

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
ИСО 10634—  
2016

---

## КАЧЕСТВО ВОДЫ

**Оценка биоразлагаемости органических соединений  
в водной среде.**

**Подготовка и обработка малорастворимых в воде  
органических соединений для последующей оценки**

(ИСО 10634:1995, IDT)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2016

## Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации материалов и технологий» (ФГУП «ВНИИ СМТ») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 326 «Биотехнологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 июня 2016 г. № 740-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 10634:1995 «Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Подготовка и обработка малорастворимых в воде органических соединений для последующей оценки» (ISO 10634:1995 «Water quality — Guidance for the preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their biodegradability in an aqueous medium», IDT).

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

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

© Стандартиформ, 2016

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

**Содержание**

1 Область применения . . . . .	1
2 Нормативные ссылки . . . . .	1
3 Прямое добавление . . . . .	2
4 Ультразвуковая дисперсия . . . . .	3
5 Адсорбция на инертной подложке . . . . .	3
6 Дисперсия с эмульгатором . . . . .	4
7 Протокол испытания . . . . .	6
Приложение А (справочное) . . . . .	7
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам Российской Федерации . . . . .	9

**КАЧЕСТВО ВОДЫ****Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде.  
Подготовка и обработка малорастворимых в воде органических соединений  
для последующей оценки**

Water quality. Evaluation of biodegradability of organic compounds in an aqueous medium.  
Preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation

Дата введения — 2017—02—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает четыре способа для приготовления плохо растворимых в воде органических соединений и введения их в испытательных сосудах для последующего испытания биоразлагаемости в водной среде стандартными методами. Рассматриваемые испытуемые соединения не существенно растворимы в воде для представления испытаний биоразлагаемости в нормальных условиях как описано в соответствующих методах испытаний, указанных в п. 2.

Методы подготовки представлены ниже:

- прямое добавление (раздел 3): этот способ ограничен для нелетучих тестовых соединений, если инерт поддерживает или растворители используются;
- ультразвуковая дисперсия (раздел 4): этот способ применяют для нелетучих жидкостей и твердых соединений;
- адсорбция на инертном носителе (раздел 5);
- дисперсии или эмульсии с эмульгатором (раздел 6).

Следующие тесты на биоразлагаемость являются преимущественно методами с использованием анализа выделенного диоксида углерода (ИСО 9439) и определением содержания кислорода (ИСО 9408). В настоящем стандарте не приведены эти методы испытания, он ограничен только описанием способа введения испытуемых веществ в испытательную среду и сохранением их в растворенном состоянии. Эти способы внедрены при соблюдении условий эксперимента, описанных в стандартизованных методах для определения биоразлагаемости. Необходимо отметить, что летучие химические вещества могут не подвергнуться испытания методом диоксида углерода, приведенном в ИСО 9439.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие международные стандарты:

ИСО 9408:1999 Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium by determination of oxygen demand in a closed respirometer (Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод оценки полной аэробной биоразлагаемости путем определения кислородной потребности в закрытом респирометре)

ИСО 9439:1990 Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the «ultimate» aerobic biodegradability of organic compounds — Method by analysis of released carbon dioxide (Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод оценки полной аэробной биоразлагаемости путем измерения количества выделенного диоксида углерода)

### 3 Прямое добавление

Любой из приведенных способов может использоваться:

- испытываемое соединение взвешивают и непосредственно вводят в испытательный сосуд, который подвергают продолжительному перемешиванию.

**Примечание** — Некоторые органические соединения, которые в небольших количествах растворимы в воде, начинают растворяться быстрее при добавлении щелочи или кислоты. Они могут быть введены как кислотные или щелочные маточные растворы при условии, что не протекает существенной реакции с испытываемым веществом. Испытуемая среда доводится до нейтральной перед добавлением инокулята;

- испытываемое соединение взвешивают внутри подходящего инертного носителя и вводят в испытательные сосуды, которые подвергают продолжительному перемешиванию;

- раствор испытываемого соединения готовят в летучем органическом растворителе и вводят в испытательные сосуды, которые подвергают продолжительному перемешиванию.

Растворитель, который следует использовать в минимальных количествах, затем удаляют по возможности наиболее полно, путем перемешивания перед добавлением испытательной среды.

#### 3.1 Реагенты

Летучий органический растворитель выбирают по его способности растворить испытываемое соединение.

