение и акклиматизация произошли. Основные условия проведения испытаний, гарантирующие эти характеристики, являются следующими:

- a) высокая концентрация испытуемого вещества (2–100 мг/л);
- b) испытуемое вещество является единственным источником углерода и энергии;
- c) концентрация инокулята от низкой до средней (10^4 – 10^8 клеток/мл);
- d) преадаптация инокулята не допускается;
- e) 28-суточная продолжительность испытаний, включая 10-суточный интервал времени (за исключением метода МПТ I (руководящий принцип 301С ОЭСР), в течение которого должно произойти разложение);
- f) температура испытания $< 25^\circ\text{C}$; и
- g) пороговые уровни, равные 70% (устранение ХПК) или 60% (изменение потребности в O_2 или образование CO_2), свидетельствующие о полной минерализации (предполагается, что оставшийся углеводород испытуемого вещества включен в растущую биомассу).

3.2.3 Предполагается, что положительный результат в одном из испытаний на определение способности к легкому биоразложению свидетельствует о том, что вещество будет быстро разлагаться в окружающей среде (руководящие принципы ОЭСР в отношении испытаний).

3.2.4 Традиционные испытания на БПК (например, испытания С.5 ЕС) тоже могут продемонстрировать, способно ли вещество к легкому биоразложению. В этих испытаниях относительная 5-суточная биохимическая потребность в кислороде сравнивается с теоретической потребностью в кислороде (ТПК) или, когда таких данных не имеется, с химической потребностью в кислороде (ХПК). Испытания продолжаются в течение 5 суток, и поэтому пороговое значение, установленное на уровне 50% в соответствии с предлагаемыми критериями классификации видов опасности, ниже порогового уровня испытаний на определение способности к легкому биоразложению.

3.2.5 Предварительные испытания на биоразлагаемость в морской воде (OECD Test Guideline 306) могут рассматриваться как метод, параллельный испытаниям на определение способности к легкому биоразложению в морской воде. Вещества, достигающие порогового уровня в испытаниях, проводимых в соответствии с руководящим принципом 306 ОЭСР (> 70% устранения ХПК или > 60% теоретической потребности в кислороде), могут рассматриваться как легкоразлагаемые, так как способность к разложению обычно слабее в морской воде, чем в пресной.

3.3 *Природная биоразлагаемость*

3.3.1 Испытания природной биоразлагаемости предназначены для определения того, обладает ли данное вещество какой-либо способностью к биоразложению. В качестве примеров такого испытания можно привести руководящие принципы испытаний 304A–С ОЭСР, испытания С.9 и С.12 ЕС и испытание ASTM E 1625-94.

3.3.2 Основными условиями испытаний, способствующими оценке природной биоразлагаемости, являются:

- a) продолжительная экспозиция испытуемого вещества в инокуляте, делающая возможной адаптацию до истечения периода испытаний;
- b) высокая концентрация микроорганизмов;
- c) благоприятное соотношение вещество/биомасса.

3.3.3 Положительный результат по завершении испытания природной биоразлагаемости указывает на то, что испытуемое вещество не будет бесконечно долго сохраняться в окружающей среде, при этом нельзя рассчитывать на быстрое и полное биоразложение. Результат, показывающий минерализацию более чем на 70%, свидетельствует о способности к конечному биоразложению, разложение на более чем 20% указывает на природное, первичное биоразложение и результат, составляющий менее 20%, свидетельствует об устойчивости данного вещества. Таким образом, отрицательный результат означает предположительно отсутствие способности к биоразложению (предположительно устойчивое данное вещество) (OECD Test Guidelines).

3.3.4 Во многих испытаниях природной биоразлагаемости определяется лишь исчезновение испытуемого вещества. Такой результат служит доказательством лишь первичной биоразлагаемости, но не полной минерализации. Таким образом, могут быть образованы более или менее устойчивые продукты разложения. Первичное биоразложение вещества не служит признаком конечной разлагаемости в окружающей среде.

3.3.5 В испытаниях природного биоразложения применяется подход, сильно отличающийся от подхода, используемого в испытаниях легкого биоразложения; в частности, в испытании MITI II (OECD Test Guideline 302C) используется концентрация инокулята, которая лишь в три раза превышает концентрацию инокулята, применяемую в соответствующем испытании легкой биоразлагаемости MITI I (OECD Test Guideline 301C). Точно так же испытание Zahn-Wellens test (OECD Test Guideline 302B) является относительно "слабым" испытанием природной биоразлагаемости. Однако, хотя способность к разложению в этих испытаниях не намного сильнее способности к разложению, выявляемой в испытаниях легкой биоразлагаемости, их результаты не могут быть экстраполированы на условия испытаний легкой биоразлагаемости и в водной среде.

3.4 *Испытания методом моделирования водной среды*

3.4.1 При этом испытании моделируются биоразложения в определенной водной среде. В качестве примеров стандартных испытаний методом моделирования разложения в водной среде можно привести ISO/DS14592 Испытания методом встряхивания партии флаконов, содержащих поверхностную воду или суспензии поверхностная вода/отложения (Nyholm and Toräng, 1999),

испытание биоразложения ASTM E 1279-89(95) методом отмирания во встряхиваемом флаконе и похожее испытание OPPTS 835.3170. Такие методы испытания иногда называют проверкой на отмирание.

3.4.2 Особенности этих испытаний, которые гарантируют моделирование условий водной среды, являются:

- a) использование пробы природной воды (и отложения) в качестве инокулята; и
- b) низкая концентрация испытуемого вещества (1–100 мкг/л), обеспечивающая кинетику разложения первого порядка.

3.4.3 Для испытаний рекомендуется использовать меченые соединения, поскольку это облегчает определение конечного разложения. Если химическим анализом устанавливается лишь исчезновение испытуемого вещества, то определяется лишь первичная разлагаемость. Константу скорости разложения можно рассчитать, наблюдая кинетику разложения. Ввиду низкой концентрации испытуемого вещества предполагается, что преобладает кинетика разложения первого порядка.

3.4.4 Это испытание может также проводиться на природных отложениях с моделированием условий, существующих в этой среде. Кроме того, можно определить небактериальное разложение в условиях проведения испытаний путем стерилизации пробы.

3.5 *Испытания методом моделирования станций очистки сточных вод*

Имеются также испытания, позволяющие моделировать разлагаемость в станции очистки сточных вод, например Руководящий принцип 303А ОЭСР (Испытание в спаренной установке), испытание ISO 11733 (испытание методом моделирования активного ила) и испытание С.10 ЕС. Совсем недавно было предложено новое испытание методом моделирования, в котором используются слабые концентрации органических загрязнителей (Nyholm et. al., 1996).

3.6 *Способность к анаэробному разложению*

3.6.1 Методы испытаний анаэробной биоразлагаемости позволяют определить естественную способность испытуемого вещества подвергаться биоразложению в анаэробных условиях. Примерами таких испытаний являются ISO 11734:1995(E), ASTM E 1196-92 и OPPTS 835.3400.

3.6.2 Способность к анаэробному разложению определяется в течение промежутка времени до восьми недель при следующих условиях:

- a) проведение испытания в закрытых сосудах при отсутствии O_2 (первоначально в чистой атмосфере N_2);
- b) использование перегнившего ила;
- c) проведение испытания при температуре $35^\circ C$; и
- d) определение давления газа в свободном пространстве над продуктом (образование CO_2 и CH_4).

3.6.3 Конечное разложение определяется путем определения газообразования. Однако можно также определить первичное разложение путем измерения оставшегося исходного вещества.

3.7 *Разложение в почве и отложениях*

3.7.1 Многие вещества попадают в конечном счете в почву или отложения, и поэтому может иметь важное значение оценка их разлагаемости в этих средах. В качестве стандартных методов испытаний можно упомянуть Руководящий принцип 304А ОЭСР в отношении определения природной биоразлагаемости в почве, который соответствует испытанию OPPTS 835.3300.

3.7.2 Особенности испытаний, позволяющими определить природную разлагаемость в почве, являются:

- a) использование проб естественной почвы, без дополнительного инокулята;
- b) использование меченого испытуемого вещества; и
- c) определение изменения меченого CO₂.

3.7.3 Стандартным методом определения биоразложения в отложениях является испытание OPPTS 835.3180 Sediment/water microcosm biodegradation (тестирование биоразложения в микрокосме отложения/вода). С контрольных участков собираются микрокосмы, содержащие отложения и воду, и в систему вводятся испытуемые соединения. Измеряется исчезновение исходного соединения (т.е. первичное биоразложение) и, если это практически возможно, появление метаболитов или конечное биоразложение.

3.7.4 В настоящее время готовятся два новых руководящих принципа ОЭСР – об аэробном и анаэробном превращении в почве (OECD Test Guideline 1996b) и в системах водных отложений (OECD Test Guideline 1996a), соответственно. Цель этих экспериментов состоит в том, чтобы определить скорость превращения испытуемого вещества, а также природу и скорость образования и исчезновения продуктов превращения. В зависимости от аналитического метода, используемого для слежения превращения испытуемого вещества, можно определить полную минерализацию или первичную разлагаемость.

3.8 *Методы оценки биоразлагаемости*

3.8.1 За последние годы были разработаны методы оценки особенностей поведения веществ в окружающей среде, в частности методы прогнозирования способности органических веществ к биоразложению (например, Syracuse Research Corporation's Biodegradability Probability Program, BLOWIN) (Программа определения вероятной биоразлагаемости, созданная Сиракузской исследовательской корпорацией). Экспертизы этих методов были проведены ОЭСР (1993 год) и Лангенбергом и др. (1996 год). Они показывают, что методы групповых вкладов являются наиболее эффективными. Из этих методов наиболее широко применяется, по-видимому, программа вероятного биоразложения (BLOWIN). Она дает качественную оценку вероятности медленного или быстрого биоразложения в присутствии смешанной популяции микроорганизмов, встречающихся в окружающей среде. Применимость этой программы была оценена в рамках совместного проекта по оценке (К)ЗСА ЮСЕПА/ЕС (OECD, 1994), а также Педерсеном и др. (1995 год). Эта последняя оценка кратко рассматривается ниже.

3.8.2 Среди данных испытаний MITI (1992 год) был выбран набор экспериментально установленных данных о биоразложении, исключая вещества, в отношении которых не имелось достаточно точных данных о разложении, и вещества, уже использовавшиеся для разработки программы. Этот набор подтверждающих данных состоял из 304 веществ. Биоразлагаемость этих веществ рассчитывалась на основе нелинейного (наиболее достоверного) модуля этой программы, и результаты были сопоставлены с измеренными данными. "Быстрая" разлагаемость была предсказана для 162 веществ, но только 41 (25%) вещество были действительно способны к легкому разложению по данным испытания MITI I. Было также предсказано, что 142 вещества будут разлагаться "медленно", и этот прогноз подтвердился в отношении 138 веществ (97%), которые, по данным испытания MITI I, не способны к легкому разложению. Таким образом, был сделан вывод о том, что

эта программа может использоваться для целей классификации лишь в том случае, если не могут быть получены экспериментальные данные о разложении и если программа предсказывает "медленное" разложение вещества. В этом случае вещество может рассматриваться как неспособное к легкому разложению.

