

ΕΦΗΜΕΡΙΣ ΤΗΣ ΚΥΒΕΡΝΗΣΕΩΣ

ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑΣ

Α Ο Μ Μ Α
18 ΜΑΡΤΙΟΥ 1985

ΤΕΥΧΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΥΛΛΟΥ
146

ΥΠΟΥΡΓΙΚΕΣ ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ & ΕΓΚΡΙΣΕΙΣ

Αριθ. 279/85

Τροποποίηση και συμπλήρωση του Π.Δ. 329/83. «Ταξινόμηση, συσκευασία και επισήμανση των επικίνδυνων ουσιών σε συμμόρφωση με τις Οδηγίες του Συμβουλίου των Ε.Κ. 67/548/ΕΟΚ, 69/81/ΕΟΚ, 70/189/ΕΟΚ, 71/141/ΕΟΚ, 73/146/ΕΟΚ, 75/409/ΕΟΚ, 79/831/ΕΟΚ και της Επιτροπής των ΕΚ 76/907/ΕΟΚ 79/370/ΕΟΚ (ΦΕΚ 118/τ. Α'/8.9.83).

ΓΕΝΙΚΟ ΧΗΜΕΙΟ ΤΟΥ ΚΡΑΤΟΥΣ
ΑΝΩΤΑΤΟ ΧΗΜΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ

(Συνεδρίαση 5.2.1985)

Έχοντας υπόψη:

1. Την Εισήγηση της Δ/νης Ελέγχου Ρύπανσης Περιβάλλοντος του Γ.Χ.Κ. με αριθμό 110/30.1.85.
2. Το εδάφιο θ της παρ. 8 του άρθρου 6 του Ν. 4328/29 «περί συστάσεως του Γενικού Χημείου του Κράτους», όπως τροποποιήθηκε και συμπληρώθηκε με τον Α.Ν. 754/37 (άρ. 3 παρ. 2 και 3).
3. Το άρθρο 4 του Διατάγματος της 31ης Οκτωβρίου 1929 «περί κανονισμού της λειτουργίας και των εργασιών του Ανωτάτου Χημικού Συμβουλίου».
4. Το Ν. 115/1975 «περί τροποποιήσεως διατάξεων των Ν. 4328/1929».
5. Την απόφαση των Υπουργών Προεδρίας και Οικονομικών για αναμόρφωση πλλολογικών εργαζών Γνωμοδοτικής και Αποφασιστικής αρμοδιότητας του Υπουργείου Οικονομικών 0.208/181 (ΦΕΚ 214/Β'/1982).
6. Τις διατάξεις του άρθρου 1 παρ. 1 του Ν. 1338/83

(ΦΕΚ 34/Α'/83), όπως τροποποιήθηκε από το άρθρο 6 του Ν. 1440/84 (ΦΕΚ 70/Α/84).

7. Την απόφαση του Πρωθυπουργού Υ. 79/84 (ΦΕΚ 413/Β'/21.6.84) περί ανάθεσης αρμοδιοτήτων στον Αναπληρωτή Υπουργό Οικονομικών Δημήτριο Τσοβόλα.

8. Τη Δ.Κ. 20959/8.8.84 κοινή απόφαση του Πρωθυπουργού και του Υπουργού Εθν. Οικονομίας «ανάθεση αρμοδιοτήτων στους Υφυπουργούς Εθν. Οικονομίας Παναγιώτη Ρουμελιώτη και Αντώνη Γεωργιάδη» (ΦΕΚ 545/Β'/8.8.1984), αποφασίζουμε:

Εγκρίνουμε την τροποποίηση και συμπλήρωση Παραρτημάτων του Π.Δ. 329/83 ως εξής:

Άρθρο 1.

Σκοπός της παρούσης αποφάσεως είναι η προσαρμογή της Ελληνικής Νομοθεσίας προς τις οδηγίες της Επιτροπής:

- α) 81/957/ΕΟΚ (L 351/5 της 7.12.1981)
- β) 82/232/ΕΟΚ (L 106/18 της 21.4.82)
- γ) 83/467/ΕΟΚ (L 257 της 16.9.1983)
- δ) 84/449/ΕΟΚ (L 251 της 19.9.1984)

Οι ανωτέρω οδηγίες προσαρμόζουν στην τεχνική πρόοδο την οδηγία του Συμβουλίου Ε.Κ. 67/548/ΕΟΚ, (όπως τροποποιήθηκε για τελευταία φορά με την οδηγία 79/831/ΕΟΚ) προς την οποία η Ελληνική Νομοθεσία έχει προσαρμοσθεί με το Π.Δ. 329/83 (ΦΕΚ 118/Α'/8.9.83), περί «ταξινόμησης, συσκευασίας και επισήμανσης των επικίνδυνων ουσιών».

Άρθρο 2.

Το Παράρτημα Ι «κατάλογος επικίνδυνων ουσιών», στο οποίο παρατίθεται το άρθρο 1 του Π.Δ. 329/83, τροποποιείται και συμπληρώνεται ως ακολούθως:

α) No 015-012-00-1 Τριελεύχος τετραφωσφόρος

Τά σύμβολα



Αντικαθίστανται από τα σύμβολα



Οι ένδειξεις ειδικών κινδύνων και οι οδηγίες προφυλάξεως αντικαθίστανται από τις ακόλουθες:

R: 11-22

S: 7-16-24/25

2) Η ουσία No 015-017-00-4 φερει στο έλεγχ των αριθμ: 015-018-00-4

Η ονομασία στη γαλλική γλώσσα αντικαθίσταται από την ακόλουθη:

Phosphates de triéthyle (Phosphates de triéthyle)

(Mélange contenant au maximum 1% d'ortho-cresol esterifié)

3) No 024-001-00-0 Τριοξείδιο του χρωμίου

Μετά το R: 8-35 προσθέτετε: -43

4) No 024-002-00-6 Διχρωμικό κάλιο

Μετά το R: 36/37/38 προσθέτετε -43

5) No 024-003-00-1 Διχρωμικό άμμόνιο

Μετά το R: 1-8-36/37/38 προσθέτετε: -43

6) No 024-004-00-7 Διχρωμικό νάτριο

Μετά το R: 16/37/38 προσθέτετε: -43

7) No 024-006-00-8 Χρωμικό κάλιο

Μετά το R: 36/37/38 προσθέτετε: -43

8) No 030-001-00-1 Η ονομασία της ουσίας αντικαθίσταται από την ακόλουθη:

Zinkpulver - Zinkstaub (stabilisiert)

Zinkpulver - Zinkstaub (nicht stabilisiert)

Ψευδαργύρος σκόνη (ευφωφός)

Zinc powder - Zinc dust (pyrophoric)

Zinc en poudre - Poussière de zinc (pyrophorique)

Zinc in polvere - (pyroforica)

Zinkpoeeder - Zinkstof (pyrofor)

9) No 030-002-00-7 Η ονομασία της ουσίας αντικαθίσταται από την ακόλουθη:

Zinkpulver - Zinkstaub (stabilisiert)

Zinkpulver - Zinkstaub (stabilisiert)

Ψευδαργύρος σκόνη (σταθεροποιημένος)

Zink powder - Zinc dust

Zinc en poudre - poussière de zinc (stabilisée)

Zinc in polvere (stabilizzata)

Zinkpoeeder - Zinkstof (gestabiliseerd)

10) No 048-001-00-5 Η ονομασία της ουσίας αντικαθίσταται από την ακόλουθη:




Cadmiumforbindelser, med undtagelse af cadmiumsulfid (CdS), cadmiumsulfoselenid (CdS₂·yCdSe) og blandinger af cadmiumsulfid med zinksulfid (xCdS₂·yZnS), blandinger af cadmiumsulfid med livkalksulfid (xCdS₂·yHgS) såvel som cadmiumforbindelser opført andetsteds i dette bilag

Cadmiumverbindungen, mit Ausnahme von Cadmiumsulfid (CdS), Cadmiumselenosulfid (xCdS₂·yCdSe) und Mischungen von Cadmium und Zinksulfid (xCdS₂·yZnS), Mischungen von Cadmium und Quecksilbersulfid (xCdS₂·yHgS), sowie der in dieser Anlage besonders aufgeführten Cadmiumverbindungen

Ενώσεις καδμίου, εκτός του θειούχου καδμίου (CdS), του θειοσεληνίου καδμίου (CdS₂·CdSe), των μειγμάτων θειούχου καδμίου με θείοχο ψευδαργύρο (xCdS₂·yZnS), των μειγμάτων θειούχου καδμίου με θειούχο υδράργυρο (xCdS₂·yHgS), και των ενώσεων καδμίου που καταναλώνονται από παρόν παράρτημα

Cadmium compounds, with the exception of cadmium sulphide (CdS), cadmium sulphoselenide (xCdS₂·yCdSe), mixture of cadmium sulphide with zinc sulphide (xCdS₂·yZnS), mixture of cadmium sulphide with mercury sulphide (xCdS₂·yHgS), and those specified elsewhere in this Annex

- Composés de cadmium à l'exclusion du sulfure (CdS), du sulfocéleminure (CdS, S₂CdSe), du sulfure mixte cadmium-zinc (CdS, ZnS), du sulfure mixte cadmium-mercure (CdS, HgS) et de ceux nommément désignés dans cette annexe
- Composti di cadmio, esclusi il sulfuro (CdS), il solfo-seleniuro (CdS, S₂CdSe), i solfuri misti di cadmio e zinco (CdS, ZnS), i solfuri misti di cadmio e mercurio (CdS, HgS) e quelli espressamente indicati in questo allegato
- Cadmiumverbindungen mit uitzondering van cadmiumsulfide (CdS), cadmiumsulfocelminure (CdS, S₂CdSe) en mengsels van cadmiumsulfide met zinksulfide (CdS, ZnS), mengsels van cadmiumsulfide met kwik-sulfide (CdS, HgS), alsmede van in deze bijlage met name genoemde Cd-verbindingen
- 11) No 080-002-00-6 'Η όνομασία της οσίας άντικαθίσταται από την ακόλουθη:
 Organische kwikselverbindingen, undiagen kwikseliv (II) sulfid (zinnober) sådanne nævnt andetsteds i dette bilag
 Anorganische Quecksilberverbindungen mit Ausnahme von Quecksilber (II)sulfid (Zinnober) und der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Άνόργανες ένωσης ύδροργύρου έκτός από τό θεώδρο ύδροόργυρο και τίς ένωσης που ρητάς κατονομάζονται στο παρόν παράρτημα
 Inorganic compounds of mercury with the exception of mercury sulphide and those specified elsewhere in this Annex
 Composés minéraux du mercure à l'exception du sulfure mercurique (cinabre) et de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti inorganici del mercurio, escluso il solfuro di mercurio (cinabro) e quelli espressamente indicati in questo allegato
 Anorganische kwikverbindingen, met uitzondering van kwiksulfide en van de in deze bijlage met name genoemde
- 12) No 080-004-00-7 'Η όνομασία της οσίας άντικαθίσταται από την ακόλουθη:
 Organiske kvikselforbindelser undiagen sådanne nævnt andetsteds i dette bilag
 Organische Quecksilberverbindungen mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Όργανικές ένωσης ύδροργύρου έκτός από αυτές που ρητάς κατονομάζονται στο παρόν παράρτημα
 Organic compounds of mercury with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés organiques du mercure à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti organici del mercurio, esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
 Organische kwikverbindingen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde
- 13) No 082-001-00-6 'Η όνομασία της οσίας άντικαθίσταται από την ακόλουθη:
 Blyforbindelser, undiagen sådanne nævnt andetsteds i dette bilag
 Bleiverbindungen mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις μολύβου, εκτός από αυτές που ρητάς κατονομάζονται στο παρόν παράρτημα
 Lead compounds with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés du plomb à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Compositi del piombo, esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
 Leadverbindingen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde
- 14) No 601-007-00-7 'Η όνομασία της οσίας άντικαθίσταται από την ακόλουθη:
 Hexan
 Blanding af isomere der indeholder mindre end 5 % n-Hexan
 Hexan
 Isomerenmisch mit höchstens 5 % n-Hexan
 Έξάντο
 Μέγμα Ισομερών που περιέχει λιγότερο από 5 % n-Έξάνο
 Hexane
 Mixture of isomers containing a maximum of 5 % n-Hexane
 Hexane
 Mélange d'isomères contenant un maximum de 5 % n-Hexane
 Esano
 Miscela di isomeri contenente un massimo di 5 % n-Esano
 Hexaan
 Mengsel van isomeren bevattende een maximum van 5 % n-Hexaan
- 15) No 603-026-00-6 1-Χλωρο-2,3-εποξυπροπάνιο
 Οι ένδείξεις ειδικών κινδύνων και οι οδηγίες ασφαλείας άντικαθίστανται από τις ακόλουθες:
 R: 10-26/27/28-40
 S: 9-36/37/39-45
- 16) No 603-038-00-1 1-Άλλυλο-2,3-εποξυπροπανολόλης
 Μετά τό R: 20 προσθέστε: -43
- 17) No 603-039-00-7 Βουτυλο-2,3-εποξυπροπανολόλης
 Μετά τό R: 20 προσθέστε: -43
- 18) No 603-001-00-5 Φαρμαλβείδη ... %
 Μετά τό R: 36/37 προσθέστε: -43