Выбранный растворитель не должен реагировать с испытываемым соединением или с каким-либо компонентом среды.

Растворитель должен быть небiorазлагаемым и нетоксичным по отношению к бактериям при условиях последующих испытаний биоразлагаемости, особенно если он не может быть удален в достаточной степени.

Подходящими растворителями является ацетон или дихлорметан.

#### 3.2 Оборудование

3.2.1 Инертные подложки, которые могут быть введены в испытательные сосуды, например, предметные стекла.

3.2.2 Мешалки, в достаточном количестве для обеспечения перемешивания содержимого используемых испытательных сосудов в соответствующих испытаниях биоразлагаемости.

Палочки для перемешивания следует выбирать из такого материала, у которого составляющие пластикового покрытия не будут вносить загрязнение в испытываемую среду и не будут адсорбировать испытываемое соединение. Следует избегать нагревания испытательных сосудов при перемешивании повышения температуры испытания.

#### 3.3 Метод

##### 3.3.1 Прямое добавление

Испытуемые соединения с кристаллической структурой взвешивают и напрямую добавляют в испытательные сосуды.

Невязкие жидкие соединения могут быть добавлены мерным шприцом высокой точности. Испытуемые соединения, которые существенно растворимы в воде в кислой или щелочной среде, могут вводиться как маточный раствор. Подготовить маточный раствор такого испытываемого соединения в деионизированной воде подгоняют неорганической кислотой или щелочью для существенного повышения или понижения pH. Добавляют соответствующее количество маточного раствора в испытательную среду для получения желаемой концентрации испытываемого соединения в испытательном сосуде. Изменяют pH среды и доводят его до необходимого перед добавлением инокулята.

##### 3.3.2 Использование подложек

Твердые испытываемые соединения измельчают настолько мелко, насколько это возможно, затем взвешивают. Взвешивают жидкости, включая вязкие вещества, без воздействия на них или, если возможно, отверждают их в жидком азоте и тонко измельчают перед взвешиванием.

Взвешивают на подложке (3.2.1) количество соединения, которое соответствует первичной концентрации органического углерода, требуемой для использования в соответствии с методом испытания.

Вводят подложку в каждый испытательный сосуд и также вводят подложку без испытываемого соединения в каждый из контрольных сосудов.

Перемешивают с использованием мешалок (3.2.2) в течение всего испытания биоразлагаемости.

### 3.3.3 С использованием растворителя

Готовят раствор испытуемого соединения в минимальном количестве выбранного органического растворителя (3.1).

В испытательные сосуды вводят количество растворителя, необходимое для обнаружения начальной концентрации органического углерода, требуемого для данного метода испытания.

Вводят такое же количество растворителя без какого-либо испытуемого соединения в каждый из контрольных сосудов.

Выпаривают растворитель, по возможности полностью, используя соответствующие методы.

**Примечание** — Испытуемый раствор может растекаться по основанию испытательных сосудов и тогда систему продувают газом и/или перемешивают. Остаточное количество растворителя трудно удалить. Могут иметь место помехи, если растворитель биоразлагаем или подавляет бактерии.

Затем проводят испытание биоразлагаемости.

## 4 Ультразвуковая дисперсия

Эмульсии или дисперсии испытуемого соединения готовят, используя ультразвуковую пробу, и вводят в испытательные емкости, которые продолжительно перемешивают (см. 3.2.2).

### 4.1 Оборудование

4.1.1 Ультразвуковой преобразователь, способный продуцировать частоту около 20 кГц.

4.1.2 Мешалки, в достаточном количестве для обеспечения перемешивания содержимого используемых испытательных сосудов (см. 3.2.2).

### 4.2 Метод

Добавить, например, 10 г или 10 см<sup>3</sup> испытуемого соединения в стакан объемом 500 см<sup>3</sup>, содержащий примерно 400 см<sup>3</sup> деионизированной воды.

Испытуемое соединение должно быть представлено в избытке, для того, чтобы получить насыщенный раствор. Устанавливают ультразвуковой преобразователь (4.1.1) таким образом, чтобы его верх был настолько близко насколько это возможно к поверхности между водой и испытуемым соединением.

Используют мешалку (4.1.2) для перемешивания в лабораторном стакане так чтобы соединение осело на дно.

Устанавливают на преобразователе частоту около 20 кГц и поддерживают ее в течение 30 мин.

Выключают преобразователь, дают эмульсии или дисперсии осесть в течение 15—30 мин, затем сливают ее от избытка испытуемого соединения в другой сосуд.