3.8.3 Тот же вывод был сделан в отношении совместного проекта об оценке (К)ЗСА ЮСЕПА/ЕС на основе использования экспериментальных данных и данных типа КЗСА, касающихся новых веществ, которые были зарегистрированы в ЕС. Оценка основывалась на анализе прогнозов, сделанных на основе КЗСА в отношении 115 новых веществ, которые прошли также испытания на определение легкой биоразлагаемости. Были способны к легкому биоразложению лишь 9 веществ, включенных в этот анализ. Используемая методология КЗСА не полностью приведена в заключительном докладе по совместному проекту ЮСЕПА/ЕС (ОЕСД, 1994), но, вероятно, большинство прогнозов были сделаны с помощью методов, которые позднее были включены в программу определения вероятного биоразложения.

3.8.4 Кроме того, в техническом руководстве ЕС (ЕС, 1996) рекомендуется осторожно использовать данные биоразлагаемости, рассчитанные с помощью программы определения вероятного биоразложения, так как если эта программа предсказывает быстрое биоразложение, то этот результат не следует принимать во внимание, тогда как в расчет может приниматься прогноз в отношении медленного биоразложения (ЕС, 1996).

3.8.5 Таким образом, благодаря осторожному использованию результатов, полученных с помощью программы определения вероятного биоразложения, можно удовлетворить потребности в области оценки биоразлагаемости некоторых из очень многочисленных веществ, по которым не имеется экспериментальных данных о разложении.

Приложение 9

ДОПОЛНЕНИЕ II

Факторы, влияющие на разлагаемость в водной среде

1. Введение

1.1 Критериями классификации ОЭСР предусматриваются лишь виды опасности для водной среды. Однако классификация видов опасности основана, главным образом, на данных, полученных во время испытаний, проводимых в лабораторных условиях, которые лишь в редких случаях совпадают с условиями, существующими в окружающей среде. Таким образом, для предсказания видов опасностей для водной среды следует принимать в расчет интерпретацию данных, полученных в результате лабораторных испытаний.

1.2 Интерпретация данных, полученных в результате испытаний органических веществ на биоразлагаемость, была подробно изучена ОЭСР (OECD, 1995).

1.3 Условия, наблюдаемые в окружающей среде, обычно сильно отличаются от условий стандартных систем для проведения испытаний, и это затрудняет экстраполирование на окружающую среду данных о разложении, полученных в результате лабораторных испытаний. Среди этих различий значительное воздействие на разлагаемость оказывают следующие аспекты:

- a) факторы, относящиеся к организмам (присутствие компетентных микроорганизмов);
- b) факторы, относящиеся к субстрату (концентрация вещества и присутствие других субстратов); и
- c) факторы, относящиеся к окружающей среде (физико-химические условия, присутствие питательных веществ, бионакопление вещества).

Эти аспекты более подробно обсуждаются ниже.

2. Присутствие компетентных микроорганизмов

2.1 Биоразложение в водной среде зависит от присутствия достаточного количества компетентных микроорганизмов. Природные микробные сообщества состоят из весьма различной биомассы, и, когда вводится "новое" вещество в достаточно высокой концентрации, биомасса может приспособиться к разрушению этого вещества. Часто приспособление микробной популяции вызвано ростом числа определенных разлагателей, которые по своей природе компетентны разрушить это вещество. Однако могут происходить и другие процессы, такие как воздействие ферментов, обмен генетическим материалом и развитие устойчивости к токсичности.

2.2 Приспособление происходит во время латентной фазы, которая соответствует промежутку времени между началом воздействия и началом значительного разложения. Представляется очевидным, что продолжительность латентной фазы будет зависеть от первоначального присутствия компетентных разлагателей. Это присутствие будет, в свою очередь, зависеть от "истории" микробного сообщества, т.е. от того, подвергалось ли это сообщество ранее воздействию со стороны этого вещества. Это означает, что если в течение ряда лет повсеместно использовалась и обнаруживалась в выбросах в окружающую среду ксенобиотическое вещество, то возрастает вероятность нахождения компетентных разлагателей. Это особенно верно для сред, принимающих выбросы, как, например, станции биологической очистки сточных вод. Часто более надежные результаты разложения получают с помощью испытаний, в которых использовались инокуляты из загрязненных, а не из чистых вод (OECD, 1995; Nyholm and Ingerslev, 1997).

2.3 Сопоставимость способности к адаптации в водной среде со способностью к адаптации в лабораторных испытаниях определяется рядом факторов. В частности, приспособляемость зависит от:

- a) первоначального числа компетентных разлагающих организмов в биомассе (доля и число);
- b) присутствия поверхностей для фиксации;
- c) концентрации и наличия субстрата; и
- d) присутствия других субстратов.

2.4 Продолжительность латентной фазы зависит от первоначального числа компетентных разлагающих организмов и, в случае токсичных веществ, от их выживания и восстановления. Для стандартных испытаний легкой биоразлагаемости инокулят отбирается на станциях очистки сточных вод. Так как количество загрязняющих веществ обычно выше, чем в окружающей среде, то доля и количество компетентных разлагающих организмов, возможно, будут выше, чем в менее загрязненной водной среде. Однако трудно определить, насколько латентная фаза в водной среде превысит латентную фазу в лабораторном испытании в силу, вероятно, меньшего первоначального числа компетентных разлагателей.

2.5 Что касается длительных периодов, то первоначальная концентрация компетентных разлагателей не имеет большого значения, так как число этих разлагающих организмов будет расти в присутствии достаточной концентрации соответствующего субстрата. Однако, если интерес представляет разлагаемость за короткий промежуток времени, то следует учитывать первоначальную концентрацию компетентных разлагающих микроорганизмов (Scow, 1982).

2.6 Присутствие хлопьевидных осадков, агрегатов и прикрепленных микроорганизмов также может усилить адаптацию, например, путем развития микробных ниш, вмещающих в себя комбинированные популяции микроорганизмов. Это явление имеет важное значение при рассмотрении способности этих микроорганизмов к адаптации в различных средах, таких как станции очистки сточных вод, отложения или почва. Однако общее число микроорганизмов в испытаниях быстрой биоразлагаемости и в водной среде – одинакового порядка величины: 10^4 – 10^8 клеток/миллилитр в испытаниях быстрой биоразлагаемости и 10^3 – 10^6 клеток/миллилитр или более в поверхностных водах (Scow, 1982). Поэтому этот фактор, вероятно, не имеет большого значения.

2.7 При обсуждении вопроса об экстраполяции на условия окружающей среды может оказаться полезным проведение различия между олиготрофными и эвтрофными средами. Микроорганизмы, активно растущие в олиготрофных условиях, способны минерализовать органические субстраты при слабых концентрациях (доли мг углерода/л) и у них обычно большее сродство с субстратом, но меньше скорость роста и более длительное время жизни поколения по сравнению с эвтрофными организмами (OECD, 1995). Кроме того, олиготрофные популяции не способны разлагать химические вещества при концентрациях, превышающих 1 мг/л, и могут даже быть ингибированы при высоких концентрациях. Эвтрофные популяции, напротив, требуют более высоких концентраций субстрата, прежде чем начнется минерализация, и они разрастаются при более высоких концентрациях, чем олиготрофные популяции. Поэтому нижний порог разложения в водной среде будет зависеть от олиготрофного или эвтрофного характера микробной популяции. Не ясно, однако, состоят ли олиготрофные и эвтрофные популяции из различных видов или существуют лишь два образа жизни – олиготрофный и эвтрофный (OECD, 1995). Большинство загрязняющих веществ попадают в водную среду непосредственно со сбросом сточных вод, и, следовательно, эти принимающие среды являются в основном эвтрофными.

2.8 Из вышеизложенного можно сделать вывод о том, что вероятность присутствия компетентных разлагающих организмов наиболее высока в средах, подверженных сильному воздействию, т.е. в средах, постоянно принимающих вещества (что более часто происходит в случае веществ, производимых в больших количествах, по сравнению с веществами, производимыми в малых количествах). Эти окружающие природные среды часто бывают эвтрофными, и поэтому для разложения, чтобы оно началось, могут потребоваться относительно высокие концентрации веществ. С другой стороны, в чистых водах может не быть компетентных видов, в частности видов, способных разлагать химические вещества, выбросы которых в окружающую среду происходят лишь эпизодически, например химические вещества, производимые в незначительных количествах.

3. Факторы, относящиеся к субстрату

3.1 Концентрация испытуемого вещества

3.1.1 В большинстве лабораторных испытаний испытуемое вещество вводится в очень больших концентрациях (2–100 мг/л) по сравнению с более низкими концентрациями, порядка мкг/л, которые, как предполагается, встречаются в водной среде. Как правило, рост микроорганизмов не обеспечен, когда субстрат присутствует в концентрациях ниже порогового значения, равного приблизительно 10 мкг/л, а при более низких концентрациях не удовлетворяются даже потребности в энергии, необходимой для поддержания популяции (OECD, 1995). Такое низкое пороговое значение объясняется, возможно, отсутствием стимула, достаточного для начала ферментативного действия (Scow, 1982). Обычно это означает, что концентрации многих веществ в водной среде являются такими, что эти вещества могут лишь с трудом стать первичным субстратом для разлагающих микроорганизмов.

3.1.2 Кроме того, кинетика разложения зависит от концентрации вещества (S_0) по сравнению с константой насыщения (K_s), как это описано в уравнении Моно. Константа насыщения – это концентрация субстрата, при которой наблюдается удельная скорость роста, составляющая 50% от максимальной удельной скорости роста. При концентрациях субстрата, которые гораздо ниже константы насыщения, что является обычной ситуацией во многих водных средах, разложение может быть описано кинетикой первого порядка или логистической кинетикой (OECD, 1995). При низкой плотности микроорганизмов (ниже 10^3 – 10^5 клеток/мл), например в олиготрофных водах, популяция растет с постоянно уменьшающейся скоростью, что характерно для логистической кинетики. При более высокой плотности микроорганизмов (например, в эвтрофных водах) концентрации субстрата недостаточно для обеспечения роста клеток и применяется кинетика первого порядка, т.е. скорость разложения пропорциональна концентрации вещества. На практике может оказаться невозможным проведение различия между этими двумя типами кинетики разложения в силу неопределенности в отношении данных (OECD, 1995).

3.1.3 В заключение необходимо отметить, что вещества, присутствующие в слабых концентрациях (т.е. ниже 10 мкг/л), вероятно, не разлагаются как первичные субстраты в водной среде. При более высоких концентрациях легко разлагаемые вещества будут, вероятно, разлагаться как первичные субстраты в окружающей среде со скоростью, которая более или менее пропорциональна концентрации данного вещества. Разложение веществ как вторичных субстратов рассматривается ниже.

3.2 Присутствие других субстратов

3.2.1 При стандартных испытаниях испытуемое вещество вводится в качестве единственного субстрата для микроорганизмов, тогда как в окружающей среде присутствует большое число других субстратов. В природных водах часто обнаруживаются концентрации растворенного органического углерода в диапазоне от 1 до 10 мг С/л, т.е. максимум в 1 000 раз выше, чем концентрация загрязнителя. Однако большая часть этого органического углерода относительно устойчива, причем доля устойчивого вещества возрастает по мере удаления от берега.