- 19) Νο 605-001-01-2 **Φορμαλέδη ...**
 Μετά τό R: 23/24/25 προσβάτε: -43
 Μετά τό R: 2-28 προσβάτε: -26
- 20) Νο 607-032-00-X **Ακρυλικός εθουλατεράς**
 Μετά τό R: 11-20/22-36-37/38 προσβάτε: -43
- 21) Νο 607-033-00-5 **Μεθακρυλικός η-φουτυλατεράς**
 Μετά τό R: 10-36/37/38 προσβάτε: -43
- 22) Νο 607-035-00-6 **Μεθακρυλικός μεθουλατεράς**
 Μετά τό R: 11-36/37/38 προσβάτε: -43
- 1 23) Νο 607-062-00-3 **Ακρυλικός η-βουτυλατεράς**
 Μετά τό R: 10-36/37/38 προσβάτε: -43
- 24) Νο 607-106-00-1 **Ανυδρίτης τού 1-μεθυλ-5-νορβορνενο-2,3-δικαρβοξυλικού οξέος**
 Μετά τό R: 22-36/37/38 προσβάτε: -43
- 25) Νο 607-113-00-X **Μεθακρυλικός ισοβουτυλατεράς**
 Μετά τό R: 10-36/37/38 προσβάτε: -43
- 26) Νο 607 115-00-0 **Ακρυλικός ισοβουτυλατεράς**
 Μετά τό R: 10-20/21-38 προσβάτε: -43
- 27) Νο 607-117-00-1 **Ακρυλικός 2,3-εποξυπροπιλατερίνη**
 Μετά τό R: 23/24/25-34 προσβάτε: -43
- 28) Νο 607-120-00-8 **Διακρυλικός εσπίρας τής διαιβυλενυλικούλης**
 Μετά τό R: 24-36/38 προσβάτε: -43
- 29) Νο 607-121-00-3 **Ακρυλικός 2-νορβορτυλατεράς**
 Μετά τό R: 21-38 προσβάτε: -43
- 30) Νο 607-123-00-4 **Μεθακρυλικός 2,3-εποξυπροπιλατεράς**
 Μετά τό R: 20/21/22-36/38 προσβάτε: -43
- 31) Νο 607-124-00-X **Μεθακρυλικός εσπίρας τής 2-ιδροξυαιθανόλης**
 Μετά τό R: 36/38 προσβάτε: -43
- 32) Νο 607-126-00-0 **Διακρυλικός εσπίρας τής τριαιβυλενυλικούλης**
 Μετά τό R: 36/38 προσβάτε: -43
- 33) Νο 607-127-00-6 **Μεθακρυλικός εσπίρας τής 2-διαιβυλενυλαιθανόλης**
 Μετά τό R: 20-36/38 προσβάτε: -43
- 34) Νο 607-128-00-1 **Μεθακρυλικός εσπίρας τής 2-(τεταρτοταγούς βουτυλο)-έμινουαιθανόλης**
 Μετά τό R: 36/38 προσβάτε: -43
- 35) Νο 607-132-00-3 **Μεθακρυλικός εσπίρας τής 2-δμεθυλαμινουαιθανόλης**
 Μετά τό R: 21/22-36/38 προσβάτε: -43
- 36) Νο 608-010-00-2 **Μεθιερκυλονιτριλίου**
 Μετά τό R: 11-23/24/25 προσβάτε: -43
- 37) Νο 612-006-00-6 **1,2-Αιβυλενοδιαμίνη**
 Τό σύμβολο  **ἀντικαθίσταται από τό σύμβολο** 
- Οι ένδειξεις είνδικών κινδύνων και οι οδηγίες προφυλάξεως αντίκαθίστανται από τις ακόλουθες:
 R: 10-21/22-34-43
 S: 2-26-36/37/39
- 38) Νο 612-028-00-6 **Φαινυλενοδιαμίνη**
 Μετά τό R: 23/24/25 προσβάτε: -43
- 39) Νο 612-050-00-6 **Κυκλοεξυλαμίνη**
 Τό σύμβολο  **ἀντικαθίσταται από τό σύμβολο**



Οι ένδειξης επικίνδυνων κινδύνων και οι οδηγίες ασφαλείας αντικαθίστανται από τις ακόλουθες:

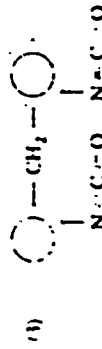
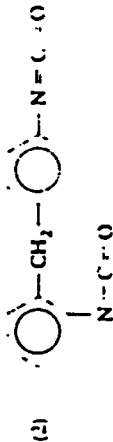
R: 10-21/22-34
S: 36/37/39

40) No 615-005-00-9 'Η όνομασία και η ταξινόμηση της ουσίας αντικαθίσταται από τις ακόλουθες:

Cas No | 584-84-9 (1)
| 91-08-7 (2)

No 615-005-00-9

Nota C:



Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat (1)
Diphenylmethan-2,4'-diisocyanat (2)
Diphenylmethan-2,2'-diisocyanat (3)
Blanding af (1), (2) og (3)

Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat (1)
Diphenylmethan-2,4'-diisocyanat (2)
Diphenylmethan-2,2'-diisocyanat (3)
Mischungen von (1), (2) und (3)


4,4'-Διοκυανατολιουόλ νο (1)
2,4'-Διοκυανατολιουόλ νο (2)
2,2'-Διοκυανατολιουόλ νο (3)
Μίγματα των (1), (2) και (3)

Diphenylmethane-4,4'-di-isocyanate (1)
Diphenylmethane-2,4'-di-isocyanate (2)
Diphenylmethane-2,3'-di-isocyanate (3)
Mixture of (1), (2) and (3)

4,4'-Diisocyanate de diphenylmethane (1)
2,4'-Diisocyanate de diphenylmethane (2)
2,2'-Diisocyanate de diphenylmethane (3)
Mélange de (1), (2) et (3)

Difenilmetan-4,4'-diisocianato (MDI) (1)
Difenilmetan-2,4'-diisocianato (MDI) (2)
Difenilmetan-2,3'-diisocianato (MDI) (3)
Miscete di (1), (2) e (3)

Difenylnmethaan-4,4'-diisocyanaat (MDI) (1)
Difenylnmethaan-2,4'-diisocyanaat (MDI) (2)
Difenylnmethaan-2,2'-diisocyanaat (MDI) (3)
Mengsel van (1), (2) en (3)



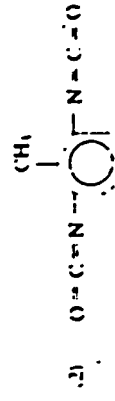
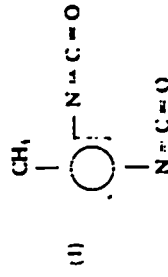
R: 20-36/37/38-42
S: 26-28-38-45

41) No 615-006-00-4 'Η όνομασία και η ταξινόμηση της ουσίας αντικαθίσταται από τις ακόλουθες:

Cas No | 584-84-9 (1)
| 91-08-7 (2)

No 615-005-00-4

Nota C



2,4-Diisocyanatotoluēn (1)
2,6-Diisocyanatotoluēn (2)
Blanding af (1) og (2)

2,4-Diisocyanat-toluol (1)
2,6-Diisocyanat-toluol (2)
Mischungen von (1) und (2)

44) Νο 603-014-00-0 2-Βουτοξυαιθανόλη

Τό σύμβολο



ἀντικαθίσταται
ἀπὸ τὸ σύμβολο



Οἱ ἐνδείξεις ἐπικινδύνων καὶ οἱ δόνητες προφυλάξεως ἀντικαθίστανται ἀπὸ τὶς ἀκόλουθες:

R: 20/21/22-37
S: 24/25

45) Νο 603-013-00-5 2-Ισοπροποξυαιθανόλη

Τὸ σύμβολο



ἀντικαθίσταται
ἀπὸ τὸ σύμβολο



Οἱ ἐνδείξεις ἐπικινδύνων καὶ οἱ δόνητες προφυλάξεως ἀντικαθίστανται ἀπὸ τὶς ἀκόλουθες:

R: 20/21-36
S: 24/25

46) Νο 603-011-00-4 2-Μεθοξυαιθανόλη

Τὸ σύμβολο

2,4 Διισοκυανιτολουόλιο (1)
2,6 Διισοκυανιτολουόλιο (2)
Μέγιστα τῶν (1) καὶ (2)

Toluene-2,4-di-isocyanate (1)
Toluene-2,6-di-isocyanate (2)
Mixtures of (1) and (2)

2,4-Diisocyanate de toluylene (1)
2,6-Diisocyanate de toluylene (2)
Mélanges de (1) et (2)

2,4-Toluene-diisocyanato (1)
2,6-Toluene-diisocyanato (2)
Miscela di (1) e (2)

Toluene-2,4-diisocyanas: (1)
Toluene-2,6-diisocyanas: (2)
Menspel "an (1) en (2)

R: 26-36/37/38-43
S: 26-28-38-45

42) 051-003-00-9


Ἡ ὄνομασία τῆς οὐσίας στὴ δακτυλὴ γλώσσα ἀντικαθίσταται ἀπὸ τὴν ἀκόλουθη:

Antimonforbindelser med undertaget af antimontriisulfid (Sb₂S₃), antimontpentasulfid (Sb₂S₅), antimonttrioxid (Sb₂O₃), antimonttetraxid (Sb₂O₄), antimontpentoxid (Sb₂O₅), samt sådanne nævnt andetsteds i dette bilag

43) Νο 603-017-00-6

Ἡ ὄνομασία τῆς οὐσίας ἀντικαθίσταται ἀπὸ τὴν ἀκόλουθη:

Cellulose nitrat (nitrocellulose) indeholdende mere end 12,6 % Nitrogen
Nitrocellulose mit mehr als 12,6 % Stickstoff
Νιτροκυτταρίνη περιέχουσα ἔλατο ἄνω τοῦ 12,6 %
Cellulose nitrate (Nitrocellulose) containing more than 12,6 % nitrogen
Nitrate de cellulose (Nitrocellulose) contenant plus de 12,6 % d'azote
Nitrocellulosa contenente più del 12,6 % d'azoto
Nitrocellulosen met meer dan 12,6 % stikstof

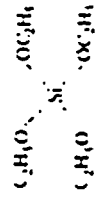


R: 24/25 14-40
S: 36/37/39

Υ) Οι ουσίες που ακολουθούν προστέθενται στο Παράρτημα Ι " κατάλογος επικινδύνων ουσιών ", του Π.Δ. 329/1983.