**Примечание** — Пропорции и рисунки приведены только в качестве примера.

**Примечание** — Некоторые вещества подвержены распаду при повышенных температурах если протекает генерация тепла на концевом датчике. Это может также привести к возрастанию температуры в основном объеме раствора. Этого можно избежать путем измерения и контролирования температуры, снижения энергии дезинтегратора или периодическая обработка ультразвуком. В некоторых случаях проблемы могут встречаться из-за разрушения химических веществ. В этом случае выбирают другой метод.

Используя соответствующий аналитический метод (специальный анализ или анализ общего органического углерода (ТОС)), анализируют аликвоту полученной эмульсии или дисперсии и устанавливают концентрации испытуемого соединения.

Вводят подходящий объем эмульсии или дисперсии в испытательные колбы чтобы получить начальную концентрацию органического углерода, требуемую для использования настоящим методом.

Поддерживают перемешивание в течение всего испытания биоразлагаемости.

**Примечание** — Могут возникнуть трудности в получении устойчивой эмульсии или дисперсии. Поэтому требуется особая осторожность при распределении аликвот по испытательным колбам. Если окажется невозможным получить существенно устойчивую эмульсию или существенно высокую концентрацию для проведения испытания, то испытуемое соединение может быть введено прямо в испытательную среду и диспергировано ультразвуком в испытательных колбах перед добавлением инокулята.

## 5 Адсорбция на инертной подложке

Испытуемое соединение адсорбируется на инертной подложке и вводят в испытательные колбы. Дисперсия поддерживается в среде путем продолжительного перемешивания.

## 5.1 Реагенты

### 5.1.1 Инертная подложка

Используют силикатный гель, фильтры из стекловолокна или другие небiorазлагаемые инертные подложки, которые не испускают органический или неорганический углерод в водную среду.

Следует удостовериться при проведении предварительных работ, что подложка инертна и не содержит углерод; чтобы избежать или минимизировать воздействия на площади поверхности, количество подложки должно быть минимальным. Испытуемое соединение следует адсорбировать на поверхности, но не быть адсорбированным или слишком закрепленным на подложке.

**П р и м е ч а н и е** — Например, при использовании силикатного геля используют следующие подложки:

- силикатный гель, используемый для тонкослойной хроматографии (размер частиц 15  $\mu\text{m}$ );
- силикатный гель, используемый для колоночной хроматографии (размер частиц от 20 до 500  $\mu\text{m}$ ).

### 5.1.2 Растворитель

Летучий растворитель выбирают по его способности растворить испытуемое соединение.

Он должен быть не токсичен для бактерий и по возможности небiorазлагаемым при условиях последующих испытаний биоразлагаемости. Это должно быть испытано предварительно или при последующих испытаниях биоразлагаемости.

В зависимости от испытуемого соединения подходят ацетон или дихлорметан.

## 5.2 Оборудование

5.2.1 Мешалки, в достаточном количестве для гарантии, что используемые испытательные сосуды в соответствующих испытаниях биоразлагаемости могут быть перемешаны (3.2.2).

## 5.3 Метод

Готовят количество испытуемого соединения достаточное чтобы пропитать подложку, требуемое применяемым методом испытания биоразлагаемости.

Например, смешивают вместе путем перемешивания в колбе емкостью 250  $\text{cm}^3$  в течение двух часов 30 г подложки (5.1.1) и 150  $\text{cm}^3$  раствора 1  $\text{г/дм}^3$  испытуемого соединения в выбранном растворителе (5.1.2). В то же время проводят такую же процедуру с использованием только подложки и растворителя в качестве контрольной.

В обоих случаях извлекают и высушивают растворитель полностью выпаривая. Это может быть осуществлено с использованием последовательно роторного испарителя, вентилируемой печи и вакуумной печи при 45 °С.

**П р и м е ч а н и е** — Последние следы растворителя может быть сложно удалить. Могут возникнуть помехи если растворитель биоразлагаем или подавляет бактерии.

Определяют количество соединения, пропитавшего подложку, в трех образцах по 1,5 г или более, используя один из следующих методов:

- количественный элементный анализ количества углерода, образованный из соединения, используя высокотемпературный анализатор общего углерода, а затем вычитают значения, полученные для подложки, обработанной только растворителем;
- определение химической потребности в кислороде пропитанного соединения на инертной подложке, а затем вычитание значения, полученного для подложки, обработанной только растворителем;
- экстракция соединения с использованием органического растворителя и количественного анализа специфическим аналитическим методом.