3.2.2 Бактерии, обитающие в природных водах, питаются, главным образом, веществами, выделяемыми водорослями. Эти вещества минерализуются очень быстро (в течение нескольких минут), что свидетельствует о высокой способности к разложению в природных сообществах микроорганизмов. Так, поскольку микроорганизмы соперничают с различными субстратами в природных водах, то среди микроорганизмов существует давление отбора, приводящее к росту числа условно патогенных видов, способных питаться быстро минерализуемыми субстратами, и при этом сдерживается рост более специализированных видов. Опыт изолирования бактерий, способных разлагать различные ксенобиотики, показал, что эти организмы часто растут относительно медленно и выживают благодаря комплексным источникам углерода, соперничая с более быстро растущими бактериями. Когда в окружающей среде присутствуют компетентные микроорганизмы, их число может расти, если определенный ксенобиотический субстрат высвобождается постоянно и достигает в окружающей среде концентрации, которая достаточна для поддержания роста. Однако большинство органических загрязнителей присутствуют в окружающей среде при слабых концентрациях и будут разлагаться лишь как вторичные субстраты, не поддерживая роста.

3.2.3 С другой стороны, присутствие быстро минерализуемых субстратов в больших концентрациях может способствовать начальной стадии трансформации ксенобиотической молекулы за счет ко-метаболизма. Тогда ко-метаболизированное вещество может быть подвергнуто дальнейшему разложению и минерализации. Таким образом, благодаря присутствию других субстратов могут возрасти возможности для разложения данного вещества.

3.2.4 Итак, можно сделать вывод о том, что присутствие в природных водах различных субстратов и, среди них, быстро минерализуемых субстратов может, с одной стороны, вызвать давление отбора, сдерживая рост компетентных микроорганизмов, способных разлагать загрязняющие микроорганизмы. С другой стороны, оно может облегчить разложение, усиленное начальной стадией ко-метаболизма, за которой последует дальнейшая минерализация. Относительная важность этих процессов в естественных условиях может меняться в зависимости как от условий окружающей среды, так и от вещества, и какое-либо обобщение пока невозможно.

4. Факторы, относящиеся к окружающей среде

4.1 Параметры окружающей среды регулируют скорее общую микробную деятельность, чем конкретные процессы разложения. Однако значимость этого влияния варьируется в зависимости от различных экосистем и различных видов микроорганизмов (Scow, 1982).

4.2 Редокспотенциал

Одним из важнейших факторов окружающей среды, влияющих на разлагаемость, является, вероятно, присутствие кислорода. Содержание кислорода и связанный с ним редокспотенциал определяют присутствие различных типов микроорганизмов в водных средах, причем аэробные организмы присутствуют в водной фазе, в верхнем слое отложений и в некоторых зонах станций очистки сточных вод, а анаэробные организмы – в отложениях и в других зонах станций очистки. В большей части водной фазы преобладают аэробные условия, и поэтому прогноз биоразлагаемости должен основываться на результатах испытаний в аэробных условиях. Однако в некоторых водных средах содержание кислорода может быть очень низким в определенные времена года из-за эвтрофикации и последующего разложения образованных органических веществ. В это время аэробные организмы будут не в состоянии разлагать химический продукт, но эту функцию могут взять на себя анаэробные процессы, если рассматриваемый химический продукт способен разлагаться в анаэробных условиях.

4.3 *Температура*

Другим важным параметром является температура. Большинство лабораторных испытаний проводятся при температуре 20–25°C (стандартные испытания легкой биоразлагаемости в аэробных условиях), но в анаэробных условиях испытания могут проводиться при 35°C – температуре, которая лучше имитирует условия в реакторе со слоем ила. Микробная деятельность в окружающей среде обнаруживается при температурах в диапазоне от ниже 0°C до 100°C. Однако оптимальные температуры лежат, вероятно, в диапазоне от 10°C до 30°C, и внутри этого температурного интервала скорость разложения удваивается, ориентировочно, через каждые 10°C (de Nappau, 1993). За пределами этого оптимального интервала деятельность разлагающих организмов значительно сокращается, хотя некоторые специальные виды (термо- и психофильные бактерии) могут процветать. При экстраполяции лабораторных условий следует учитывать, что некоторые водные среды покрыты льдом несколько месяцев в году и что если и можно рассчитывать на разложение в зимнее время, то лишь на незначительное.

4.4 *pH*

Активные микроорганизмы можно обнаружить во всем диапазоне pH, встречаемом в окружающей среде. Однако деятельности популяции бактерий способствуют слегка щелочные условия, и поэтому оптимальный водородный показатель лежит в диапазоне 6–8. При pH ниже 5 метаболическая активность бактерий заметно снижается. Деятельности грибов в целом способствуют слегка кислые условия, и поэтому оптимальное значение pH соответствует 5–6 (Scow, 1982). Таким образом, оптимальные условия для деятельности микроорганизмов по разложению химических веществ будут, вероятно, соответствовать значениям 5–8 pH, т.е. диапазону, наиболее часто встречающемуся в водной среде.

4.5 *Присутствие питательных веществ*

Присутствие неорганических питательных веществ (азота и фосфора) часто необходимо для микробного роста. Однако эти питательные вещества лишь редко становятся факторами, ограничивающими деятельность микроорганизмов в водной среде, где рост микроорганизмов часто ограничивается субстратом. Однако присутствие питательных элементов влияет на рост первичных продуцентов и, опять-таки, на наличие экссудатов, подверженных легкой минерализации.

Приложение 9

ДОПОЛНЕНИЕ III

Основные принципы экспериментальных методов и расчета для определения КБК и K_{ow} органических веществ

1. Коэффициент биоконцентрации (КБК)

1.1 Определение

Коэффициент биоконцентрации определяется как соотношение между концентрацией химической продукции в биоте и его концентрацией в окружающей среде, в данном случае в воде, в стационарном состоянии. КБК может быть измерен непосредственно опытным путем, в стационарном состоянии, или быть рассчитан как соотношение между кинетическими константами поглощения и удаления первого порядка – метод, который не требует достижения состояния равновесия.

1.2 Соответствующие методы для экспериментального определения КБК

1.2.1 Были изучены и приняты различные руководящие принципы испытаний, имеющие целью определение опытным путем биоконцентрации у рыбы; из них наиболее широко применяются руководящий принцип ОЭСР (OECD 305, 1996) и стандартное руководство ASTM (ASTM E 1022-94). Руководящий принцип 305 ОЭСР (1996 год) является пересмотренным документом, который заменил предыдущую версию – OECD 305A-E (1981). Хотя предпочтение отдается проточным режимам (OECD 305, 1996), допускаются статические режимы с обновлением воды (ASTM E 1022-94), при условии соблюдения критериев достоверности, относящихся к гибели и поддержанию условий проведения испытания. В случае липофильных веществ ($\log K_{ow} > 3$) предпочтение следует отдавать проточным методам испытания.

1.2.2 Руководящие принципы ОЭСР (305) и ASTM схожи, но в них описываются различные условия проведения эксперимента, в частности в отношении:

- a) метода подачи воды, необходимой для проведения испытания (статический, статистический с обновлением воды или проточный);
- b) необходимости проведения исследования очистки;
- c) математического метода, используемого для расчета КБК;
- d) периодичности отбора проб: число измерений в воде и число проб рыбы;
- e) необходимости измерения содержания жиров в рыбе;
- f) минимальной продолжительности фазы поглощения.

1.2.3 В общем плане испытания включают две фазы: фазу воздействия (поглощения) и фазу поствоздействия (очистки). Во время фазы поглощения две отдельные группы рыб, относящихся к одному виду, подвергаются воздействию по меньшей мере двух концентраций испытуемого вещества. Обязательна 28-суточная фаза воздействия, если только до истечения этого периода не будет достигнуто стационарное состояние. Время, необходимо для достижения стационарного состояния, можно определить на основе соотношения между K_{ow} и k_2 (например, $\log k_2 = 1,47 - 0,41 \log K_{ow}$ (Spacie and Hamelink, 1982) или $\log k_2 = 1,69 - 0,53 \log K_{ow}$ (Globas *et al.*, 1989)). Предполагаемое время (d), необходимое для достижения 95% стационарного состояния, может быть, таким образом, рассчитано

с помощью формулы $-\ln(1 - 0,95)/k_2$, при условии, что биоконцентрация имеет кинетику первого порядка. На фазе очистки рыба переводится в среду, свободную от испытуемого вещества. За изменением концентрации испытуемого вещества в рыбе следят на обеих фазах испытания. КБК выражается как функция общего живого веса рыбы. Для многих органических веществ существует четкая взаимосвязь между их способностью к биоконцентрации и их липофильностью, и, кроме того, существует аналогичная взаимосвязь между содержанием жиров в рыбе и наблюдаемой биоконцентрацией таких веществ. Поэтому, чтобы уменьшить этот источник изменчивости результатов испытаний в высокой степени липофильных веществ, биоконцентрацию следует соотносить не только с общей живой массой, но также и с содержанием жиров (OECD 305 (1996), ESEATOC (1995)). Упомянутые руководящие принципы основаны на том предположении, что биоконцентрация может быть приблизительно представлена реакцией первого порядка (однокамерная модель) и что, таким образом, $\text{КБК} = k_1/k_2$ (k_1 – скорость поглощения первого порядка, k_2 – скорость выведения первого порядка, которые характеризуются прямо пропорциональной аппроксимацией). Если выведение подчиняется двухфазной кинетике, т.е. если можно установить две отдельные скорости выведения, аппроксимация k_1/k_2 может значительно снизить КБК. Если установлена кинетика второго порядка, КБК может быть рассчитан на основе отношения $C_{\text{рыба}}/C_{\text{вода}}$, при условии, что было достигнуто "стационарное состояние" для системы рыба–вода.

1.2.4 Помимо подробной информации, касающейся подготовки и хранения проб, необходимо располагать, для определения количества вещества в стандартном растворе и в биоматериале, соответствующим аналитическим методом известной точности и чувствительности. Если эти элементы отсутствуют, невозможно определить истинный КБК. Использование меченого испытуемого вещества может облегчить анализ проб воды и рыбы. Однако измерение общей радиоактивности, если только оно не будет сочетаться с конкретным аналитическим методом, может отражать одновременно присутствие исходного вещества, одного или нескольких возможных метаболитов и, возможно, метаболизированного углерода, которые были включены в органические молекулы тканей рыбы. Для определения истинного значения КБК весьма важно проводить четкое различие между исходным веществом и возможными метаболитами. Если в испытании используются меченые материалы, то можно дозировать общую изотопную метку (т.е. исходное вещество и метаболит) или очистить пробы таким образом, чтобы можно было отдельно анализировать исходное соединение.

1.2.5 Если $\log K_{ow}$ превышает 6, измеренные значения КБК имеют тенденцию к уменьшению при увеличении $\log K_{ow}$. Теоретически эта нелинейность объясняется, главным образом, снижением кинетики проникновения через мембраны или уменьшением растворимости биологических жиров для крупных молекул. К другим факторам относятся экспериментальные артефакты, такие как недостигнутое равновесие, снижение биоаккумуляции в результате сорбции органических веществ в водной фазе и аналитические ошибки. Кроме того, следует осторожно оценивать экспериментальные данные о КБК веществ, имеющих $\log K_{ow}$ выше 6, так как эти данные будут отличаться гораздо более высоким уровнем неточности по сравнению со значениями КБК, определенными для веществ, имеющих $\log K_{ow}$ ниже 6.

2. $\log K_{ow}$

2.1 *Определение и общие соображения*

2.1.1 Логарифм коэффициента распределения октанол-1/вода ($\log K_{ow}$) является мерой измерения липофильности вещества. В качестве такового $\log K_{ow}$ является ключевым параметром в прогнозе состояния окружающей среды. $\log K_{ow}$ регулирует многие процессы распределения, например поглощение в почве и отложениях и биоконцентрацию в организмах.