Cas No 74-10-4

No 014-003-0




- Ethylsilikat (Tetraethoxysilan)
- Tetraethylsilikat
- Πυριτιών τετραεθύλιον
- Tetraethyl silicate
- (Ethyl silicate)
- Silicate d'éthyle
- Silicate de tétraéthyle
- Ethyl silicato
- Tetraethylsilikaat (Ethylsilikaat)

X

R: 10-20-36/37
S:

Cas No 126-33-0

No 016-031-00-8





ἀντικαθίσταται από το σύμβολο



Οι ένδειξεις επικίνδυνων και οι άλλές κερφοδείξεις άρνηκά θίστανται από τίς ακόλουθίς:

R: 10-20/21/22-37
S: 24/25

47) No 607-071-00-2 Μεθακρυλικός αλκυλατρός:

Μετά τό R: 11-36/37, 38 κίνομηάτερ. 43

6) N° 007-008-01-0 Ή όνομασία και ή ταξινόμηση τίς ούσίης άντιπλοιστανται άπό τίς άκόλουθίς:

CAS No

No

Noa B

H₂N — NH₂
5 % ≤ συγκ. ≤ 64 %
(5 % ≤ conc. ≤ 64 %)

- Hydrazinoplossing... %
- Hydrazinlösung... %
- Διάλυμα υδραζίνης... %
- Hydrazine solution... %
- Hydrazine en solution... %
- Idrazina soluzione... %
- Hydrazine oplossing... %

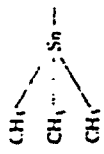
Thioarsulfonium (Tetrahydrothioarsenium):
 Tetrahydrothiophene-1,1-dioxide (Sulfolan)
 1,1-Διοξείδιον του τετραυδροθιοφάνιου
Tetrahydrothiophene-1,1-dioxide (Sulpholane):
 1,1-Dioxyde de tétrahydrothiophène (Sulfolan)
Tetraarsinefene 1,1-dioxydo
 1,1-Dioxydetetrahydrothiophenen -Sulfolan



R: 22
 S: 24

Cas No
 No 050-003-00-7

Nota A



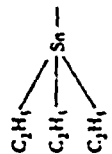
Trimethyltin-forbindelser, undtagen sådanne nævnt andetsteds i dette bilag
 Trimethyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριμεθυλοσουλφιόρου, εξαιρέσει έκείνων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα
 Trimethyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de triméthylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno trimetilic esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
 Trimethyltinverbindingen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde



R: 26/27/28
 S: 26-27-28-45

Cas No
 No 050-006-00-2

Nota A



Triethyltin-forbindelser, undtagen sådanne nævnt andetsteds i dette bilag
 Triethyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριαιθυλοσουλφιόρου, εξαιρέσει έκείνων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα
 Triethyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de triéthylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno trietilic esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
 Triethyltinverbindingen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde



R: 26/27/28
 S: 26-27-28-45

Cas No
 No 050-007-00-8

Nota A



Tripropyltin-forbindelser, undtagen sådanne nævnt andetsteds i dette bilag
 Tripropyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριπροπυλοσουλφιόρου, εξαιρέσει έκείνων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα
 Tripropyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de tripropylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno tripropilic esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
 Tripropyltinverbindingen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde



R: 23/24/25
 S: 26-27-28-44

Cas No
 No 050-008-00-3

Nota A



Tripropyltin-tribindulster, undtagen sådanne navnt andetsteds i dette bilag
 Tripropylzinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριπροπυλοκασσιτέρου, εξαιρείται έκτινων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα

Tripropyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de tripropylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno tripropilico a l'esclusione di quelli espressamente indicati in questo allegato
 Tripropyltinverbindungen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde



R: 23/24/25
S: 26-27-28-44

Case No

No 050-009-00-9

Nota A



Tripropyltin-tribindulster, undtagen sådanne navnt andetsteds i dette bilag
 Tripropylzinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριπροπυλοκασσιτέρου, εξαιρείται έκτινων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα

Tripropyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de tripropylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno tripropilico a l'esclusione di quelli espressamente indicati in questo allegato
 Tripropyltinverbindungen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde



R: 20/21/22
S: 26-28

Case No


No 050-010-00-4

Nota A



Trihexyltin-tribindulster, undtagen sådanne navnt andetsteds i dette bilag
 Trihexylzinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριεξυλοκασσιτέρου, εξαιρείται έκτινων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα

Trihexyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de trihexylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno triesilico a l'esclusione di quelli espressamente indicati in questo allegato
 Trihexyltinverbindungen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde

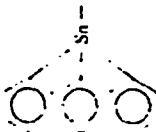


R: 20/21/22
S: 26-28

Case No


No 050-011-00-X

Nota A



Triphenyltin-tribindulster, undtagen sådanne navnt andetsteds i dette bilag
 Triphenylzinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
 Ένωσεις τριφαινοκασσιτέρου, εξαιρείται έκτινων που ρητώς κατονομάζονται στο
 παρόν παράρτημα

Triphenyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
 Composés de triphénylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
 Composti di stagno trifenilico a l'esclusione di quelli espressamente indicati in questo allegato
 Triphenyltinverbindungen met uitzondering van de in deze bijlage met name genoemde

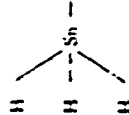


R: 23/24/25
S: 26-27-28-44

Case No

No 050-012-00-5

Nota A



Triisobutyltin-tributylester, undazgen vādanne naznt andetstedt i dette bilag
Triisobutylstannyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
Ένωσεις τριακταυβουτυλοκασιτέρου, εξαιρέσει έκείνων που ρητώς κατονομαζονται στο παρόν παράρτημα

Triisobutyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
Composés de triisobutylstannin a l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe

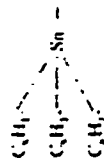
Composti di stagno triisobutile esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
Triisobutylstanninverbindungen mit unterbindung van de in deze bijlage met name genoemde

X

R: 20/21/22
S: 26-28

CaS No
No 010-014-00-6

Niota A

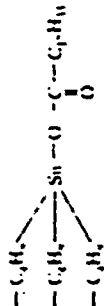


Triisobutyltin-tributylester, undazgen vādanne naznt andetstedt i dette bilag
Triisobutylstannyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in dieser Anlage bezeichneten
Ένωσεις τριακταυβουτυλοκασιτέρου, εξαιρέσει έκείνων που ρητώς κατονομαζονται στο παρόν παράρτημα
Triisobutyltin compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex
Composés de triisobutylstannin a l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe
Composti di stagno triisobutile esclusi quelli espressamente indicati in questo allegato
Triisobutylstanninverbindungen mit unterbindung van de in deze bijlage met name genoemde

X

R: 16/37/38
S:

CaS No
No 010-014-00-6

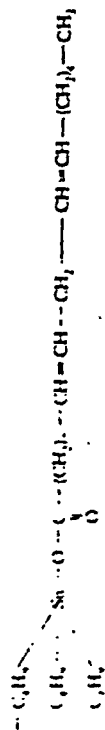


Tributyltinoleat
Tributylstannololeat
Έλαιος έκτέρας του τριβουτυλοκασιτέρου
Tributyltin oleate
Oleate de tributylstannin
Tributylstagnio oleatu
Tributyltinoleat

X

R: 20/21/22
S: 26-28

CaS No
No 010-015-00-1

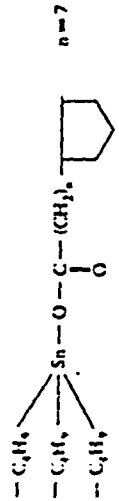


Tributyltinoleat
Tributylstannololeat
Λιπατικός έκτέρας του τριβουτυλοκασιτέρου
Tributyltin oleate
Oleate de tributylstannin
Tributylstagnio linoleatu
Tributyltinoleat

X

R: 20/21/22
S: 26-28

CaS No
No 010-016-00-7



Tributyltinaphthalenat
 Tributylzinaphthalenat
 Ναφθαλικός εστέρας του τριβουτυλοκασσιτέρου
 Tributyltin naphthalenat
 Naphthaléne de tributylétain
 Tributylzinnaphtalennat
 Tributyltinaphthalenat

X

R: 20/21-22
 S: 16-28

Cas No

No 080-007-00-1

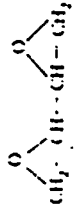
Nota A

Cas No 1460-51-5

No 601-060-00-1

X

R: 20/21-22
 S: 17-19



Hg Cn HZn + 1)n

Kviktolvallyler
 Quick Silberalkyle
 Άλλυλοκεφάλυγα του υδραργύρου
 Mercury alkyls
 Dérivés alkyles du mercure
 Mercurio alchili
 Kvikalkylen

X

R: 26/27/28-33
 S: 2-11-28-16-45

Cas No 96-18-4

No 602-062-00-X

Nota D

Cas No 97-99-4

No 603-061-00-7

Diopoxyl-1,2:3,4-butan (Butan-1,2:3,4-diepoxyd
 1,2:3,4-Diepoxybutan (Butadien diepoxyd)
 1,2:3,4-Διεποξυβουτανών
 1,2:3,4-Diepoxybutane (Butadiene diepoxyde)
 1,2:3,4-Diepoxybutane (Diepoxyde de butadiéne)
 1,2:3,4 Diepoxybutan
 1,2:3,4-Diepoxybutan (Butadien diepoxyde)

X

R: 23/24/25-36/37/38-40-42-43
 S: 21-24-44

C1 CH2 - CH(Cl) - CH2 Cl



- 2,5-Dihydroxymethylloxolan (Tetrahydrofurfurylalkohol)
- Tetrahydrofurfurylalkohol (2,5-dihydroxymethyltetrahydrofuran)
- Τετραϋδροφουρούλαλκοόλη (2,5-Υδροξυμεθυλοτετραϋδροφουράνιο)
- Tetrahydro-2-furymethanol (Tetrahydrofurfuryl alcohol)
- Tetrahydro-2-furfurmethanol (Alcohol tetrahydrofurfurylique)
- Tetrahydro-2-furimetanolis (alcohol tetrahydrofurfurilico)
- Tetrahydro-2-furfurylmethanol



R: 16
S: 19

Cas No

No 603-063-00-2



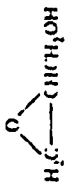
- 2,5-Bis(hydroxymethyl)loxolan
- 2,5-Bis(hydroxyethyl)-tetrahydrofuran
- 2,5-Bis(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran
- 2,5-Dic(υδροξυμεθυλο)-τετραϋδροφουράνιο
- Tetrahydrofuran-2,5-dyldimethanol
- 2,5-Dioxanediimethanol
- [2,5-Bis(hydroxymethyl)tetrahydrofuranic]
- 2,5 bis (hydroxymethyl) tetrahydrofuran
- 2,5 bis (hydroxymethyl) tetrahydrofuran



R: 36/37/38
S: 39

Cas No 516-52-5

No 603-063-00-8



- 2,3-Epoxypropanol (Glycidol)
- 2,3-Epoxy-1-propanol (Glycidol)
- 2,3-Εποξυ-1-προπανόλη
- 2,3-Epoxy-1-propanol (Glycidol)
- 2,3-Epoxy-1-propanol (Glycidol)
- 2,3-Epoxy-1-propanolo
- 2,3-Epoxy-1-propanol



R: 23/24/25-16-17/18-42/43
S: 44

Cas No 107-98-2

No 603-064-00-3

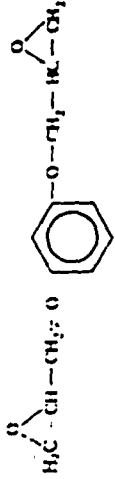


- 1-Methoxy-2-propanol
- 1-Methoxy-2-propanol (Propylenglycolmonomethylether)
- 1-Μεθοξυ-2-προπανόλη (Μονομεθυλοέθερας της προπυλενογλυκόλης)
- 1-Methoxy-2-propanol (Monopropylene glycol methyl ether)
- 1-Methoxy-2-propanol (Eiher monomethylique du propylene-glycol)
- 1-Metossi-2-propanolo
- 1-Methoxy-2-propanol (Propylenglycolmonomethylether)