Из количества испытуемого соединения на подложке определяют количество подложек, которые должны быть введены в испытательные колбы для получения начальной концентрации органического углерода испытуемого соединения, требуемого для используемого метода испытания.

Вводят такое же количество подложек, обработанных только растворителем по одной в каждую испытательную колбу.

## 6 Дисперсия с эмульгатором

Дисперсия или эмульсия испытуемого вещества готовится с использованием эмульгатора и вводится в испытательные колбы, которые продолжительно встряхивают.

### 6.1 Растворитель для стадии эмульсификации

Растворитель, летучий при необходимости и существенно поддающийся смешению в воде, выбирают в соответствии с его способностью растворить испытуемое соединение. Могут возникнуть труднос-

ти удалении растворителей, которые в высокой степени смешиваются в воде. В этом случае их не следует использовать.

Растворитель должен быть нетоксичным к бактериям и небioresазлагаемым в условиях последующего испытания биоразлагаемости (например, пентан, гексан или 1,1-дихлор-1-фторэтан).

### 6.1.1 Эмульгатор

Эмульгатор должен быть не биоразлагаемым и не токсичным в условиях последующих испытаний биоразлагаемости.

**Примечание** — Если биоразлагаемость и ингибирование бактерий эмульгатора не известно, то это следует исследовать предварительно или на дополнительных образцах при последующем испытании биоразлагаемости, например, используя одну колбу, содержащую только эмульгатор для измерения биоразлагаемости, и другую, содержащую эмульгатор и вещество сравнения такое как бензоат натрия для измерения ингибирования.

В качестве примера можно использовать следующие вещества:

- а) блок-сополимер оксида этилена и оксида пропилена со значением гидрофильно-липофильного баланса около 9;
- б) блок-сополимер оксида этилена и оксида пропилена со значением гидрофильно-липофильного баланса около 13,5;
- с) триолеат сорбитан полиэтилена.

**Примечание** — Synperonic PE/P94, Synperonic PE/PIO3 или Tween 85 — примеры подходящих продуктов доступных на рынке для веществ а), б) и с), соответственно. Эта информация дана для удобства пользователей настоящего международного стандарта и не означает одобрения со стороны ИСО данной продукции.

## 6.2 Оборудование

6.2.1 Мешалки, в достаточном количестве для гарантии, что используемые испытательные сосуды в соответствующих испытаниях биоразлагаемости могут быть перемешаны (3.2.2).

### 6.3 Предварительные испытания для выбора эмульгатора

В качестве примера, готовят три раствора испытуемого соединения ( $x$  мг) в  $u$  мл растворителя (6.1.1) (в случае 1,1-дихлор-1-фторэтана используют примерно 10 мл) с каждым из следующих эмульгаторов:

- а) только вещество [6.1.2 а)]  $\frac{x}{2}$  мг;
- б) только вещество [6.1.2 б)]  $\frac{x}{2}$  мг;
- с) смесь веществ [6.1.2 а)]  $\frac{x}{4}$  мг и [6.1.2 б)]  $\frac{x}{4}$  мг.

Количество соединения, растворенного в растворителе ( $x$  мг) вычисляют чтобы получить требуемую концентрацию органического углерода в испытуемом соединении в испытательной среде применяемого метода испытания.

Гомогенизируют путем непрерывного перемешивания в течение 10 мин, затем добавляют раствор, полученный путем добавления по капле к объему испытательной среды, требуемый для каждой испытательной колбы, специальной для каждого испытания биоразлагаемости. Удаляют растворитель не прекращая перемешивания (в случае 1,1-дихлор-1-фторэтана например в течение 1 ч при 30 °С) или любым другим соответствующим методом.

Выбрать путем визуальной оценки подготовку а), б) или с), которая создает наиболее гомогенизированную эмульсию.

### 6.4 Метод

Готовят достаточное количество эмульсии или дисперсии, необходимое для проведения испытания биоразлагаемости в соответствии с выбранным методом как результат предварительных испытаний.

Готовят эмульсию или дисперсию, содержащую только испытательную среду и эмульгатор, для обеспечения удостоверения в контрольной колбе, что эмульгатор не распадается более 10 % по сравнению с испытуемым соединением.