2.1.2 Взаимозависимость между биоконцентрацией и $\log K_{ow}$ основана на аналогии процесса распределения между жировой фазой рыбы и водой и процесса распределения между октанолом-1 и водой. Использование K_{ow} обосновано способностью октанола удовлетворительно выступать в

качестве заменителя жиров в тканях рыбы. Существует весьма тесная взаимозависимость между $\log K_{ow}$ и растворимостью веществ в рыбьем жире и триолеином (Niimi, 1991). Триолеин является одним из триацилглицеролов, наиболее часто встречающихся в жирах пресноводной рыбы (Henderson and Tocher, 1987).

2.1.3 Определение коэффициента распределения октанол-1/вода (K_{ow}) требуется для составления базового набора данных, представляемых во время регистрации внутри ЕС новых веществ и существующих веществ, борьба с загрязнением которыми требует первоочередных мер. Поскольку K_{ow} не всегда удается определить опытным путем, например в случае хорошо растворимых в воде веществ и очень липофильных веществ, то можно использовать значение K_{ow} , определенное на основе КЗСА. Однако следует проявлять крайнюю осторожность при использовании КЗСА в случае веществ, для которых невозможно определить коэффициент распределения опытным путем (например, сурфактанты).

2.2 *Соответствующие методы экспериментального определения значений K_{ow}*

2.2.1 Для экспериментального определения значений K_{ow} описаны два различных метода – метод встряхивания во флаконе и ВЖЭХ – в стандартных руководящих принципах, например OECD 107 (1995); OECD 117 (1983); ЕЕС А.8 (1992); EPA-OTS (1982); EPA-FIFRA (1982); ASTM (1993). Данные, полученные методом встряхивания во флаконе и методом ВЖЭХ, в соответствии со стандартными руководящими принципами не являются единственно рекомендуемыми данными. Для в высокой степени липофильных веществ, которые медленно растворяются в воде, более достоверными являются обычно данные, полученные с помощью метода медленного перемешивания (De Bruijn *et al.*, 1989; Tolls and Sijm, 1993; OECD draft Guideline, 1998). Метод медленного перемешивания проходит в настоящее время круговое испытание с целью разработки окончательного руководящего принципа ОЭСР.

2.2.2 *Метод встряхивания во флаконе*

Основной принцип этого метода состоит в измерении растворения вещества в двух различных фазах – в воде и *n*-октаноле. Чтобы определить коэффициент распределения, должно быть достигнуто равновесие между всеми взаимодействующими компонентами систем, после чего определяется концентрация веществ, растворенных в двух фазах. Метод встряхивания во флаконе применяется, когда значения $\log K_{ow}$ находятся в диапазоне от –2 до 4 (OECD 107, 1995). Метод встряхивания во флаконе применяется только к практически чистым веществам, растворимым в воде и октаноле-1 и должен выполняться при постоянной температуре ($\pm 1^\circ\text{C}$) от 20°C до 25°C .

2.2.3 *Метод ВЭЖХ*

Метод ВЭЖХ выполняется на аналитических колонках, заполненных имеющейся в продаже твердой фазой с длинной углеводородной цепью (например, C_8 , C_{18}), химически связанными на двуокиси кремния. Химические вещества, введенные в такую колонку, перемещаются с различными скоростями, обусловленными различными степенями распределения, и между подвижной водной фазой и неподвижной углеводородной фазой. Метод ВЭЖХ не применяется к сильным кислотам и основаниям, комплексным соединениям металла, поверхностно активным материалам или веществам, реагирующим с растворителем. Метод ВЭЖХ применяется, когда значения $\log K_{ow}$ находятся в диапазоне 0-6 (OECD 117, 1989). Метод ВЭЖХ менее чувствителен к примесям в испытуемом соединении по сравнению с методом встряхивания флакона.

2.2.4 *Метод медленного перемешивания*

Метод медленного перемешивания позволяет точно и аккуратно определить K_{ow} , у которых $\log K_{ow}$ доходит до 8,2 (De Bruijn *et al.*, 1989). В случае высоко липофильных соединений метод встряхивания во флаконе имеет тенденцию вызывать артефакты (образования микрокапелек), а метод ВЭЖХ требует экстраполирования за пределами диапазона значений, используемых при проверке для расчета K_{ow} .

Чтобы определить коэффициент распределения, вода, октанол-1 и испытуемое соединение приводятся в равновесие друг с другом, после чего определяется концентрация испытуемого соединения в обеих фазах. Экспериментальные трудности, связанные с образованием микрокапелек во время встряхивания во флаконе, можно в некоторой степени преодолеть с помощью метода медленного перемешивания, в котором вода, октанол и испытуемое соединение приводятся в равновесие в реакционном аппарате, в котором они медленно перемешиваются. Перемешивание создает более или менее ламинарное течение между октанолом и водой, а также улучшает обмен между фазами без образования микрокапелек.

2.2.5 *Метод лабораторной колонки*

Еще одним гибким способом измерения $\log K_{ow}$ является метод лабораторной колонки. При этом методе используется колонка для распределения испытуемого вещества между фазой октанола и водной фазой. В колонку вводится твердофазный носитель, который пропитывается установленной концентрацией испытуемого вещества в октанол-1. Испытуемое вещество извлекается из пропитанной октанолом колонки с помощью воды, выходящей из колонки водный раствор представляет собой равновесную концентрацию испытуемого вещества, которое было распределено между фазой октанола и водной фазой. Главным преимуществом метода лабораторной колонки по сравнению с требованием встряхивания во флаконе является то, что он позволяет полностью избежать образования микроэмульсий. Поэтому этот метод особенно полезен при измерении K_{ow} веществ, для которых $\log K_{ow}$ превышает 4,5 (Doucette and Andren, 1987 and 1988; Shiu *et al.*, 1988), а также веществ, у которых $\log K_{ow}$ составляет ниже 4,5. Одним из недостатков метода лабораторной колонки является то, что он требует сложного оборудования. Подробное описание метода лабораторной колонки содержится в ("Toxic Substances Control Act Test Guidelines") (Закон о контроле за токсичными веществами: Руководящие принципы) (USEPA 1985).

2.3 *Использование КЗСА для определения $\log K_{ow}$* (см. также "Использование КЗСА" в главе А9.6)

2.3.1 Для расчета K_{ow} разработаны и продолжают разрабатываться многочисленные КЗСА. Широко используемые методы основаны на фрагментах константах. В основе фрагментарных подходов лежит обыкновенное суммирование липофильности отдельных осколков данной молекулы. Ввиду отсутствия данных, установленных экспериментальным путем, в части III технического руководства Европейской комиссии, касающегося оценки рисков (European Commission, 1996), рекомендуются три компьютерные программы, которые имеются в продаже.

2.3.2 Программа CLOGP (Daylight Chemical Information Systems, 1995) была первоначально разработана для использования в области создания новых лекарственных препаратов. Эта модель основана на методике вычислений Ханша и Лео (Hansch and Leo, 1979). Эта программа рассчитывает $\log K_{ow}$ для органических соединений, содержащих C, H, N, O, Hal, P и/или S. Невозможно рассчитать $\log K_{ow}$ для солей и веществ, содержащих определенные примеси (за исключением нитросоединений и оксидов азота). Результаты расчета $\log K_{ow}$ для ионизирующих соединений, таких как фенолы, амины и карбоновые кислоты, отражают нейтральную или неионизированную форму и зависят от водородного показателя pH. В большинстве случаев эта программа позволяет сделать четкие расчеты в диапазоне $\log K_{ow}$ между 0 и 5 (European Commission, 1996, part III). Однако анализ беспристрастности, выполненный в 1993 году Ниемелой, который сравнил значения $\log K_{ow}$, определенные опытным путем, с расчетными значениями, показал, что программа позволяет точно прогнозировать $\log K_{ow}$ для большого числа органических веществ, у которых $\log K_{ow}$ может составлять ниже 0 до выше 9 ($n = 501$, $r^2 = 0,967$). В аналогичном анализе беспристрастности, проведенном в отношении более 7 000, результаты получены с помощью программы CLOGP (версия PC 3.32, версия EPA 1.2) составили $r^2 = 0,89$, стандартное отклонение = 0,58, $n = 7 221$. Эти подтверждения правильности результатов показывают, что программа CLOGP может использоваться для вычисления достоверных значений $\log K_{ow}$, когда не имеется экспериментальных данных. В случае хелатных соединений и биологически активных веществ (ПАВ) программа CLOGP, как считается, обеспечивает лишь ограниченную достоверность данных (OECD, 1993). Однако что касается анионных ПАВ, был предложен метод корректировок для оценки скорректированных значений CLOGP (Roberts, 1989).

2.3.3 В программе LOGKOW или KOWWIN (Syracuse Research Corporation) используются структурные фрагменты и поправочные коэффициенты. С помощью этой программы рассчитывается $\log K_{ow}$ для органических соединений, содержащих атомы С, Н, N, О, галогены, Si, P, Se, Li, Na, К и/или Hg. Она позволяет также вычислить $\log K_{ow}$ для соединений, содержащих определенные примеси (такие, как оксиды азота и нитросоединения). Расчет $\log K_{ow}$ для ионизирующихся веществ, таких как фенолы, амины и карбоновые кислоты, отражает нейтрально или неионизированную форму, и поэтому его значения будут зависеть от водородного показателя pH. Программа LOGKOW может давать прогнозы по некоторым сурфактантам (например, этоксилатам спиртов (Tolls, 1998), красящим веществам и дисуцированным веществам) (Pedersen *et al.* 1995). В большинстве случаев эта программа позволяет получить четкие расчеты в диапазоне значений $\log K_{ow}$ от 0 до 9 (TemaNord 1995:581). Как и программа CLOGP программа LOGKOW была подтверждена (таблица 2), и она рекомендуется для целей классификации в силу надежности, наличия в продаже и удобства в использовании.

2.3.4 Программа AUTOLOGP (Devillers *et al.*, 1995) была создана на основе набора неоднородных данных по 800 органическим веществам, которые были собраны из печатных материалов. Эта программа позволяет рассчитать значения $\log K_{ow}$ для органических химикатов, содержащих С, Н, N, Hal, Р и S. Она не может производить эти расчеты для солей. Расчет $\log K_{ow}$ также невозможен для некоторых соединений, содержащих определенные примеси, за исключением нитросоединений. Могут быть вычислены значения $\log K_{ow}$ для ионизирующихся химических веществ, таких как фенолы, амины и карбоновые кислоты, хотя следует отметить зависимость этих значений от pH. В настоящее время разрабатываются усовершенствования с целью расширения области применения программы AUTOLOGP. Согласно имеющимся в настоящее время данным, программа AUTOLOGP позволяет получить достоверные значения, особенно в отношении чрезвычайно липофильных веществ ($\log K_{ow} > 5$) (European Commission, 1996).

2.3.5 Модель SPARC еще находится в стадии разработки в лаборатории изучения окружающей среды Управления по охране окружающей среды США, расположенной в городе Афины, штат Джорджия, и еще не доступна общественности. SPARC является скорее механистической моделью, основанной на термодинамических принципах, чем детерминистической моделью, основанной на знаниях, полученных благодаря результатам наблюдений. Поэтому SPARC отличается от моделей, в которых используются КЗСА (например, KOWWIN, LOGP), тем что для комплекта контрольных химической продукции не требуется никаких измеренных данных по $\log K_{ow}$. Иногда, по просьбе, ЭПА (EPA) эту модель используют в связи с тем или иным перечнем номеров КАС. Модель SPARC дает более совершенные результаты по сравнению с KOWWIN и CLOGP только для соединений, у которых значения $\log K_{ow}$ превышают 5. Обычно только SPARC может использоваться для неорганических соединений.