R: 10
S: 24

Cas No 101-90-6

No 603-063-00-9



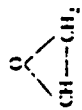
- 1,3-Bis(2,3-epoxypropoxy)benzene (Resorcindiglycidylether)
- 1,3-Bis(2,3-epoxypropoxy)benzol (Resorcindiglycidylether)
- 1,3-Bis-(2,3-εποξυπροποξυ)βενζόλιον (Δισ(2,3-εποξυπροποξυ)αιθέρας της ρεσορτίνης)
- 1,3-Bis(2,3-epoxypropoxy)benzene (Resorcinal diglycidyl ether)
- 1,3-Bis(2,3-εποξυπροποξυ)βενζίνη (Είθερ diglycidique du resorcinol)
- 1,3-Bis(2,3-epoxypropoxy)-benzene
- 1,3-Bis(2,3-epoxypropoxy)benzen (Resorcinal diglycidylether)



R: 23/24/25-60-4,
S: 23-24-44

Cas No 4223-10-3

Nin 603-066-00-4



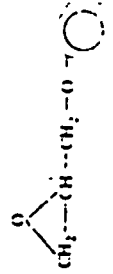
- 1,2-Epoxy-cyclohexan-4-oxiran (1-Epoxyethyl-3,4-epoxy-cyclohexan)
- 1-Epoxyethyl-3,4-εποξυκυκλοεξαν (vinylcyclohexan-diepoxid)
- 1-Εποξυαιθυλο-3,4-εποξυκυκλοεξάνιο
- 1,2-Epoxy-4-epoxyethylcyclohexane (Vinylcyclohexane diepoxide)
- 1-Epoxyethyl-3,4-εποξυκυκλοεξάνιο (Diepoxidic de vinylcyclohexane)
- 1-Epoxyethyl-3,4-εποξυκυκλοεξάνιο
- 1-Epoxyethyl-3,4-εποξυκυκλοεξάνιο (vinylcyclohexandiepoxidic)



R: 23/24/25-40
S: 23-24-44

Cat No 122-60-1

No 603-067-00-X



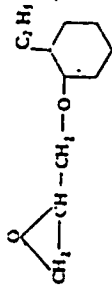
- 1,2-Epoxy-3-phenoxyp propane (Phenylglycidylether)
- 1,2-Epoxy-3-phenoxyp propane (Phenylglycidylether)
- 1,2-Εποξυ-3-φαινοξυπροπάνιο
- 1,2-Epoxy-3-phenoxyp propane (Phenyl glycidyl ether)
- 1,2-Epoxy-3-φαινοξυπροπάνιο (Oxyde de glycidyle et de phényle)
- 1,2-Epoxy-3-φαινοξυπροπάνιο
- 1,2-Epoxy-3-φαινοξυπροπάνιο (Phenylglycidylether)




R: 21-43
S: 24/25

Cas No

No 603-068-00-5



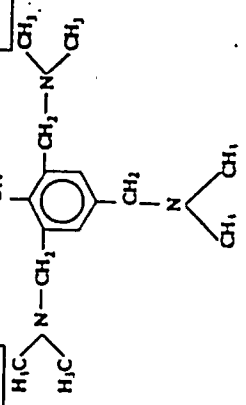
- 1-(2-Ethylcyclohexanoxyl)-2,3-epoxypropan (Ethylcyclohexylglycidylether)
- 1-(2-Ethylcyclohexanoxyl)-2,3-εποξυπροπάνιο (Ethylcyclohexylglycidylether)
- 2,3-Εποξυπροποξυλο-2-αιθυλοκυκλοεξάνιο
- 2,3-Epoxypropyl-2-ethylcyclohexyl ether (Ethylcyclohexylglycidyl ether)
- 1-(2-Ethylcyclohexyl)-2,3-εποξυπροπάνιο (Oxyde de 2-ethylcyclohexyle et de glycidyle)
- 1-(2-Ethylcyclohexyl)-2,3-εποξυπροπάνιο (Etil-cicloecil glicidil eter)
- 1-(2-Ethylcyclohexanoxyl)-2,3-epoxypropan (2-Ethylcyclohexyl-glycidylether)



R: 36/38-43
S: 26-28-37/39

Cat No 90-72-2

No 603-069-00-0



Diethanolamin
 Diethanolamin
 Διοθανολαμίνη
 2,2'-Iminodiethanol (Diethanolamine)
 2,2'-Iminodiethanol (Diethanolamine)
 Diethanolamina
 2,2'-Diethanolamine



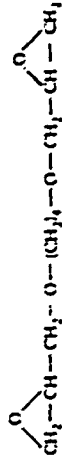
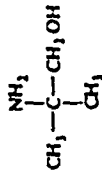
R: 36/38
 S: 26

Cas No

No 603-070-00-6

Cas No 124-68-5

No 603-072-00-7



2-Amino-2-methyl-1-propanol
 2-Amino-2-methyl-1-propanol (Isobutanolamin)
 2-Αμινο-2-μεθυλο-1-προπανόλη
 2-Amino-2-methylpropan-1-ol (Aminomethylpropanol)
 2-Amino-2-methyl-1-propanol
 2-Amino-2-methyl-1-propanol (Isobutanolamine)
 2-Amino-2-methyl-1-propanol (Isobutanolamine)



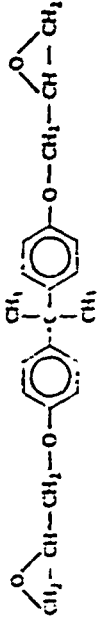
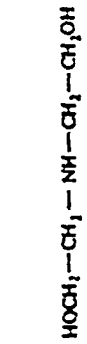
R: 36/37/38
 S: 26

Cas No 1111-42-2

No 603-071-00-1

Cas No 1675-54-3

No 603-073-00-2



Butandiolglycidylether
 1,4-Bis(2,3-epoxypropoxy)butan (1,4-Butandiol-diglycidylether)
 1,4-Δ(ε-12,3) εποξυπροποξ(υ)βουτάνιο
 1,4-Bis(2,3-epoxypropoxy)butane (Butandiolglycidylether)
 1,4-Bis(2,3-epoxypropoxy)butane (Ether diglycidique du 1,4-butandiol)
 1,4-Bis(2,3-epoxypropoxy)-butano (Butandiol glycidil eter)
 1,4-Bis(2,3-epoxypropoxy)butane (Butandiolglycidylether)



R: 20/21-6/38-40
 S: 26-28-37/39

Bisphenol-A-diglycidylether [2,2-bis(p-(2,3-epoxypropoxy)phenyl)propan] 4,4'-Methylen diphenyldiglycidylether (Bis(4,4'-glycidylxyphenyl)-propan Δίς-[4-(2,3-επικλοπροπόξυφαινόλυ)-προπάνιο] Bis(4-(2,3-επoxypropoxy)phenyl)propan 2,2-Bis(p-(2,3-επoxypropoxy)phenyl)propane (Eiher diglycidique du bisphénol A) 2,2-Bis(p-(4-(2,3-επoxypropoxy)fenil)-propaan 2,2-Bis(4(2,3-επoxypropoxy)fenyl)-propaan

R: 36/38-43
S: 28-37/39



Cas No 25068-38-6

No 603-074-00-8

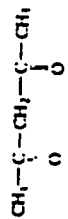
Reaktionsprodukt: Bisphenol-A-diglycidylether. Homologe med molekylvægt ≤ 700
Reaktionsprodukt: Bisphenol-A-Epichlorhydrineite mit durchschnittlichem Molekular-
gewicht ≤ 700
Πρόσόν άντιδρόσας: Δίς-φαινόλυο-Α-(επικλοπροπόξυ)ο. Έποξυπρίτη (μέσο μοριακό βάρος ≤ 700)
Reaction product: Bisphenol A-(Epichlorhydrin) Epoxy Resin (number average molecular weight ≤ 700)
Produit de réaction: Bisphénol-A-Epichlorhydrine. Résines époxydiques (poids moléculaire moyen ≤ 700)
Prodotto di reazione: Bisfenolo-A-Epichloridrina. Resine epossidiche (peso molecolare medio ≤ 700)
Reaquesprodukt: Bisfenol-A-epichlorhydrine. Epoxyhars (genomsnittligt molekylgewicht ≤ 700)



R: 36/38-43
S: 28-37/39

Cas No 123-54-6

No 606-029-00-0



2,4-Pentandion
2,4-Pentandion
Πεντανο-2,4-διώνη (*Ακετυλακετόνη)
Pentane-2,4-dione (Acetylacetone)
2,4-Pentandione
2,4-Pentandion
2,4-Pentandion



R: 10-22
S: 21-23-24/25

Cas No 591-78-6

No 606-010-00-6



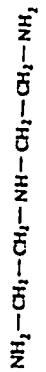
2-Hexanon
2-Hexanon (Methylbutylketon)
2-Έξωνών
Hexan-2-one (Methyl n-butyl ketone)
2-Hexanone (Methylbutylctone)
2-Esanone (Metilbutiketone)
2-Hexanon (methylbutylketon)



R: 10-23/24-40
S: 21-23-44

Cas No 111-40-0

No 612-058-00-X



- 3-Azapentano-1,5-diamin (Diethyletetramin)
- 3-Azapentano-1,5-diamin (Diethyletetramin)
- 2,2'-βινοβισβολαμίνη (Διαβισβολοστραμίνη)
- 2,2'-βινοβισβολαμίνη (Διαβισβολοστραμίνη)
- 3-Azapentano-1,5-diamine (Diethyletetramine)
- 3-Azapentano-1,5-diamine (Diethyletetramine)
- 3-Azapentano-1,5-diamine (Diethyletetramine)
- 1,5-Diamino-3-azapentano (Diethyletetramine)



R: 21/22-34-43
S: 26-36/37/39

Cat No 112-24-3

No 612-059-00-5



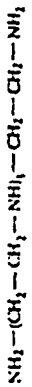
- 3,6-Diazooctano-1,8-diamin (Triethyletetramin)
- 3,6-Diazooctano-1,8-diamin (Triethyletetramin)
- 3,6-Διαζοοκτανο-1,8-διαμίνη (Τριαθολοστραμίνη)
- 3,6-Diazooctanethylenediamine (Triethyletetramine)
- 3,6-Diazooctane-1,8-diamine (Triethyletetramine)
- 3,6-Diazooctano-1,8-diamins (Triethyletetramina)
- 1,8-Diamino-3,6-diazooctano (Triethyletetramine)



R: 21/24-43
S: 26-36/37/39

Cat No 112-57-2

No 612-060-00-0



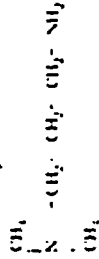
- 3,6,9-Triazaundecano-1,11-diamin (Tetraethyletetramin)
- 3,6,9-Triazaundecano-1,11-diamin (Tetraethyletetramin)
- 3,6,9-Τριαζαυνδεκανο-1,11-διαμίνη (Τετραοβισβολοστραμίνη)
- 3,6,9-Triazaundecamethylenediamine (Tetraethyletetramine)
- 3,6,9-Triazaundecane-1,11-diamine (Tetraethyletetramine)
- 3,6,9-Triazaundecano-1,11-diamino (Tetraethyletetramina)
- 1,11-Diamino-3,6,9-triazaundecano (Tetraethyletetramine)



R: 21/22-34-43
S: 26-36/37/39

Cat No

No 612-061-00-6



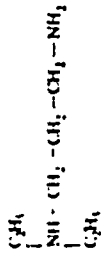
- N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan
- N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan (1,3-Dimethylamino-propyl amin)
- N,N-Διμεθυλο-1,3-διαμινοπροπάνιο
- 3-Aminopropyl dimethylamine
- (N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropane)
- N,N-Dimethyl-1,3-propanediamine
- 1,3 (Dimethylamino)propylamine
- N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropano
- [1-(Dimethylamino)propylamina]
- N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan
- 1,3-(Dimethylamino)propylamine