Полученные для этой колбы результаты следует принять во внимание при вычислении результатов испытания.

Обеспечивают непрерывное перемешивание в течение испытания биоразлагаемости.



## 7 Протокол испытания

Протокол испытания биоразлагаемости соединений плохо растворимых в воде, должен содержать как минимум данные, требуемые стандартным методом биоразлагаемости. Дополнительно должен содержать ссылку на данный стандарт, с указанием используемого метода и любой модификации порядка проведения испытания, а также включать следующую информацию:

- любые подготовительные действия с соединением перед испытанием;
- метод введения испытуемого соединения;
- природу и количество подложек, растворителя или эмульгатора;
- концентрацию соединения в эмульсии или дисперсии;
- степень восстановления адсорбированного испытуемого соединения;
- степень разлагаемости эмульгатора, найденную во время испытания в контрольной колбе;
- очевидное поведение испытуемого соединения во время испытания биоразлагаемости (например, информация об объединениях, появлении фаз).

Приложение А  
(справочное)

Данное приложение дает примеры кривых биоразлагаемости (рисунок А.1 и А.2), которые были получены при использовании четырех способов приготовления, описанных в основном тексте настоящего стандарта. Последующие используемые испытания биоразлагаемости проводились в соответствии с методом диоксида углерода, приведенном в ИСО 9439.

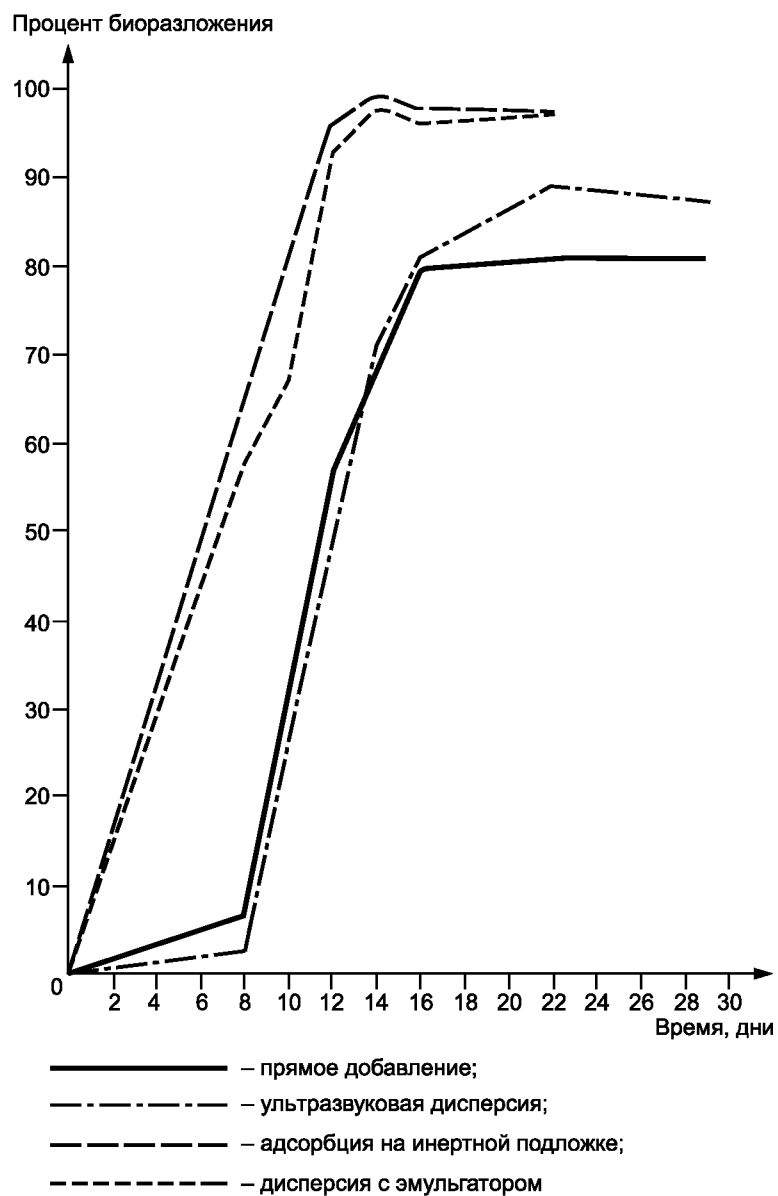


Рисунок А.1 — Кривые биоразлагаемости при использовании диизооктилфталата в качестве испытуемого соединения