В таблице 1 этого дополнения приводится обзор методов расчета $\log K_{ow}$ на основе фрагментации молекул. Существуют и другие методы вычисления $\log K_{ow}$, но они должны использоваться лишь с учетом конкретного случая и только на основании соответствующих научных доводов.

Таблица 1: Обзор методов КЗСА для расчета $\log K_{ow}$ на основе фрагментации молекул (Howard and Meylan (1997))

Метод	Методология	Статистические данные
CLOGP Hansch and Leo (1979), CLOGP Daylight (1995)	Фрагменты + поправочные коэффициенты	Всего: $n = 8942$, $r^2 = 0,917$, стандартное отклонение (co) = 0,482 Валидация: $n = 501$, $r^2 = 0,967$ Валидация: $n = 7221$, $r^2 = 0,89$, $co = 0,58$
LOGKOW (KOWWIN) Meylan and Howard (1995), SRC	140 фрагментов 260 поправочных коэффициентов	Калибровка: $n = 2430$, $r^2 = 0,981$, $co = 0,219$, $me = 0,161$ Валидация: $n = 8855$, $r^2 = 0,95$, $co = 0,427$, $me = 0,327$
AUTOLOGP Devillers <i>et al.</i> (1995)	66 атомных и групповых вкладов согласно Rekker and Manhold (1992)	Калибровка: $n = 800$, $r^2 = 0,96$, $co = 0,387$
SPARC В стадии разработки ЭПА, Афины, Джорджия	На основе фундаментального алгоритма для моделирования строения химических соединений	Для тренировочного комплекта химических продуктов не требуется никаких измеренных данных по $\log K_{ow}$
Rekker and De Kort	Фрагменты + поправочные коэффициенты	Калибровка: $n = 1054$, $r^2 = 0,99$ Валидация: $n = 20$, $r^2 = 0,917$, $co = 0,53$, $me = 0,40$
Niemi <i>et al.</i> (1992)	MCI	Калибровка: $n = 2039$, $r^2 = 0,77$ Валидация: $n = 2439$, $r^2 = 0,49$
Klopman <i>et al.</i> (1994)	98 фрагментов + поправочные коэффициенты	Калибровка: $n = 1663$, $r^2 = 0,928$, $co = 0,3817$
Suzuki and Kudo (1990)	424 фрагмента	Всего: $n = 1686$, $me = 0,35$ Валидация: $n = 221$, $me = 0,49$
Ghose <i>et al.</i> (1988) ATOMLOGP	110 фрагментов	Калибровка: $n = 830$, $r^2 = 0,93$, $co = 0,47$ Валидация: $n = 125$, $r^2 = 0,87$, $co = 0,52$
Bodor and Huang (1992)	Молекулярная орбиталь	Калибровка: $n = 302$, $r^2 = 0,96$, $co = 0,31$, $me = 0,24$ Валидация: $n = 128$, $co = 0,38$
Broto <i>et al.</i> (1984) ProLogp	110 фрагментов	Калибровка: $n = 1868$, $me = \text{около } 0,4$

Приложение 9

ДОПОЛНЕНИЕ IV

Влияние внешних и внутренних факторов на способность к биоконцентрации органических веществ

1. Факторы, влияющие на поглощение

Скорость поглощения липофильных соединений зависит главным образом от размера организма (Sijm and Linde, 1995). Важное значение для скорости поглощения имеют также внешние факторы, такие, как размер молекулы, факторы, влияющие на бионакопления, и различные факторы окружающей среды.

1.1 Размер организма

Так как соотношение между площадью жабр и весом у более крупных рыб относительно ниже, то предполагается, что у крупных рыб константа скорости поглощения (k_1) будет ниже по сравнению с мелкими рыбами (Sijm and Linde, 1995; Opperhuizen and Sijm, 1990). Кроме того, поглощение веществ у рыбы регулируется током воды через жабры, диффузией через водные диффузионные слои жаберного эпителия, проникновением через жаберный эпителий, скоростью тока крови через жабры и связывающей способностью компонентов крови (ЕСЕТОС, 1995).

1.2 Размер молекулы

Ионизирующие вещества не проникают легко через мембраны; рН в водной среде может поэтому влиять на поглощение вещества. Таким образом, следует ожидать уменьшения трансмембранного переноса веществ площадью поперечного сечения (Opperhuizen *et al.*, 1985; Anliker *et al.*, 1988) или Длиной цепи ($> 4,3$ мм) (Opperhuizen, 1986). Уменьшение трансмембранного переноса из-за размера молекул приведет поэтому к полному прекращению поглощения. Воздействие, оказываемое молекулярным весом на биоконцентрацию, обусловлено влиянием вещества на коэффициент распределения, из-за которого снижаются константы скорости поглощения (Gobas *et al.*, 1986).

1.3 Присутствие веществ

Прежде чем накапливаться в организме, данное вещество должно присутствовать в воде и быть готовым к поступлению через жабры рыб. Факторы, влияющие на наличие вещества как в природных условиях, так и в условиях проведения испытания, реально изменяют биоконцентрацию по сравнению с расчетным значением КБК. Поскольку рыбы кормятся во время исследований биоконцентрации, концентрации растворенных органических веществ и твердых примесей должны, в принципе, быть относительно высокими, и этим объясняется уменьшение доли химического продукта, которая фактически имеется в наличии для непосредственного поглощения через жабры. Мак'Карти и Химинес (Mc'Carthy and Jimenez (1985) показали, что адсорбция для липофильных веществ, растворенными гуминовыми веществами, уменьшает наличие вещества, тем более если оно является липофильным (Schrapp and Opperhuizen, 1990). Кроме того, во время измерения КБК (и других физико-химических свойств) может произойти адсорбция растворенными органическими веществами или твердыми примесями, или в целом через поверхности, и это может усложнить определение КБК и других соответствующих дескрипторов. Поскольку биоконцентрация в рыбе находится в прямой связи с имеющейся долей химического продукта в воде, то необходимо для сильно липофильных веществ поддерживать имеющуюся концентрацию испытуемого вещества в относительно узких пределах во время периода поглощения.

Вещества, легко подвергающиеся биоразложению, могут присутствовать в испытательной воде лишь в течение короткого времени, и поэтому биоконцентрация этих веществ может быть незначительной. Так же, летучесть и гидролиз уменьшат концентрацию вещества, а также время, в течение которого оно будет иметься в наличии для биоконцентрации.

1.4 Факторы окружающей среды

Экологические параметры, влияющие на физиологию организма, также могут оказывать воздействие на поглощение веществ, например, если содержание кислорода в воде падает, рыба должна будет прогонять большее количество воды через жабры, чтобы удовлетворить свои дыхательные потребности (McKim and Goeden, 1982). Однако это явление может зависеть от вида рыбы, как на это указывают Опперхизен и Шрап (Oppenhuizen and Schrap, 1987). Было, кроме того, доказано, что температура может влиять на константу скорости поглощения в случае липофильных веществ (Sijm *et al.*, 1993), тогда как другие авторы не отметили никакого стойкого эффекта в результате изменения температуры (Black *et al.* 1991).

2. Факторы, влияющие на скорость выведения

Скорость выведения зависит главным образом от размера организма, содержания жиров в нем, процесса биотрансформации в организме и липофильности испытуемого соединения.

2.1 Размер организма

Как и скорость поглощения, скорость выведения зависит от размера организма. Поскольку соотношение между площадью жабр и весом у мелких организмов (например, личинки рыб) выше по сравнению с крупными организмами, то было доказано, что стационарное состояние и, следовательно, "равновесие, соответствующее токсичной дозе" достигаются быстрее на весьма ранних стадиях жизни рыб по сравнению с молодой и уже взрослой стадиями (Petersen and Kristensen, 1998). Поскольку время, необходимое для достижения стационарного состояния зависит от k_2 , то размер рыб, используемых в исследованиях биоконцентрации, существенно влияет на время, необходимое для достижения этого состояния.

2.2 Содержание жиров

В силу взаимосвязей, регулирующих распределение, организмы с повышенным содержанием жиров имеют тенденцию накапливать в стационарных условиях более высокие концентрации липофильных веществ по сравнению с организмами, не имеющими больших запасов жиров. Поэтому часто вредных веществ содержится больше в "жирной" рыбе, например в угре, по сравнению с "тощей" рыбой, например треской. Кроме того, жировые "резервы" могут играть роль хранилища высоколипофильных веществ. Голодание и другие физиологические изменения могут изменить липидный баланс и высвободить такие вещества, приводя, таким образом, к замедленному воздействию.

2.3 Метаболизм

2.3.1 Как правило, метаболизм или биотрансформация ведут к превращению исходного вещества в растворимые в воде метаболиты. В результате более легко растворимые в воде метаболиты могут быстрее выводиться из организма, чем исходное соединение. При изменении химического строения соединения изменяются также и многие его свойства. Следовательно, метаболиты будут вести себя по-другому в организме в том, что касается распределения в тканях веществ биоаккумуляции, устойчивости, а также пути и скорости их выведения. Биотрансформация тоже может изменять токсичность соединения. Это изменение токсичности может оказать на организм как благотворное, так и пагубное влияние. Биотрансформация может помешать

концентрации в организме, стать настолько высокой, чтобы вызвать токсичную реакцию (детоксикация). Однако может быть образован метаболит, который токсичнее исходного вещества (биоактивация), например в случае бензо(а)пирена.

2.3.2 Земные организмы имеют развитую систему биотрансформации, которая обычно более эффективная по сравнению с соответствующей системой организмов, обитающих в водной среде. Причина этого различия может состоять в том, что биотрансформация ксенобиотиков может иметь второстепенное значение для жаберных организмов, так как они могут сравнительно легко выводить соединения в воду (Van Den Berg *et al.* 1995). В водных организмах способность биотрансформации ксенобиотиков возрастает обычно в следующем порядке: моллюски < ракообразные < рыбы (Wofford *et al.*, 1981).

3. Липофильность вещества

Негативная линейная корреляция между k_2 (константа очищения) и K_{ow} (или КБК) у рыб была выявлена несколькими авторами (например, Spacie and Hamelink, 1982; Gobas *et al.*, 1989; Petersen and Kristensen, 1998), тогда как k_1 (константа скорости поглощения) не зависит в той или иной мере от липофильности вещества (Connell, 1990). Результирующий КБК будет поэтому, как правило, возрастать с повышением липофильности веществ, т.е. \log КБК и $\log K_{ow}$ будут находиться в определенном соотношении в случае веществ, которые не подвергаются экстенсивному метаболизму.

Приложение 9

ДОПОЛНЕНИЕ V

Руководящие принципы испытаний

1. Большинство упомянутых руководящих принципов включены в справочники, составленные организацией, которая их публикует.

Ниже приведены основные ссылки на эти источники:

- a) EC guidelines: Commission Regulation (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH);
- b) ISO guidelines: Available from the national standardisation organisations or ISO (Homepage: <http://www.iso.org/iso/home.htm>);
- c) OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD, Paris, 1993 with regular updates (<http://www.oecd.org/env/testguidelines>);
- d) OPPTS guidelines: US-EPA homepage (<http://www.epa.gov/opptsfrs/home/guidelin.htm>);
- e) ASTM: ASTM's homepage (<http://www.astm.org>). Further search via “standards”.