R: 10-22-34-43
S: 26-36/37/39

Cat No

No 612-062-00-1



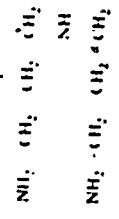
N,N-Diethyl-1,3-diaminopropan
 N,N-Diethyl-1,3-diaminopropan (1-Diethylamino-propylamin)
 N,N-Diethyl-1,3-diaminopropan
 1-Amino-propyldiethylamine (N,N-Diethyl-1,3-diaminopropane)
 N,N-Diethyl-1,3-propanediamine [1-(Diethylamino)propylamine]
 N,N-Diethyl-1,3-diaminopropano [1-(Diethylamino)propylamina]
 N,N-Diethyl-1,3-diaminopropan [1-(Diethylamino)propylamine]



R: 10-21/22-34-41
 S: 26-36/37/39

Cas No 5618-8

No 612-063-00-7



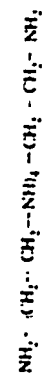
4-Azabepan-1,7-diamin (Dipropylentriamin)
 4-Azabepan-1,7-diamin (Dipropylentriamin)
 3,3'-βινοπροπυλεμίνη (Διπροπυλενοτριμίνη)
 1,1'-βινοπροπυλαμίνη (Διπροπυλενοτριμίνη)
 4-Azabepan-1,7-diamine (Dipropylentriamine)
 4-Azabepan-1,7-diamina (Dipropylentriamina)
 1,7-Diamino-4-Azabepaan (Dipropylentriamine)



R: 21/22-34-43
 S: 26-36/37/39

Cas No 4067-16-7

No 612-064-00-2



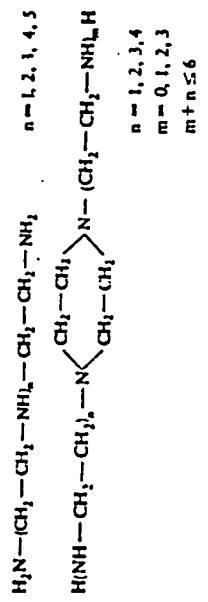
3,6,9,12-Tetraazatetradecan-k,4-diamin (Pentaethylehexamin)
 3,6,9,12-Tetraazatetradecan-1,14-diamin (Pentaethylehexamin)
 Πενταεθυλοξείκτιν
 3,6,9,12-Tetraazatetradecanemethylendiamine (Pentaethylehexamin)
 3,6,9,12-Tetraazatetradecan-1,14-diamine (Pentaethylehexamin)
 3,6,9,12-Tetraazatetradecan-1,14-diamina (Pentaethylexamina)
 1,14-Diamine-3,6,9,12-tetraazatetradecan (Pentaethylehexamine)



R: 14-41
 S: 26-36/37/39

Cas No

No 612-065-00-8



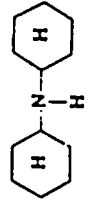
Polyethylenamin
 Polyethylenamine
 Πολυαιθυλοαμινο(νέξ)
 Polyethylenamines
 Polyéthyléamines
 Polietilamina
 Polyethylecramine



R: 21/22-34-43
 S: 26-36/37/39

Cas No 101-83-7

No 612-066-00-3



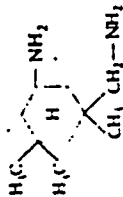
Dicyclohexylamin
 Dicyclohexylamin
 Διτεταλοξυλεμίνη
 Dicyclohexylamine
 Dicyclohexylamine
 Dicyclohexylamine
 Dicyclohexylamine



R: 22-34
 S: 16/37/39

Cas No 285515-2

No 613-067-00-9



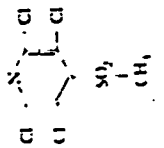
Isoforon diamin (3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin)
 Isoforon diamin (3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamin)
 3-Αμινομεθυλο-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξυλεμίνη (Ισοφορονδιαμίνη)
 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamine (Isophorone diamine)
 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamine (Isophorone diamine)
 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamine (Isophorone diamine)
 3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamine (Isophorone diamine)



R: 21/22-34-43
 S: 26-36/37/39

Cas No

No 613-032-00-0



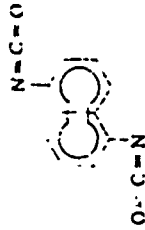
2,3,5,6-Tetrachloro-4-(methylsulfonyl)pyridin
 2,3,5,6-Tetrachloropyridyl-4-methylsulfon
 (2,3,5,6-Tetrachloro-4-(methylsulphonyl)pyridin)
 2,3,5,6-Τετραχλωρο-4-(μεθυλοσουλφονο)-πυριδίνη
 Methyl-2,3,5,6-tetrachloro-4-pyridylsulfonate
 2,3,5,6-Tetrachloro-4-(methylsulphonyl)pyridine
 2,3,5,6-Tetrachloro-4-(methylsulfonyl)pyridine
 2,3,5,6-Tetrachloro-4-(methylsulfonyl)pyridine
 2,3,5,6-Tetrachloro-4-(methylsulfonyl)pyridine



R: 21/22-16-43
 S: 26/28

Cas No 1173-72-6

No 615-017-00-X



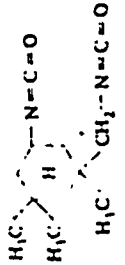
Naphthylen-1,5-dioxyanat
 Naphthylen-1,5-dioxyanat
 Διαοξυαινικός έστερας του 1,5-νεφθυλενίου
 1,5-Naphthylene diisocyanate
 Diisocyanate de 1,5-naphthylene
 Nafthelen-1,5-dioxyanat
 Nafthelen-1,5-dioxyanat

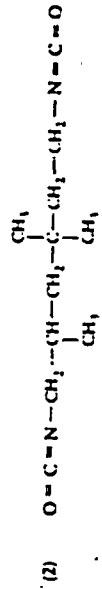


R: 20-36/37/38-42
 S: 26-28-38-45

Cas No 4098-71-9

No 615-008-00-5





- (2)
- 2,2,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-diisocyanat (1)
 - 2,4,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-diisocyanat (2)
 - Blanding af (1) og (2)
 - 2,2,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-diisocyanat (1)
 - 2,4,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-diisocyanat (2)
 - Mischung von (1) und (2)
 - 1,6-Διοκυανικός έστέρας του 2,2,4-τριμεθυλοξείσομυλενίου (1)
 - 1,6-Διοκυανικός έστέρας του 2,4,4-τριμεθυλοξείσομυλενίου (2)
 - Mixtura των έστέρων (1) και (2)
 - 2,2,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-di-isocyanate (1)
 - 2,4,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-di-isocyanate (2)
 - Mixture of (1) and (2)
 - Diisocyanate de 2,2,4-trimethyl-1,6-hexanediyole (1)
 - Diisocyanate de 2,4,4-trimethyl-1,6-hexanediyole (2)
 - Mélanges de (1) et (2)
 - 2,2,4-Τrimetilsametilēn-1,6-diisocianato (1)
 - 2,4,4-Τrimetilsametilēn-1,6-diisocianato (2)
 - Miscela de (1) e (2)
 - 2,2,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-diisocyanat (1)
 - 2,4,4-Τrimethylhexamethylen-1,6-diisocyanat (2)
 - Mengsel van (1) en (2)



R: 23-36/37/38-42
S: 26-28-38-45

Cas No 822-06-0

No 615-011-00-1



- Hexamethylen-1,6-diisocyanat
- Hexamethylen-1,6-diisocyanat
- Διοκυανικός έστέρας του έξιομυλενίου
- Hexamethylen-1,6-diisocyanat
- Diisocyanate d'hexamethylene
- Εξαιτηλέν-1,6-διισοκυανίτο
- Hexamethylen-1,6-diisocyanat

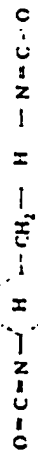
- (1-ιμκυανιομεθύλ)-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξυλιωκυανίτο (Isothorondiisocyanat)
- 3-ιμκυανιομεθύλ-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξυλιωκυανίτο (Isothorondiisocyanat)
- 1-ισοκυανικός έστέρας του 3-ισοκυανιομεθύλ-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξυλιωκυανίτου (Διοκυανιο-νικός έστέρας της Ισοφωρόνης)
- 1-Isocyanatomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylisocyanate (Isothorone di-isocyanate)
- Isocyanate de 3-ιμκυανιομεθύλ-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξυλιωκυανίτο (Diisocyanate d'isophorone)
- Isiforon diisokianato
- 3-Isocyanatomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylisocyanat



R: 23-36/37/38-42/43
S: 26-28-38-45

Cas No 5124-30-1

No 615-009-00-0



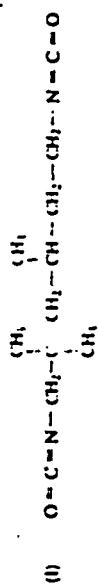
- Dicyclohexylmethan-4,4'-diisocyanat
- Dicyclohexylmethan-4,4'-diisocyanat
- Διοκυανικός έστέρας του 4,4'-δικυκλοεξυλομεθενίου
- 4,4'-Methylenedicyclohexylisocyanate (Dicyclohexylmethane-4,4'-di-isocyanate)
- Diisocyanate de 4,4'-dicyclohexylmethanediyole
- Dicyclohexan-4,4'-diisocianato
- Dicyclohexylmethaan-4,4'-diisocyanat



R: 23-36/37/38-42/43
S: 26-28-38-45

Cas No 16918-22-0 (1)
15646-96-5 (2)

No 615-010-00-6



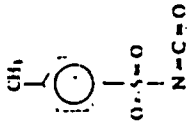
Nissa C

R: 23-36/37/38-42
S: 26-28-38-45




Cas No 4081-64-1

No 615-012-00-7



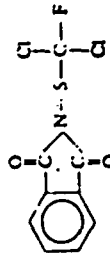
- 4-Toluensulfonilysocyanat (Tosylisocyanat)
- 4-Toluensulfonilysocyanat (Tosylisocyanat)
- Ίσοκυανικός εστέρας του 4-σουλφονυλοτολουόλου (Ίσοκυανικός εστέρας του τορ-λουόλου)
- 4-toluenatsulfonylphenyltoluene (Tosyl isocyanate)
- Isocyanate de tolyle
- Toluensulfonato (4-toluenatsulfonyl-toluene)
- 4-toluenatsulfonyl-toluene (Tosylisocyanat)

R: 14-36/37/38-42
S: 26-28-30




Cas No

No 616-012-00-X



- N-(Fluorodichloromethylthio)-phthalimid
- N-(Dichlorofluoromethylthio)phthalimid (Phthalimido-dichlorofluor-thiomethan)
- N-(Δ12,2,2-εποξιδιομεθυλοξω)-φθαλυμιδίου
- N-(Dichlorofluoromethylthio)phthalimide
- (N-(Fluorodichloromethylthio)phthalimide)
- N-(Dichlorofluoromethylthio)phthalimide
- N-(Dichlorofluoroacetylthio)-ftalimid
- N-(Fluorodichloromethylthio)-ftalimid

R: 38
S: 28





Cas No

No 601-007-01-4

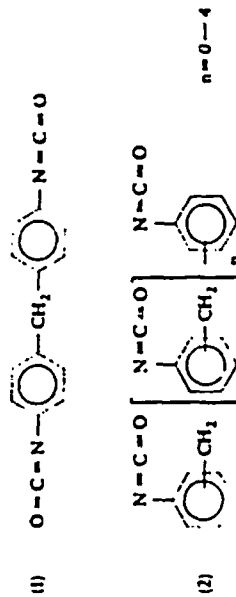
- Hexan
- Blanding af isomere, der indeholder mere end 5 % n-Hexan
- Hexan
- Isomergemisch mit mehr als 5 % n-Hexan
- Ήξιάνω
- Mélange isomériques που περιέχει περισσότερο από 5 % n-Έξιάνω
- Hexane
- Mixture of isomers containing more than 5 % n-Hexane
- Hexane
- Mélange d'isomères contenant plus de 5 % n-Hexane
- Esano
- Miscela di isomeri contenente più di 5 % di n-Esano
- Hexaan
- Mengsel van isomeren bevattende meer dan 5 % n-Hexaan