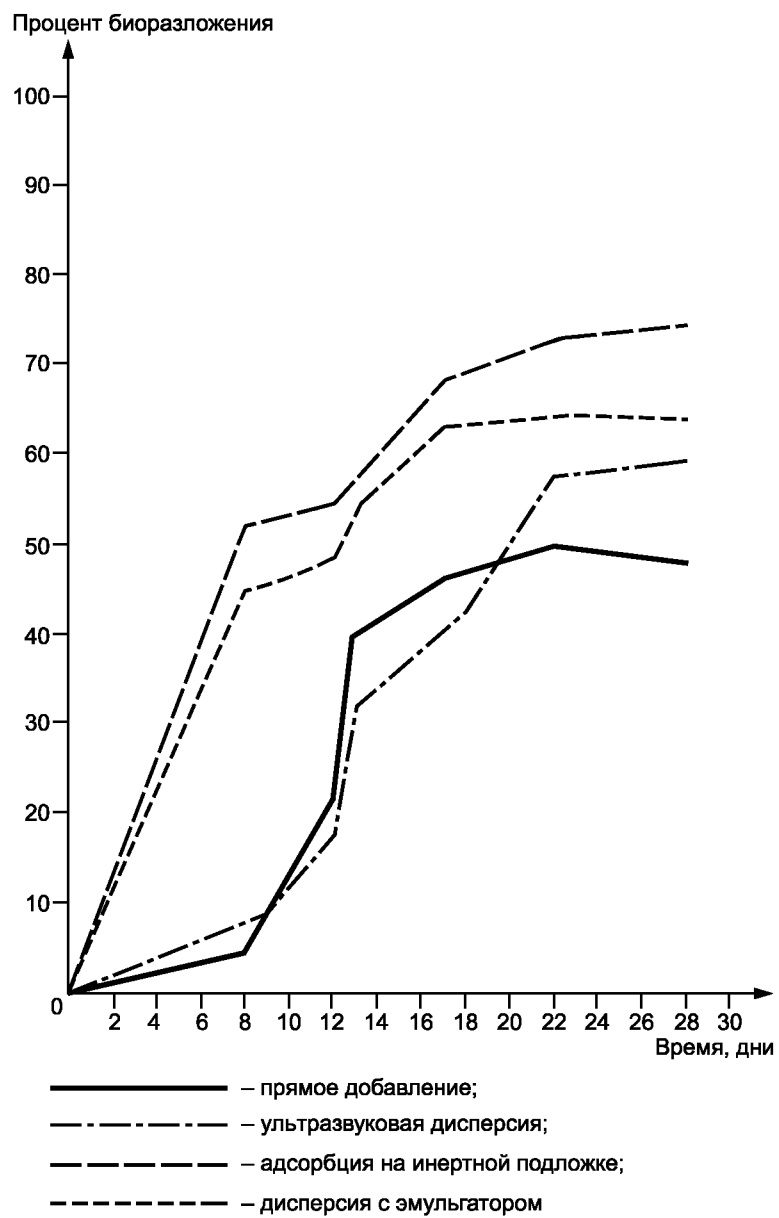


Рисунок А.2 — Кривые биоразлагаемости при использовании антрахинона в качестве испытуемого соединения

**Приложение ДА  
(справочное)**

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

Т а б л и ц а ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ИСО 9408:1991	IDT	ГОСТ Р ИСО 9408—2016 «Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод оценки полной аэробной биоразлагаемости путем определения кислородной потребности в закрытом респирометре»
ИСО 9439:1999	IDT	ГОСТ Р ИСО 9439—2016 «Качество воды. Оценка биоразлагаемости органических соединений в водной среде. Метод оценки полной аэробной биоразлагаемости путем измерения количества выделенного диоксида углерода»
<p><b>П р и м е ч а н и е</b> — В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов: IDT — идентичные стандарты.</p>		

Ключевые слова: качество воды, органические соединения, испытания, испытания воды, определение, биоразлагаемость, дисперсия, общие условия

---

Редактор *Ф.В. Старшинов*  
Технический редактор *В.Н. Прусакова*  
Корректор *И.А. Королева*  
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 13.07.2016. Подписано в печать 28.07.2016. Формат 60 × 84  $\frac{1}{8}$ . Гарнитура Ариал.

Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,45. Тираж 34 экз. Зак. 1789.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru)

[info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)