2. Руководящие принципы испытаний водной токсичности¹

OECD Test Guideline 201 (1984) Alga, Growth Inhibition Test
OECD Test Guideline 202 (1984) Daphnia sp. Acute Immobilisation Test and Reproduction Test
OECD Test Guideline 203 (1992) Fish, Acute Toxicity Test
OECD Test Guideline 204 (1984) Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study
OECD Test Guideline 210 (1992) Fish, Early-Life Stage Toxicity Test
OECD Test Guideline 211(1998) Daphnia magna Reproduction Test
OECD Test Guideline 212 (1998) Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages
OECD Test Guideline 215 (2000) Fish, Juvenile Growth Test
OECD Test Guideline 221 (in preparation) *Lemna* sp. Growth inhibition test
EC C.1: Acute Toxicity for Fish (1992)
EC C.2: Acute Toxicity for Daphnia (1992)
EC C.3: Algal Inhibition Test (1992)
EC C.14. Fish Juvenile Growth Test (2001)
EC C.15: Fish. Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages (2001)
EC C.20: Daphnia Magna Reproduction Test (2001)

OPPTS Testing Guidelines for Environmental Effects (850 Series Public Drafts):

850.1000 Special consideration for conducting aquatic laboratory studies
850.1000 Special consideration for conducting aquatic laboratory studies
850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity, test, freshwater daphnids (Adobe PDF)

¹ Указанный перечень был составлен в сентябре 2000 года, и его необходимо будет регулярно обновлять по мере принятия и разработки новых руководящих принципов.

- 850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity, test, freshwater daphnids (Text to HTML)
- 850.1020 Gammarid acute toxicity test (Adobe PDF)
- 850.1020 Gammarid acute toxicity test (Text to HTML)
- 850.1035 Mysid acute toxicity test (Adobe PDF)
- 850.1035 Mysid acute toxicity test (Text to HTML)
- 850.1045 Penaeid acute toxicity test (Adobe PDF)
- 850.1045 Penaeid acute toxiciry test (Text to HTML)
- 850.1075 Fish acute toxicity test, freshwater and marine (Adobe PDF)
- 850.1075 Fish acute toxicity test, freshwater and marine (Text to HTML)
- 850.1300 Daphnid chronic toxicity test (Adobe PDF)
- 850.1300 Daphnid chronic toxicity test (Text to HTML)
- 850.1350 Mysid chronic toxicity test (Adobe PDF)
- 850.1350 Mysid chronic toxicity test (Text to HTML)
- 850.1400 Fish early-life stage toxicity test (Adobe PDF)
- 850.1400 Fish early-life stage toxicity test (Text to HTML)
- 850.1500 Fish life cycle toxicity (Adobe PDF)
- 850.1500 Fish life cycle toxicity (Text to HTML)
- 850.1730 Fish КБК (Adobe PDF)
- 850.1730 Fish КБК (Text to HTML)
- 850.4400 Aquatic plant toxicity test using Lemna spp. Tiers I and II (Adobe PDF)
- 850.4400 Aquatic plant toxicity test using Lemna spp. Tiers I and II (Text to HTML)
- 850.4450 Aquatic plants field study, Tier III (Adobe PDF)
- 850.4450 Aquatic plants field study, Tier III (Text to HTML)
- 850.5400 Algal toxicity, Tiers I and II (Adobe PDF)
- 850.5400 Algal toxicity, Tiers I and II (Text to HTML)

3. Руководящие принципы испытаний биотического и абиотического разложения²

ASTM E 1196-92

ASTM E 1279-89 (95) Standard test method for biodegradation by a shake-flask die-away method

ASTM E 1625-94 Standard test method for determining biodegradability of organic chemicals in semi-continuous activated sludge (SCAS)

EC C.4. A to F: Determination of ready biodegradability. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1992)

EC C.5. Degradation: biochemical oxygen demand. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1992)

EC C.7. Degradation: abiotic degradation: hydrolysis as a function of pH. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1992)

EC C.9. Biodegradation: Zahn-Wellens test. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1988)

EC C.10. Biodegradation: Activated sludge simulation tests. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1998)

EC C.11. Biodegradation: Activated sludge respiration inhibition test. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1988)

EC C. 12. Biodegradation: Modified SCAS test. Directive 67/548/EEC, Annex V. (1998)

² *Нижеследующий список был составлен в сентябре 2000 года, и его необходимо будет регулярно обновлять по мере принятия и разработки новых руководящих принципов.*

ISO 9408 (1991). Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds - Method by determining the oxygen demand in a closed respirometer

ISO 9439 (1990). Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds - Method by analysis of released carbon dioxide

ISO 9509 (1996). Water quality - Method for assessing the inhibition of nitrification of activated sludge micro-organisms by chemicals and wastewaters

ISO 9887 (1992). Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - Semicontinuous activated sludge method (SCAS)

ISO 9888 (1991). Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - Static test (Zahn-Wellens method)

ISO 10707 (1994). Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds - Method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test)

ISO 11348 (1997). Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test)

ISO 11733 (1994). Water quality - Evaluation of the elimination and biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - Activated sludge simulation test

ISO 11734 (1995). Water quality - Evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge - Method by measurement of the biogas production

ISO/DIS 14592 (1999). Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations in water. Part 1: Shake flask batch test with surface water or surface water/sediment suspensions (22.11.1999)

OECD Test Guideline 111 (1981). Hydrolysis as a function of pH. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 209 (1984). Activated sludge, respiration inhibition test. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 301 (1992). Ready biodegradability. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 302A (1981). Inherent biodegradability: Modified SCAS test. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 302B (1992). Zahn-Wellens/EMPA test. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 302C (1981). Inherent biodegradability: Modified MITI test (II). OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 303A (1981). Simulation test - aerobic sewage treatment: Coupled units test. OECD guidelines for testing of chemicals. Draft update available 1999

OECD Test Guideline 304A (1981). Inherent biodegradability in soil. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD Test Guideline 306 (1992). Biodegradability in seawater. OECD guidelines for testing of chemicals

OECD (1998b). Aerobic and anaerobic transformation in aquatic sediment systems. Draft proposal for a new guideline, December 1999

OECD (1999). Aerobic and anaerobic transformation in soil. Final text of a draft proposal for a new guideline, October 1999

OECD (2000). Simulation test - Aerobic Transformation in Surface Water. Draft proposal for a new guideline, May 2000

OPPTS 835.2110 Hydrolysis as a function of pH

OPPTS 835.2130 Hydrolysis as a function of pH and temperature

OPPTS 835.2210 Direct photolysis rate in water by sunlight

OPPTS 835.3110 Ready biodegradability

OPPTS 835.3170 Shake flask die-away test

OPPTS 835.3180 Sediment/water microcosm biodegradability test

OPPTS 835.3200 Zahn-Wellens/EMPA test

OPPTS 835.3210 Modified SCAS test

OPPTS 835.3300 Soil biodegradation

OPPTS 835.3400 Anaerobic biodegradability of organic chemicals

OPPTS 835.5270 Indirect photolysis screening test. Sunlight photolysis in waters containing dissolved humic substances

4. Руководящие принципы испытаний биоаккумуляции³

ASTM, 1993. ASTM Standards on Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. Sponsored by ASTM Committee E-47 on Biological Effects and Environmental Fate. American Society for Testing and Materials. 1916 Race Street, Philadelphia, PA 19103. ASTM PCN: 03-547093-16., ISBN 0-8032-1778-7

ASTM E 1022-94. 1997. Standard Guide for Conducting Bioconcentration Tests with Fishes and Saltwater Bivalve Molluscs. American Society for Testing and Materials

EC, 1992. EC A.8. Partition coefficient. Annex V (Directive 67/548/EEC). Methods for determination of physico-chemical properties, toxicity and ecotoxicity

EC, 1998. EC.C.13 Bioconcentration: Flow-through Fish Test

EPA-OTS, 1982. Guidelines and support documents for environmental effects testing. Chemical fate test guidelines and support documents. United States Environmental Protection Agency. Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, D.C. 20960. EPA 560/6-82-002. (August 1982 and updates), cf. also Code of Federal Regulations. Protection of the Environment Part 790 to End. Revised as of July 1, 1993. ONLINE information regarding the latest updates of these test guidelines: US National Technical Information System

³ *Нижеследующий список был составлен в сентябре 2000 года, и его необходимо будет регулярно обновлять по мере принятия и разработки новых руководящих принципов.*

EPA-FIFRA, 1982. The Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. Pesticide Assessment Guidelines, subdivision N: chemistry: Environmental fate, and subdivision E, J & L: Hazard Evaluation. Office of Pesticide Programs. US Environmental Protection Agency, Washington, D.C. (1982 and updates). ONLINE information regarding the latest updates of these test guidelines: US National Technical Information System

OECD Test Guideline 107, 1995. OECD Guidelines for testing of chemicals. Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method

OECD Test Guideline 117, 1989. OECD Guideline for testing of chemicals. Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method

OECD Test Guideline 305, 1996. Bioconcentration: Flow-through Fish Test. OECD Guidelines for testing of Chemicals

OECD Test Guidelines 305 A-E, 1981. Bioaccumulation. OECD Guidelines for testing of chemicals

OECD draft Test Guideline, 1998. Partition Coefficient n-Octanol/Water P_{ow} . Slow-stirring method for highly hydrophobic chemicals. Draft proposal for an OECD Guideline for Testing of Chemicals

Приложение 9

ДОПОЛНЕНИЕ VI

Библиография

1. Водная токсичность

APHA 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th edition. American Public Health Association, Washington, D.C.