R: 11-20/21-40
S: 9-16-23

Cas No 101-68-8 (1)
9036-87-9 (2)

No 615-005-01-6



- Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat, Isomere og Homologe, Blanding af (1) og (2)
- 4,4'-Diphenylmethandiiisocyanat, Isomeren und Homologen, Mischungen von (1) und (2)

4,4'-Διοκυανικό διφαινυλομεθάνον
 Ίσομερή και ομόλογα, μίγμα των (1) και (2)
 Diphenylmethane-4,4'-diisocyanate,
 Isomers and homologues, blending of (1) and (2)
 4,4' Diisocyanate de diphenylméthane
 Isomeres et homologues mélange de (1) et (2)
 Difenilmetano-4,4'-diisocianato
 Isomeri e omologhi miscela di (1) e (2)
 Difenylmethaan-4,4'-diisocyaanat
 Isoeren en homologen, mengsel van (1) en (2)



R: 20-36/37/38-42

S:

Cas.No

No 603-037-01-8

Cellulosenitrat (nitrocellulose) indeholdende højst 12,6 % Nitrogen
 Nitrocellulose mit höchstens 12,6 % Stickstoff
 Νιτροκυτταρίνη περιέχουσα άζωτο κάτω του 12,6 %
 Cellulose nitrate (Nitrocellulose) containing a maximum of 12,6 % nitrogen
 Nitrate de cellulose (Nitrocellulose) contenant un maximum de 12,6 % d'azote
 Nitrocellulosa contenente non più del 12,6 % d'azoto
 Nitrocellulosen met maximaal 12,6 % stikstof



R: 11

S: 16-33-37/39

Άρθρο 3.

Τα Παραρτήματα I, II, III, IV, VI, στα οποία παραπέμπει το άρθρο 1 του Π.Δ. 329/83, τροποποιούνται και συμπληρώνονται ως ακολούθως:

1. Η γενική παρατήρηση του προλόγου του παραρτήματος I (Κατάλογος των επικίνδυνων ουσιών) συμπληρώνεται ως εξής:

«Όσον αφορά ειδικότερα τα άλατα (υπό σκοπιάδηπαστε ονομασία αναφέρεται στο παράρτημα I), εξετάζονται στο παράρτημα I τόσο υπό άλυδη όσο και υπό έλυδη μορφή, εκτός αν ρητώς καθορίζεται το αντίθετο.»

2. Η ουσία που αναφέρεται στο παράρτημα I του παρόντος άρθρου προστίθεται στο παράρτημα I (Κατάλογος των επικίνδυνων ουσιών).
3. Οι ακόλουθες διορθώσεις γίνονται στο παράρτημα I (Κατάλογος των επικίνδυνων ουσιών):

Αριθμός αναφοράς	Ουσία	Σφάλμα	Διokyήσιας
603-072-00-7	1,4-Δις (2,3-εποξυπροποξυ) βενζένων	R: 20/21 36/38-40	R: 21/21-36/38-43
607-106-00-1	Άλυδρίτης του 1-μεθυλ-5-νορβορνενο-2,3-δικορβοξυλικού οξέος	R: 22-36/37/38-43 (σε όλες τις γλώσσες αλλά όχι στη γαλλική γλώσσα)	R: 22-36/37/38-42
612-059-00-7	3,6 Διασποκτανο-1, 8-δωμίνη (τριμθυλινοτετραμίνη)	R: 21/34-42	R: 21-34-43
615-005-01-6	4,4 Δυσοκυανικών θυραιλυομεθάνων, Ισομερή και ομόλογα, μείγμα των (1) και (2).	S: οι αριθμοί έξιπουν	S: 26-28-38-45
615-006-00-4	2,4 Δυσοκυανοτολυόλιο (1) 2,6 Δυσοκυανοτολυόλιο (2) Μείγμα των (1) και (2)	Στη γαλλική γλώσσα η ονομασία της ουσίας αυτής είναι εσφαλμένη	Μόνο στη γαλλική γλώσσα: 2,4 Diisocyanate de toluylene (1) 2,6 Diisocyanate de toluylene (2) Mélanges de (1) et (2)

(I) Προστίθενται οι ακόλουθες φράσεις:

4. Το παράρτημα I (Κατάλογος των επικίνδυνων ουσιών) τροποποιείται ως εξής:

1. Αριθ. 607-107-00-7 Ακυρλικός 2-αιθυλεξυλεστήρ
Μετά το R: 37/38 προστίθεται: -43

2. Αριθ. 615-011-00-1 Δισοκτανικός εστέρας του εξαμεθυλενίου
Οι ενδείξεις των ιδιαίτερων κινδύνων αντικαθίστανται απο τις ακόλουθες:
R: 23-36/37/38-42/43

3. Αριθ. 601-023-00-4 Αιθυλοβενζόλιο

Το σύμβολο

Xi



αντικαθίσταται από το σύμβολο

Xn



Οι ενδείξεις των ιδιαίτερων κινδύνων και οι οδηγίες προ-φύλαξης αντικαθίστανται ως εξής:

R: 11-20
S: 16-24/25-29

5. Το παράρτημα II αντικαθίσταται από το παράρτημα II των παραρτημάτων α/β/γ.

6. Το παράρτημα III (Φύση των ειδικών κινδύνων που αφορούν επικίνδυνες ουσίες) τροποποιείται ως εξής:

R 41
Risiko for alvorlig øjenskade.
Gefahr ernster Augenschäden.
Κίνδυνος σοβαρών οφθαλμικών βλαβών.
Risk of serious damage to eyes.
Risque de lésions oculaires graves.
Rischio di gravi lesioni oculari.
Gevaar voor ernstig oogletsel.

R 44
Eksplosionsfarlig ved opvarmning under indeslutning.
Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.
Κίνδυνος εκρήξεως εάν θερμανθεί σε κλειστή ατμόσφαιρα.
Risk of explosion if heated under confinement.
Risque d'explosion si chauffé en ambiance confinée.
Rischio di esplosione per riscaldamento in ambiente confinato.
Ontploffingsgevaar bij verwarming in afgesloten toestand.

R 45
Kan fremkalde kræft.
Kann Krebs erzeugen.
Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.
May cause cancer.
Peut causer le cancer.
Può provocare il cancro.
Kan kanker veroorzaken.

R 46
Kan forårsage arvelige genetiske skader.
Kann vererbare Schäden verursachen.
Μπορεί να προκαλέσει κληρονομικές γενετικές βλάβες.
May cause heritable genetic damage.
Peut causer des altérations génétiques héréditaires.
Può provocare alterazioni genetiche ereditarie.
Kan erfelijke genetische schade veroorzaken.

R 47
Kan medføre fosterskader.
Kann Missbildungen verursachen.
Μπορεί να προκαλέσει εκ γενετής παραμορφώσεις.
May cause birth defects.
Peut causer des malformations congénitales.
Può provocare malformazioni congenite.
Kan geboortefwijkingen veroorzaken.

R 48
Alvorlig sundhedsfare ved længere tids påvirkning.
Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition.

Διατηρείται σε θερμοκρασία ίση ή κατώτερη των ... °C (προς προσδιορισμό από τον κατασκευαστή).

Keep at temperature not exceeding ... °C (to be specified by the manufacturer).

Conserver à une température ne dépassant pas ... °C (à préciser par le fabricant).

Conservare a temperatura non superiore a ... °C (da precisare da parte del fabbricante).

Bewaren bij een temperatuur beneden ... °C (aan te geven door de fabrikant).

Holdes befugtet med ... (passende middel angives af fabrikanten).

Feucht halten mit ... (geeignetes Mittel vom Hersteller anzugeben).

Διατηρείται υγρό με ... (κατάλληλο υγρό που πρέπει να καθοριστεί από τον κατασκευαστή).

Keep wetted with ... (appropriate material to be specified by the manufacturer).

Maintenir humide avec ... (moyen approprié à préciser par le fabricant).

Mantenere umido con ... (mezzo appropriato da precisare da parte del fabbricante).

Inhoud vochtig houden met ... (middel aan te geven door de fabrikant).

Må kun opbevares i den originale emballage.

Nur im Originalbehälter aufbewahren.

Διατηρείται μόνο μέσα στο αρχικό δοχείο.

Keep only in the original container.

Conserver uniquement dans le récipient d'origine.

Conservare soltanto nel recipiente originale.

Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren.

Må ikke blandes med ... (angives af fabrikanten).

Nicht mischen mit ... (vom Hersteller anzugeben).

Να μην αναμιχθεί με ... (καθορίζεται από τον κατασκευαστή).

Do not mix with ... (to be specified by the manufacturer).

Ne pas mélanger avec ... (à spécifier par le fabricant).

Non mescolare con ... (da specificare da parte del fabbricante).

Niet vermengen met ... (aan te geven door de fabrikant).

Κίνδυνος σοβαρής βλάβης για την υγεία κατόπιν παρατεταμένης εκθέσεως.

Danger of serious damage to health by prolonged exposure.

Risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée.

Pericolo di gravi danni per la salute in caso di esposizione prolungata.

Gevaar voor ernstige schade aan de gezondheid bij langdurige blootstelling.

(2) Στην γερμανική γλώσσα ο όρος «explosionsfähig» αντικαθίσταται με τον όρο «explosionsgefährlich» στις φράσεις R 1, R 2, R 4, R 16. Οι όροι «leicht explosionsfähig» αντικαθίστανται με τους όρους «besonders explosionsgefährlich» στην φράση R 3. Ο όρος «hochgiftige» αντικαθίσταται με τον όρο «sehr giftige» στην φράση R 32.

7. Το παράρτημα IV (Μέτρα ασφαλείας σχετικά με επικίνδυνες χημικές ουσίες) τροποποιείται ως εξής:

1. Διαγράφονται οι ακόλουθες φράσεις:

S 10: Το περιεχόμενο διατηρείται με υγρασία.

S 11: Να αποφεύγεται η επαφή με τον αέρα.

S 31: Διατηρείται μακριά από εκρηκτικές ύλες.

2. Προστίθενται οι ακόλουθες φράσεις:

S 46 Ved indtagelse, kontakt omgående læge og vis denne beholder eller etiket.

Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen.

Σε περίπτωση καταπόσεως, να ζητηθεί αμέσως ιατρική συμβουλή και να επιδειχθεί το δοχείο ή η ετικέτα.

If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

En cas d'ingestion consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrarli il contenitore o l'etichetta.

In geval van inslikken onmiddellijk een arts raadplegen en verpakking of etiket tonen.

S 47 Må ikke opbevares ved temperaturer på over ... °C (angives af fabrikanten).

Nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben).

- S 51 Må kun bruges på steder med god ventilation.
Nur in gut gelüfteten Bereichen verwenden.
Χρησιμοποιείται μόνο σε χώρους με πολύ καλό αερισμό.
Use only in well ventilated areas.
Utiliser seulement dans des zones bien ventilées.
Usare soltanto in luogo ben ventilato.
Uitsluitend op goed geventileerde plaatsen gebruiken.
- S 52 Bør ikke anvendes til større flader i beboelses- eller opholdsrum
Nicht großflächig für Wohn- und Aufenthaltsräume zu verwenden.
Να μη χρησιμοποιηθεί σε ευρείες επιφάνειες σε κατοικούμενους χώρους.
Not recommended for interior use on large surface areas.
Ne pas utiliser sur de grandes surfaces dans les locaux habités.
Non utilizzare su grandi superfici in locali abitati.
Niet voor gebruik op grote oppervlakken in woon- en verblijfsruimtes.
- (3) Στον συνδυασμό των φράσεων S, πρέπει να προστεθούν οι ακόλουθοι συνδυασμοί:
- S 3/14 Opbevares køligt og adskilt fra ... (uforligelige stoffer angives af fabrikanten).
An einem kühlen, von ... entfernten Ort aufbewahren (die Stoffe, mit denen Kontakt vermieden werden muß, sind vom Hersteller anzugeben).
Διατηρείται σε δροσερό μέρος μακριά από ... (ασύμβατα υλικά που υποδεικνύονται από τον κατασκευαστή).
Keep in a cool place away from ... (incompatible materials to be indicated by the manufacturer).
Conserver dans un endroit frais à l'écart des ... (matières incompatibles à indiquer par le fabricant).
Conservare in luogo fresco lontano da ... (materiali incompatibili da precisare da parte del fabbricante).
Bewaren op een koele plaats verwijderd van ... (stoffen, waarmee contact vermeden dient te worden, aan te geven door de fabrikant).
- S 3/9/14 Opbevares køligt, godt ventileret og adskilt fra ... (uforligelige stoffer angives af fabrikanten).
An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren (die Stoffe, mit denen Kontakt vermieden werden muß, sind vom Hersteller anzugeben).
Διατηρείται σε δροσερό και καλά αεριζόμενο μέρος μακριά από ... (ασύμβατα υλικά που υποδεικνύονται από τον κατασκευαστή).
Keep only in the original container in a cool well ventilated place.
Conserver uniquement dans le récipient d'origine dans un endroit frais et bien ventilé.
Conservare soltanto nel contenitore originale in luogo fresco e ben ventilato.
Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren op een koele, goed geventileerde plaats.
- S 3/9/49 Må kun opbevares i originalemballagen på et køligt, godt ventileret sted.
Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren.
Διατηρείται μόνο μέσα στο αρχικό δοχείο σε δροσερό και καλά αεριζόμενο μέρος.
Keep only in the original container in a cool well ventilated place.
Conserver uniquement dans le récipient d'origine dans un endroit frais et bien ventilé.
Conservare soltanto nel contenitore originale in luogo fresco e ben ventilato.
Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren op een koele, goed geventileerde plaats.
- S 3/9/14/49 Må kun opbevares i originalemballagen på et køligt, godt ventileret sted og adskilt fra ... (uforligelige stoffer angives af fabrikanten).
Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren (die Stoffe, mit denen Kontakt vermieden werden muß, sind vom Hersteller anzugeben).
Διατηρείται μόνο μέσα στο αρχικό δοχείο σε δροσερό και καλά αεριζόμενο μέρος από ... (ασύμβατα υλικά που υποδεικνύονται από τον κατασκευαστή).
Keep only in the original container in a cool well ventilated place away from ... (incompatible materials to be indicated by the manufacturer).

Conserver uniquement dans le récipient d'origine dans un endroit frais et bien ventilé à l'écart de ... (matières incompatibles à indiquer par le fabricant).

Conservare soltanto nel contenitore originale in luogo fresco e ben ventilato lontano da ... (materiali incompatibili da precisare da parte del fabbricante).

Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren op een koel, goed geventileerde plaats verwijderd van ... (stoffen, waarmee contact vermeden dient te worden, aan te geven door de fabrikant).

S 47/49 Må kun opbevares i originalemballagen ved en temperatur på ikke over ... °C (angives af fabrikanten).

Nur im Originalbehälter bei einer Temperatur von nicht über ... °C (vom Hersteller anzugeben) aufbewahren.

Διατηρείται μόνο μέσα στο αρχικό δοχείο σε θερμοκρασία ίση ή κατώτερη των ... °C (προς προσδιορισμό από τον κατασκευαστή).

Keep only in the original container at temperature not exceeding ... °C (to be specified by the manufacturer).

Conserver uniquement dans le récipient d'origine à température ne dépassant pas ... °C (à préciser par le fabricant).

Conservare soltanto nel contenitore originale a temperatura non superiore a ... °C (da precisare da parte del fabbricante).

Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren bij een temperatuur beneden ... °C (aan te geven door de fabrikant).

8. Στο παράρτημα VI, το μέρος II (B) αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:

«8. Εκτός εάν προβλέπεται διαφορετικά σε άλλες οδηγίες περί των επιδιδντων παρασκευασμάτων, οι ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται σαν διαβρωτικά ή ερεθιστικά σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

α) Κριτήριο διάβρωσης

Ουσία ή παρασκευάσμα θεωρείται ως διαβρωτικό αν, κατά την απόθεσή του σε υγρές και ανέπαφο δέρμα ζώου, προκαλεί ολοκληρωτική καταστροφή των ιστών του δέρματος ενός τουλάχιστον ζώου κατά τη δοκιμασία δερματικού ερεθισμού που συναντάται στο παράρτημα V ή σύμφωνα με ισοδύναμη μέθοδο προσδιορισμού της διάβρωσης ή όταν το αποτέλεσμα μπορεί να προβλεφθεί, π.χ. από αντιδράσεις ισχυρά όξινης ή αλκαλικές.

β) Κριτήριο ερεθισμού

Ουσία ή παρασκευάσμα θεωρείται ως ερεθιστικό αν προκαλεί φλεγμονή του δέρματος ή βλάβες των οφθαλμών που αντιστοιχούν στην αξιολόγηση των κατωτέρω παραμέτρων:

1. Φλεγμονή του δέρματος

i) Φλεγμονή του δέρματος η οποία διαρκεί τουλάχιστον 24 ώρες, μετά από περίοδο έκθεσης που δεν υπερβαίνει τις 4 ώρες και η οποία αντιστοιχεί στις ακόλουθες τιμές που έχουν προσδιοριστεί σε κουνέλι σύμφωνα με τη δοκιμασία δερματικού ερεθισμού που αναφέρεται στο παράρτημα V:

— Η μέση τιμή των αποτελεσμάτων τόσο για το ερύθημα όσο και για τον σχηματισμό εσχάρων ή οιδήματος, που έχει υπολογιστεί πάνω σε όλα τα ζώα που δοκιμάστηκαν, είναι ίση ή μεγαλύτερη από 2,

— ή, στην περίπτωση της δοκιμασίας του παραρτήματος V που συμπληρώθηκε με την χρησιμοποίηση τριών ζώων, τόσο το ερύθημα όσο και ο σχηματισμός εσχάρων ή οιδήματος, που ισοδυναμούν με μέση τιμή ίση ή μεγαλύτερη από 2, που υπολογίστηκε ξεχωριστά για κάθε ζώο, έχουν παρατηρηθεί σε δύο ή περισσότερα ζώα.

Και στις δύο περιπτώσεις, όλα τα αποτελέσματα που λαμβάνονται σε κάθε χρόνο ελέγχου (24, 48, 72 ώρες) πρέπει να χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των αντιστοιχών μέσων τιμών.

ii) Αν η πείρα δείξει ότι οι ουσίες και τα παρασκευάσματα είναι ικανά να επφέρουν αντίδραση ευαισθητοποίησης σε σημαντικό αριθμό ατόμων μετά από δερματική επαφή ή βάσει θετικής αντίδρασης σε πείραμα-τόζωα.

Στην περίπτωση της δοκιμασίας για την ευαισθητοποίηση του δέρματος, που αναλύεται στο παράρτημα V ή στην περίπτωση άλλων επικουρικών τύπων δοκιμασιών, η εμφάνιση αντίδρασης στο 30 % τουλάχιστον των ζώων θεωρείται θετική. Για κάθε άλλη δοκιμασία η εμφάνιση αντίδρασης στο 15 % τουλάχιστον των ζώων θεωρείται θετική.

2. Βλάβη των οφθαλμών

Βλάβες των οφθαλμών που παρουσιάζονται μέσα σε 72 ώρες μετά την έκθεση και διαρκούν τουλάχιστον 24 ώρες και αντιστοιχούν στις ακόλουθες τιμές που έχουν προσδιοριστεί πάνω σε κουνέλι σύμφωνα με τη μέθοδο οφθαλμικού ερεθισμού που αναφέρεται στο παράρτημα V:

— Η μέση τιμή των αποτελεσμάτων για κάθε τύπο βλάβης που έχει υπολογιστεί πάνω σε όλα τα ζώα που δοκιμάστηκαν, είναι μια από τις ακόλουθες:

— θολερότητα κερατοειδούς χιτώνας 2 ή περισσότερο

— βλάβη ίριδος 1 ή περισσότερο

— κοκκίνισμα του επιπεφυκότος 2,5 ή περισσότερο

— οίδημα του επιπεφυκότος (chemosis) 2 ή περισσότερο

— ή, στην περίπτωση που η δοκιμασία του παραρτήματος V έχει συμπληρωθεί με τη χρησιμοποίηση τριών ζώων, η μέση τιμή για τη θολερότητα του κερατοειδούς χιτώνας, για τη βλάβη της ίριδος, για το κοκκίνισμα του επιπεφυκότος ή για το οίδημα του επιπεφυκότος (chemosis), που έχει υπολογιστεί χωριστά για κάθε ζώο και ισοδυναμεί με μία από τις ανωτέρω τιμές, παρατηρήθηκε σε δύο ή περισσότερα ζώα.

Και στις δύο περιπτώσεις, όλα τα αποτελέσματα που λαμβάνονται σε κάθε

9. Το παράρτημα VI, μέρος II. (Δ) αντικαθίσταται από το παράρτημα III του παρόντος.

9. Το παράρτημα VI, μέρος II. (Δ) αντικαθίσταται από το παράρτημα III του παρόντος.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

Σύμβολα και ενδείξεις κινδύνου

ANNEX II

Symbols and indications of danger

ANNEXE II

Symboles et indications de danger

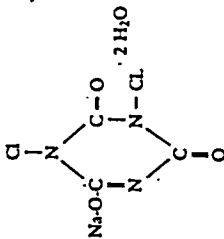
ALLEGATO II

Simboli e indicazioni di rischio

BIJLAGE II

Gevaaarsymbolen en -aanduidingen

Gas No Cas No 613-030-01-7



Dichloroisocyanurate, natriumsalt dihydrat

Natriumdichloroisocyanuratedihydrat

Διχλωρο άλας νατρίου του διχλωροϊσοκυανουρικού οξέος

Sodium dichloroisocyanurate, dihydrate

Sel de sodium de l'acide dichloroisocyanurique dihydrate

Dichloroisocyanurato sodico biidrato

Natriumdichloroisocyanuraatdihydraat

X R: 22-31-36/37
S: 8-26-41

Bemerk: Bogstavene E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi indgår ikke i symbolet.

Anmerkung: Die Buchstaben E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi, sind nicht Bestandteil des Gefahrensymbols.

Σημείωση: Τα γράμματα E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi δεν αποτελούν μέρος του συμβόλου.

Note: The letters E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi do not form part of the symbol.

Remarque: Les lettres E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi ne font pas partie du symbole.

Nota: Le lettere E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi non fanno parte del simbolo.

Opmerking: De letters E, O, F, F+, T, T+, C, Xn, Xi maken geen deel uit van het symbool.