ASTM 1999. Annual Book of ASTM standards, Vol. 11.04. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA

DoE 1996. Guidance on the Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances. United Kingdom Department of the Environment, London

ECETOC 1996. Aquatic Toxicity Testing of Sparingly Soluble, Volatile and Unstable Substances. ECETOC Monograph No. 26, ECETOC, Brussels

Lewis, M. A. 1995. Algae and vascular plant tests. In: Rand, G. M. (ed.) 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology, Second Edition. Taylor & Francis, Washington, D.C. pp. 135-169

Mensink, B. J. W. G., M. Montforts, L. Wijkhuizen-Maslankiewicz, H. Tibosch, and J.B.H.J. Linders 1995. Manual for Summarising and Evaluating the Environmental Aspects of Pesticides. Report No. 679101022 R.VM, Bilthoven, The Netherlands

OECD 1998. Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances. OECD, Paris. (Document [ENV/JM/MONO\(2001\)6](#))

OECD 1999. Guidelines for Testing of Chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris

OECD 2000. Revised Draft Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures, OECD, Paris

OECD 2006. "Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: A guidance to application", OECD Environment Health and Safety Publications Series Testing and Assessment N.54

Pedersen, F., H. Tyle, J. R. Niemeldi, B. Guttmann, L. Lander, and A. Wedebrand 1995. Environmental Hazard Classification - data collection and interpretation guide. TemaNord 1995:581

US EPA 1996. Ecological Effects Test Guidelines – OPPTS 850.1000. Special Considerations for Conducting Aquatic Laboratory Studies. Public Draft, EPA 712-C-96-113. United States Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/opptsfrs/home/testmeth.htm>

OECD Monograph 11, Detailed Review Paper on Aquatic Toxicity Testing for Industrial Chemicals and Pesticides

Rand, Gary M., Fundamentals of Aquatic toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment

2. Биотическое и абиотическое разложение

Boesten J.J.T.I. & A.M.A. van der Linden (1991). Modeling the influence of sorption and transformation on pesticide leaching and persistence. *J. Environ. Qual.* 20, 425-435

Boethling R.S., P.H. Howard, J.A. Beauman & M.E. Larosche (1995). Factors for intermedia extrapolation in biodegradability assessment. *Chemosphere* 30(4), 741-752

de Henau H. (1993). Biodegradation. In: P. Calow. Handbook of Ecotoxicology vol. I. Blackwell Scientific Publications, London. Chapter 18, pp. 355-377

EC (1996). Technical guidance documents in support of the Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and the Commission Regulation (EC) No. 1488/94 on risk assessment for existing substances. European Commission, Ispra

ECETOC (1998): QSARs in the Assessment of the Environmental Fate and Effects of Chemicals, Technical report No. 74. Brussels, June 1998

Federle T.W., S.D. Gasior & B.A. Nuck (1997). Extrapolating mineralisation rates from the ready CO₂ screening test to activated sludge, river water, and soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 127-134

Langenberg J.H., W.J.G.M. Peijnenburg & E. Rorije (1996). On the usefulness and reliability of existing QSBRs for risk assessment and priority setting. *SAR and QSAR in Environmental Research* 5, 1-16

Loonen H., F. Lindgren, B. Hansen & W. Karcher (1996). Prediction of biodegradability from chemical structure. In: Peijnenburg W.J.G.M. & J. Damborsky (eds.). Biodegradability Prediction. Kluwer Academic Publishers

MITI (1992). Biodegradation and bioaccumulation data on existing data based on the CSCL Japan. Japan chemical industry, Ecology-toxicology & information center. ISBN 4-89074-101-1

Niemelä J (2000). Personal communication to OECD Environment Directorate, 20 March 2000

Nyholm N., U.T. Berg & F. Ingerslev (1996). Activated sludge biodegradability simulation test. Danish EPA, Environmental Report No. 337

Nyholm N. & F. Ingerslev (1997). Kinetic biodegradation tests with low test substance concentrations: Shake flask test with surface water and short term rate measurement in activated sludge. In: Hales S.G. (ed.). Biodegradation Kinetics: Generation and use of data for regulatory decision making. From the SETAC-Europe Workshope. Port-Sunlight. September 1996. pp. 101-115. SETAC-Europe, Brussels

Nyholm N. & L. Toräng (1999). Report of 1998/1999 Ring-test: Shake flask batch test with surface water or surface water / sediment suspensions. ISO/CD 14592-1 Water Quality- Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations, ISO/TC 147/ SC5/WG4 Biodegradability

OECD (1993). Structure-Activity Relationships for Biodegradation. OECD Environment Monographs No. 68. Paris 1993

OECD (1994): "US EPA/EC Joint Project on the Evaluation of (Quantitative) Structure Activity Relationships." OECD Environment Monograph No. 88. Paris

OECD (1995). Detailed Review Paper on Biodegradability Testing. OECD Environmental Monograph No. 98. Paris

OECD (1997). Guidance document on direct phototransformation of chemical in water. OECD/GD(97)21. Paris

OECD (1998). Harmonized integrated hazard classification system for human health and environmental effects of chemical substances. Paris.

Pedersen F., H. Tyle, J. R. Niemelä, B. Guttmann, L. Lander & A. Wedebrand (1995). Environmental Hazard Classification – data collection and interpretation guide for substances to be evaluated for classification as dangerous for the environment. Nordic Council of Ministers. 2nd edition. TemaNord 1995:581, 166 pp

Schwarzenbach R.P., P.M. Gschwend & D.M. Imboden (1993). Environmental organic chemistry, 1st ed. John Wiley & Sons, Inc. New York

Scow K.M. (1982). Rate of biodegradation. In: Lyman W.J., W.F. Reehl & D.H. Rosenblatt (1982): Handbook of Chemical Property Estimation Methods Environmental Behaviour of Organic Compounds. American Chemical Society. Washington, D.C. (ISBN 0-8412-1761-0). Chapter 9

Struijs J. & R. van den Berg (1995). Standardized biodegradability tests: Extrapolation to aerobic environments. *Wat. Res.* 29(1), 255-262

Syracuse Research Corporation. Biodegradation Probability Program (BIOWIN). Syracuse. N.Y. <http://esc.syrres.com/~esc1/biodeg.htm>

Westermann P., B.K. Ahring & R.A. Mah (1989). Temperature compensation in *Methanosarcina barkeri* by modulation of hydrogen and acetate affinity. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(5). 1262-1266

3. Биоаккумуляция

Anliker, R., Moser, P., Poppinger D. 1988. Bioaccumulation of dyestuffs and organic pigments in fish. Relationships to hydrophobicity and steric factors. *Chem.* 17(8): 1631-1644

Bintein, S.; Devillers, J. and Karcher, W. 1993. Nonlinear dependence of fish bioconcentration on *n*-octanol/water partition coefficient. SAR and QSAR in Environmental Research. Vol.1. pp.29-39

Black, M.C., Millsap, D.S., McCarthy, J.F. 1991. Effects of acute temperature change on respiration and toxicant uptake by rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Physiol. Zool.* 64: 145-168

Bodor, N., Huang, M.J. 1992. *J. Pharm. Sci.* 81:272-281

Broto, P., Moreau, G., Vandycyke, C. 1984. *Eur. J. Med. Chem.* 19:71-78

Chiou, T. 1985. Partition coefficients of organic compounds in lipid-water systems and correlations with fish bioconcentration factors. *Environ. Sci. Technol* 19:57-62

CLOGP. 1995. Daylight Chemical Information Systems, Inf. Sys. Inc. Irvine, Ca

CSTEE (1999): DG XXIV Scientific Committee for Toxicity and Ecotoxicity and the Environment Opinion on revised proposal for a list of Priority substances in the context of the water framework directive (COMMs Procedure) prepared by the Fraunhofer-Institute, Germany, Final report opinion adopted at the 11th CSTEE plenary meeting on 28th of September 1999

- Comotto, R.M., Kimerle, R.A., Swisher, R.D. 1979. Bioconcentration and metabolism of linear alkylbenzenesulfonate by Daphnids and Fathead minnows. L.L.Marking, R.A. Kimerle. Eds., Aquatic Toxicology (ASTM, 1979), vol. ASTM STP 667
- Connell, D.W., Hawker, D.W. 1988. Use of polynomial expressions to describe the bioconcentration of hydrophobic chemicals by fish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 16:242-257
- Connell, D.W. 1990. Bioaccumulation of xenobiotic compounds, Florida: CRC Press, Inc. pp.1-213
- De Bruijn, J., Busser, F., Seinen, W. & Hermens, J. 1989. Determination of octanol/water partition coefficients with the "slow stirring" method. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:499-512
- Devillers, J., Bintein, S., Domine, D. 1996. Comparison of KBK models based on log P. *Chemosphere* 33(6): 1047-1065
- DoE, 1996. Guidance on the aquatic toxicity testing of difficult substance. Unites Kingdom Department of the Environment, London
- Doucette, W.J., Andren, A.W. 1987. Correlation of octanol/water partition coefficients and total molecular surface area for highly hydrophobia aromatic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 21, pages 821-824
- Doucette, W.J., Andren, A.W. 1988. Estimation of octanol/water partition coefficients: evaluation of six methods for highly hydrophobic aromatic compounds. *Chemosphere*, 17, pages 345-359
- Driscoll, S.K., McElroy, A.E. 1996. Bioaccumulation and metabolism of benzo(a)pyrene in three species of polychaete worms. *Environ. Toxicol. Chem.* 15(8):1401-1410
- ECETOC, 1995. The role of bioaccumulation in environmental risk assessment: The aquatic environment and related food webs, Brussels, Belgium
- ECEOOC, 1996. Aquatic toxicity testing of sparingly soluble, volatile and unstable substances. ECETOC Monograph No. 26, ECETOC, Brussels
- European Commission, 1996. Technical Guidance Document in support of Commission Directive 93/96/EEC on Risk Assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances. Brussels
- Chose, A.K., Protchet, A., Crippen, G.M. 1988. *J. Computational Chem.* 9:80-90
- Gobas, F.A.P.C., Opperhuizen, A., Hutzinger, O. 1986. Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish: Relationship with membrane permeation. *Environ. Toxicol. Chem.* 5:637-646
- Gobas, F.A.P.C., Clark, K.E., Shiu, W.Y., Mackay, D. 1989. Bioconcentration of polybrominated benzenes and biphenyls and related superhydrophobic chemicals in fish: Role of bioavailability and elimination into feces. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:231-245
- Goodrich, M.S., Melancon, M.J., Davis, R.A., Lech J.J. 1991. The toxicity, bioaccumulation, metabolism, and elimination of dioctyl sodium sulfosuccinate DSS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Water Res.* 25:119-124
- Hansch, C., Leo, A. 1979. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. Wiley, New York, NY, 1979

Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid. Res.* 26:281-347

Howard, P.H. and Meyland, W.M., 1997. Prediction of physical properties transport and degradation for environmental fate and exposure assessments, QSAR in environmental science VII. Eds. Chen, F. and Schüürmann, G. pp. 185-205

Kimerle, R.A., Swisher, R.D., Schroeder-Comotto, R.M. 1975. Surfactant structure and aquatic toxicity, Symposium on Structure-Activity correlations in Studies on Toxicity and Bioconcentration with Aquatic Organisms, Burlington, Ontario, Canada, pp. 22-35

Klopman, G., Li, J.Y., Wang, S., Dimayuga, M. 1994. Computer automated log P calculations based on an extended group contribution approach. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 34:752-781

Knezovich, J.P., Lawton, M.P., Inoue, L.S. 1989. Bioaccumulation and tissue distribution of a quaternary ammonium surfactant in three aquatic species. *Bull. Environ. Contain. Toxicol.* 42:87-93

Knezovich, J.P., Inoue, L.S. 1993. The influence of sediment and colloidal material on the bioavailability of a quaternary ammonium surfactant. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 26:253-264

Kristensen, P. 1991. Bioconcentration in fish: Comparison of КБКs derived from OECD and ASTM testing methods; influence of particulate matter to the bioavailability of chemicals. Danish Water Quality Institute

Mackay, D. 1982. Correlation of bioconcentration factors. *Environ. Sci. Technol.* 16:274-278

McCarthy, J.F., Jimenez, B.D. 1985. Reduction in bioavailability to bluegills of polycyclic aromatic hydrocarbons bound to dissolved humic material. *Environ. Toxicol. Chem.* 4:511-521

McKim, J.M., Goeden, H.M. 1982. A direct measure of the uptake efficiency of a xenobiotic chemical across the gill of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) under normoxic and hypoxic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.* 72C:65-74

Meylan, W.M. and Howard, P.H., 1995. Atom/Fragment Contribution Methods for Estimating Octanol-Water Partition Coefficients. *J. Pharm. Sci.* 84, 83

Niemelä, J.R. 1993. QTOXIN-program (ver 2.0). Danish Environmental Protection Agency

Niemi, G.J., Basak, S.C., Veith, G.D., Grunwald, G. *Environ. Toxicol. Chem.* 11:893-900

Niimi, A.J. 1991. Solubility of organic chemicals in octanol, triolin and cod liver oil and relationships between solubility and partition coefficients. *Wat. Res.* 25:1515-1521

OECD, 1993. Application of structure activity relationships to the estimation of properties important in exposure assessment. OECD Environment Directorate. Environment Monograph No. 67

OECD, 1998. Harmonized integrated hazard classification system for human health and environmental effects of chemical substances. As endorsed by the 28th joint meeting of the chemicals committee and the working party on chemicals in November 1998

OECD, 2000. Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures, OECD, Paris

Opperhuizen, A., Van der Velde, E.W., Gobas, F.A.P.C., Liem, A.K.D., Van der Steen, J.M.D., Hutzinger, O. 1985. Relationship between bioconcentration in fish and steric factors of hydrophobic chemicals. *Chemosphere* 14:1871-1896

Opperhuizen, A. 1986. Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish. In: Poston T.M., Purdy, R. (eds), *Aquatic Toxicology and Environmental Fate: Ninth Volume*, ASTM STP 921. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 304-315

Opperhuizen, A., Schrap, S.M. 1987. Relationship between aqueous oxygen concentration and uptake and elimination rates during bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish. *Environ. Toxicol. Chemosphere* 6:335-342

Opperhuizen, A., Sijm, D.T.H.M. 1990. Bioaccumulation and biotransformation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:175-186

Pedersen, F., Tyle, H., Niemelä, J.R., Guttman, B., Lander, L. and Wedebrand, A., 1995. *Environmental Hazard Classification – data collection and interpretation guide* (2nd edition). TemaNord 1995:581

Petersen, G.I., Kristensen, P. 1998. Bioaccumulation of lipophilic substances in fish early life stages. *Environ. Toxicol. Chem.* 17(7):1385-1395

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

Roberts D.W. 1989. Aquatic toxicity of linear alkyl benzene sulphonates (LAS) – a QSAR analysis. *Comunicaciones Presentadas a las Jornadas del Comité Español de la Detergencia*, 20 (1989) 35-43. Also in J.E. Turner, M.W. England, T.W. Schultz and N.J. Kwaak (eds.) QSAR 88. *Proc. Third International Workshop on Qualitative Structure-Activity Relationships in Environmental Toxicology*, 22-26 May 1988, Knoxville, Tennessee, pp. 91-98. Available from the National Technical Information Service, US Dept. of Commerce, Springfield, VA

Schrap, S.M., Oppenhuizen, A. 1990. Relationship between bioavailability and hydrophobicity: reduction of the uptake of organic chemicals by fish due to the sorption of particles. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:715-724

Shiu, W.Y., Doucette, W., Gobas, F.A.P.C., Andren, A., Mackay, D. 1988. Physical-chemical properties of chlorinated dibenzo-p-dioxins. *Environ. Sci. Technol.* 22: pages 651-658

Sijm, D.T.H.M., van der Linde, A. 1995. Size-dependent bioconcentration kinetics of hydrophobic organic chemicals in fish based on diffusive mass transfer and allometric relationships. *Environ. Sci. Technol.* 29:2769-2777

Sijm, D.T.H.M., Pärt, P., Oppenhuizen, A. 1993. The influence of temperature on the uptake rate constants of hydrophobic compounds determined by the isolated perfused gill of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 25:1-14

Spacie, A., Hamelink, J.L. 1982. Alternative models for describing the bioconcentration of organics in fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 1:309-320

Suzuki, T., Kudo, Y.J. 1990. *J. Computer-Aided Molecular Design* 4:155-198

Syracuse Research Corporation, 1999.

Tas, J.W., Seinen, W., Oppenhuizen, A. 1991. Lethal body burden of triphenyltin chloride in fish: Preliminary results. *Comp. Biochem. Physiol.* 100C(1/2): 59-60

Tolls J. & Sijm, D.T.H.M., 1993. Bioconcentration of surfactants, RITOX, the Netherlands (9. Nov. 1993). Procter and Gamble Report (ed.: M.Stalmans)

Tolls, J. 1998. Bioconcentration of surfactants. Ph.D. Thesis. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands

Toshima, S., Moriya, T., Yoshimura, K. 1992. Effects of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate on the acute toxicity of linear alkylbenzenesulfonate (C₁₂-LAS) to fish. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 24: 26-36

US EPA 1985. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Toxic Substances. Toxic Substances Control Act Test Guidelines. 50 FR 39252

US EPA/EC, 1993. US EPA/EC Joint Project on the Evaluation of (Quantitative) Structure Activity Relationships

US EPA, 1996. Ecological effects test guidelines – OPPTS 850.1000. Special considerations for conducting aquatic laboratory studies. Public Draft, EPA712-C-96-113. United States Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/opptsfrs/home/testmeth.htm>

Van Den Berg, M., Van De Meet, D., Peijnenburg, W.J.G.M., Sijm, D.T.H.M., Struijs, J., Tas, J.W. 1995. Transport, accumulation and transformation processes. In: *Risk Assessment of Chemicals: An Introduction*. van Leeuwen, C.J., Hermens, J.L.M. (eds). Dordrecht, NL. Kluwer Academic Publishers, 37-102

Wakabayashi, M., Kikuchi, M., Sato, A. Yoshida, T. 1987. Bioconcentration of alcohol ethoxylates in carp (*Cyprinus carpio*), *Ecotoxicol. Environ. Safety* 13, 148-163

Wofford, H.W., C.D. Wilsey, G.S. Neff, C.S. Giam & J.M. Neff (1981): Bioaccumulation and metabolism of phthalate esters by oysters, brown shrimp and sheepshead minnows. *Ecotox.Environ.Safety* 5:202-210, 1981

4. Использование КЗСА

Boethling, R.S., Howard, P.M., Meylan, W.M. Stiteler, W.M., Beauman, J.A., and Tirado, N. (1994). Group contribution method for predicting probability and rate of aerobic biodegradation. *Envir. Sci. Technol.*, 28, 459-465

De Bruijn, J., Busser, F., Seinen, W., and Hermens, J. (1989). Determination of octanol/water partition coefficients for hydrophobic organic chemicals with the "slow-stirring method", *Environ. Toxicol. Chem.*, 8, 499-512

ECETOC (1998), QSARs in the Assessment of the Environmental Fate and Effects of Chemicals, Technical report No 74

Hansch, C. and A. Leo (1995), *Exploring QSAR*, American Chemical Society

Hilal, S. H., L. A. Carreira and S. W. Karickhoff (1994), *Quantitative Treatments of Solute/solvent Interactions, Theoretical and Computational Chemistry, Vol. 1*, 291-353, Elsevier Science

Howard, P.H., Boethling, R.S, Stiteler, W.M., Meylan, W.M., Hueber, A.E., Beaumen, J.A. and Larosche, M.E. (1992). Predictive model for aerobic biodegradation developed from a file of evaluated biodegradation data. *Envir. Toxicol. Chem.* 11, 593-603

Howard, P. and Meylan, W.M. (1992). Biodegradation Probability Program, Version 3, Syracuse Research Corp., NY

Langenberg, J.H., Peijnenburg, W.J.G.M. and Rorije, E. (1996). On the usefulness and reliability of existing QSARs for risk assessment and priority setting. *SAR QSAR Environ. Res.*, 5, 1-16

R.L. Lipnick (1986). Charles Ernest Overton: Narcosis studies and a contribution to general pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.*, 7, 161-164

R.L. Lipnick (1989a). Hans Horst Meyer and the lipid theory of narcosis, *Trends Pharmacol. Sci.*, 10 (7) July, 265-269; Erratum: 11 (1) Jan (1990), p. 44

R.L. Lipnick (1989b). Narcosis, electrophile, and proelectrophile toxicity mechanisms. Application of SAR and QSAR. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8, 1-12

R.L. Lipnick (1990). Narcosis: Fundamental and Baseline Toxicity Mechanism for Nonelectrolyte Organic Chemicals. In: W. Karcher and J. Devillers (eds.) *Practical Applications of Quantitative Structure-Activity Relationships (OSAR) in Environmental Chemistry and Toxicology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 129-144

R.L. Lipnick (ed.) (1991a). *Charles Ernest Overton: Studies of Narcosis and a Contribution to General Pharmacology*; Chapman and Hall, London, and Wood Library-Museum of Anesthesiology

R.L. Lipnick (1991b). Outliers: their origin and use in the classification of molecular mechanisms or toxicity, *Sci. Tot. Environ.*, 109/110 131-153

R.L. Lipnick (1995). Structure-Activity Relationships. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, 2nd edition, (G.R. Rand. ed.), Taylor & Francis, London, 609-655

Loonen, H., Lindgren, F., Hansen, B., Karcher, W., Niemela, J., Hiromatsu, K., Takatsuki, M., Peijnenburg, W., Rorije, E., and Struijs, J. (1999). Prediction of biodegradability from chemical structure: modeling of ready biodegradation test data. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 1763-1768

Meylan, W. M. and P. H. Howard (1995). *J. Pharm. Sci.*, 84, 83-92

OECD (1993), Structure-Activity Relationships for Biodegradation. OECD Environment Monograph No. 68 OECD, Paris, France

OECD (1995), Environment Monographs No. 92. Guidance Document for Aquatic Effects Assessment. OECD, Paris

F. Pedersen, H. Tyle, J. R. Niemelä, B. Guttmann, L. Lander, and A. Wedebrand (1995), Environmental Hazard Classification: Data Collection and Interpretation Guide for Substances to be Evaluated for Classification as Dangerous for the Environment, 2nd Edition, TemaNord 1995:581, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, January

US EPA (1999) Development of Chemical Categories in the HPV Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/sarfinl1.htm>

US EPA (2000a), The Use of Structure-Activity Relationships (SAR) in the High Production Volume Chemicals Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/sarfinl1.htm>

US EPA (2000b), ECOSAR, <http://www.epa.gov/oppt/newchems/tools/21ecosar.htm>

US EPA/EC (1993): US EPA Joint Project on the Evaluation of (Quantitative) Structure Activity Relationships, Commission of European Communities, Final Report, July

G.D. Veith, R.L. Lipnick, and C.L. Russom (1989). The toxicity of acetylenic alcohols to the fathead minnow, *Pimephales promelas*. Narcosis and proelectrophile activation. *Xenobiotica*, 19(5), 555-565

5. **Металлы и металлические соединения**

Brown, D.S. and Allison, J.D. (1987). MINTEQA1 Equilibrium Metal Speciation Model: A user's manual. Athens, Georgia, USEPA Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development

OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, [ENV/JM/MONO\(2001\)6](#)

OECD (2000). Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures

OECD (2001). Guidance Document on Transformation/Dissolution of Metals and Metals Compounds in Aqueous Media

Santore, R.C. and Driscoll, C.T. (1995). The CHESS Model for Calculating Chemical Equilibria in Soils and Solutions, Chemical Equilibrium and Reaction Models. The Soil Society of America, American Society of Agronomy

Santore, R.C. and Di Toro, D.M. et al (1999). A biotic ligand model of the acute toxicity of metals. II. Application to fish and daphnia exposure to copper. *Environ. Tox. Chem.* Submitted

Skeaff, J., Delbeke, K., Van Assche, F. and Conard, B. (2000) A critical surface area concept for acute hazard classification of relatively insoluble metal-containing powders in aquatic environments. *Environ. Tox. Chem.* 19:1681-1691

Tipping, E. (1994). WHAM – A computer equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computers and Geoscience* 20 (6): 073-1023