BILAG II — ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II — ANNEX II — ALLEGATO II — BIJLAGE II

BILAG II

Farsymboler og farebetegnelser

ANHANG II

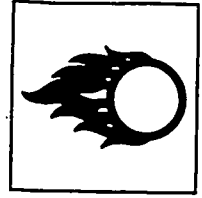
Gefahrensymbole und -bezeichnungen

E



Εκπλοσiv
Explosionsgefährlich
Εκρηκτικό
Explosive
Explosif
Explosivo
Ουπλόφααρ

O



Brandanzende (oxidierende)
Brandfördernd
Οξιδωρτικό
Oxidizing
Comburant
Comburente
Oxyderend

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

«ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VΙ, ΜΕΡΟΣ ΙΙ (Δ)»

Οδηγός ταξινόμησης και επισήμανσης των επικίνδυνων ουσιών και παρασκευασμάτων, καθώς και κριτήρια για την εκλογή φράσεων που υποδεικνύουν τις ιδιαίτερες επικίνδυνες καταστάσεις (φράσεις R) και τις οδηγίες προφύλαξης (φράσεις S)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Γενική εισαγωγή

2. Ταξινόμηση ως «επικίνδυνον» και εκλογή φράσεων για τις επικίνδυνες καταστάσεις

- 2.1. Εισαγωγή
- 2.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες
- 2.3. Τοξικολογικές ιδιότητες
- 2.4. Κριτήρια ταξινόμησης και εκλογής συμβόλων και φράσεων για τις επικίνδυνες καταστάσεις
 - 2.4.1. Εκρηκτικό
 - 2.4.2. Οξειδωτικό
 - 2.4.3. Εξόχως εύφλεκτο
 - 2.4.4. Άλιαν εύφλεκτο
 - 2.4.5. Εύφλεκτο
 - 2.4.6. Άλιαν τοξικό
 - 2.4.7. Τοξικό
 - 2.4.8. Εκφθαλμικός
 - 2.4.9. Διαβρωτικό
 - 2.4.10. Ερεθιστικό
 - 2.4.11. Άλλες ιδιότητες

3. Πρόσθετα κριτήρια όσον αφορά ορισμένα ειδικά αποτελέσματα των ουσιών επί της υγείας

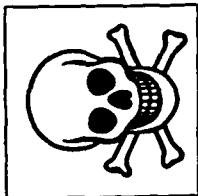
- 3.1. Διαδικασία ταξινόμησης των ουσιών που μπορούν να έχουν τα αποτελέσματα που αναφέρονται στο κεφάλαιο αυτό
- 3.2. Καρκινογόνες ουσίες
- 3.3. Μεταλλαξογόνες ουσίες
- 3.4. Τερατογόνες ουσίες
- 4. Εκλογή φράσεων για τις οδηγίες προφύλαξης
- 5. Προτάσεις για την επισήμανση

F +



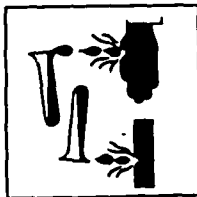
Yderst let antændelig
Hochentzündlich
Εξόχως εύφλεκτο
Extremely flammable
Extrêmement inflammable
Extremamente inflammbare
Zeer licht ontvlambaar

T +



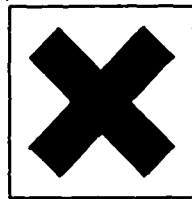
Meget giftig
Sehr giftig
Άλιαν τοξικό
Very toxic
Très toxique
Molto tossico
Zeer vergifig

C



Ätzende
Ätzend
Διαβρωτικό
Corrosive
Corrosif
Corrosivo
Corrosief

XI



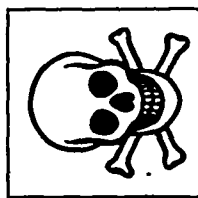
Lokalirriterende
Reizend
Ερεθιστικό
Irritant
Irritante
Irriterend

F



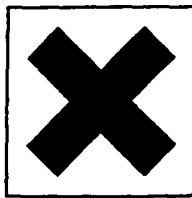
Let antændelig
Leichtentzündlich
Άλιαν εύφλεκτο
Highly flammable
Facilement inflammable
Licht ontvlambaar

T



Giftig
Giftig
Τοξικό
Toxic
Toxique
Tossico
Vergifig

Xn



Sundhedskadelig
Gesundheitsschädlich
Επιβλαβής
Harmful
Noctif
Noctivo
Schadelijk

— Για άλλες ουσίες (π.χ. αυτές που αναφέρονται στο άρθρο 5 παράγραφος 2), τα στοιχεία που απαιτούνται για την ταξινόμηση και επισήμανση ίσως χρειασθεί να βρεθούν από διάφορες πηγές — π.χ. στοιχεία προηγούμενων εργαστηριακών δοκιμασιών, πληροφορίες και απαιτήσεις σχετικά με διεθνείς κανονισμούς μεταφοράς επικίνδυνων ουσιών, πληροφορίες που προέρχονται από έντυπα αναφοράς ή βιβλιογραφίες, ή πληροφορίες που είναι αποτέλεσμα πρακτικής εμπειρίας.

Ο οδηγός κριτηρίων του παραρτήματος αυτού μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας, όταν τα στοιχεία έχουν προέλθει από μεθόδους εργαστηριακών δοκιμασιών ισοδύναμες με αυτές που περιγράφονται στο παράρτημα V. Σε άλλες περιπτώσεις, τα υπάρχοντα στοιχεία πρέπει να κριθούν σε σχέση με τις μεθόδους εργαστηριακών δοκιμασιών του παραρτήματος V και των κριτηρίων που δίδονται στο παράρτημα αυτό, για να προσδιοριστούν τα κατάλληλα κριτήρια για ταξινόμηση και επισήμανση.

2.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες

2.2.1. Οι μέθοδοι δοκιμασιών που αφορούν τις εκρηκτικές, οξειδωτικές και εύφλεκτες ιδιότητες που περιλαμβάνονται στο παράρτημα V της παρούσας οδηγίας, χρησιμοποιούν να δοθούν προσδιοριστικό και ειδικό νόημα στους γενικούς ορισμούς που περιλαμβάνονται στο άρθρο 2 παράγραφος 2 υπό α) έως ε). Τα κριτήρια απορρίπτονται απευθείας από τις μεθόδους δοκιμασιών που περιλαμβάνονται στο παράρτημα V, εφόσον αναφέρονται.

2.2.2. Εάν υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι οι φυσικοχημικές ιδιότητες ουσιών και παρασκευασμάτων (εκτός από οργανικά υπεροξειδία) είναι διάφορες στην πράξη από αυτές που υποδεικνύονται από τις μεθόδους δοκιμασιών που περιλαμβάνονται στο παράρτημα V, τότε οι ουσίες και τα παρασκευάσματα αυτά πρέπει να ταξινομούνται βάσει του τυχόντος κινδύνου που παρουσιάζουν σε πρόσωπα που χειρίζονται αυτές τις ουσίες και παρασκευάσματα ή σε άλλα πρόσωπα.

2.2.3. Τα οργανικά υπεροξειδία ταξινομούνται ως επικίνδυνα βάσει του τύπου τους (π.χ. R-O-O-H, R₁-O-O-R₂). Γενικά, τα οργανικά υπεροξειδία πρέπει να ταξινομούνται σαν οξειδωτικά και να επισημαιοποιούνται σύμφωνα με τα κριτήρια της παραγράφου 2.4.2, εκτός εάν:

— οι δοκιμασίες που διεξήχθησαν σύμφωνα με τις μεθόδους που περιλαμβάνονται στο παράρτημα αποδεικνύουν ότι το οργανικό υπεροξειδίο, υπό τη μορφή που τίθεται στην αγορά, έχει εκρηκτικές ιδιότητες, σύμφωνα με τα κριτήρια της παραγράφου 2.4.1, ή

— το οργανικό υπεροξειδίο έχει τόσο αραιωθεί ή αδρανοποιηθεί ώστε δεν έχει ούτε εκρηκτικές, ούτε οξειδωτικές, ούτε εύφλεκτες ιδιότητες.

2.3. Τοξικολογικές ιδιότητες

2.3.1. Η ταξινόμηση αφορά τόσο τις οξείες όσο και τις επιπτώσεις των ουσιών ή παρασκευασμάτων αυτών, είτε προκύπτουν από μεμονωμένη έκθεση είτε από επαναλαμβανόμενη ή παρατεταμένη έκθεση στο προϊόν.

2.3.2. Οι ουσίες και τα παρασκευάσματα πρέπει γενικά να ταξινομούνται σύμφωνα με την οξεία τοξικότητα του προϊόντος που κυκλοφορεί στην αγορά εκφρασμένη ως LD₅₀ ή LC₅₀ όπως έχει προσδιοριστεί από δοκιμασίες σε πειραματόζωα. Τιμές αναστροφής δίδονται στο παράρτημα VI, μέρος 1.

Εάν υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν την ύπαρξη επιπτώσεων άλλων εκτός από τις οξείες επιπτώσεις που προκύπτουν από παράσιτα με ζώα, π.χ. καρκινογόνες, μεταλλάξουσες, αλλεργιογόνες, καθώς και υποξείας ή χρόνιας επιπτώσεις, οι ουσίες ή τα παρασκευάσματα αυτά θα ταξινομούνται ανάλογα με τη σοβαρότητα των επιπτώσεων αυτών.

Εάν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις που να καταδεικνύουν ότι στην πράξη οι τοξικές επιπτώσεις ουσιών και παρασκευασμάτων στον άνθρωπο είναι ή μπορεί να είναι διάφορες από εκείνες που υποδηλώνει πειραματικά αποτελέσματα από δοκιμασίες σε ζώα, τότε αυτές οι ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται βάσει της τοξικότητάς τους στον άνθρωπο.

1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Οι πληροφορίες που παρέχονται στο έγγραφο αυτό σκοπεύουν να χρησιμεύσουν σαν οδηγός σε όλους τους ενδιαφερόμενους (κατασκευαστές, παραγωγείς, εθνικές αρχές), για τις μεθόδους ταξινόμησης και επισήμανσης των επικίνδυνων ουσιών και παρασκευασμάτων. Ο οδηγός αυτός απαρτίζεται από τις γενικές αρχές που δέχονται την ταξινόμηση και επισήμανση των ουσιών και παρασκευασμάτων που αναφέρονται στο άρθρο 3 παράγραφος 3 της οδηγίας 67/548/ΕΟΚ, έχοντας υπόψη τις εξαιρέσεις που αναφέρονται στο άρθρο 3 παράγραφος 3 — «εκτός εκεί όπου καθορίζονται αντίθετες απαιτήσεις σχετικά με επικίνδυνα παρασκευάσματα σε χωριστές οδηγίες».

1.2. Οι απαιτήσεις επισήμανσης που περιλαμβάνονται στην παρούσα οδηγία, καθώς και στις χωριστές οδηγίες περί επικίνδυνων παρασκευασμάτων, έχουν ως σκοπό να προσφέρουν ένα πρώτο μέσο το οποίο να παρέχει στο ευρύ κοινό και στους εργαζόμενους ουσιαστικές πληροφορίες σχετικά με τις επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα. Η επικία επισήμανση της προσοχή των ατόμων που χειρίζονται ή χρησιμοποιούν ουσίες και παρασκευάσματα. Η επικία επισήμανση της εξαιρέσεως που αναφέρονται στο άρθρο 3 παράγραφος 3 — «εκτός εκεί όπου καθορίζονται αντίθετες απαιτήσεις σχετικά με επικίνδυνα παρασκευάσματα σε χωριστές οδηγίες».

1.3. Η επικία μπορεί επίσης να χρησιμοποιείται για να επισύρει την προσοχή σε εκτενέστερη πληροφορία, διαθέσιμη σε άλλες μορφές, περί της ασφάλειας και χρήσης του προϊόντος.

1.4. Η επικία περιλαμβάνει όλους τους ενδεχόμενους κινδύνους που μπορούν να αντιμετωπιστούν κατά την συνήθη διακίνηση και χρήση επικίνδυνων ουσιών και παρασκευασμάτων, υπό την μορφή υπό την οποία κυκλοφορούν στην αγορά, αλλά όχι όμως αναγκαστικώς υπό άλλες μορφές τελικής χρήσης, π.χ. αραιωμένα. Οι σοβαρότεροι κίνδυνοι τονίζονται με ειδικά σύμβολα. Οι κίνδυνοι αυτοί, καθώς και κίνδυνοι προερχόμενοι από άλλες επικίνδυνες ιδιότητες, προσδιορίζονται με τυκωποιημένες φράσεις που υποδεικνύουν τις επικίνδυνες καταστάσεις, ενώ φράσεις ασφαλείας δίνουν οδηγίες για απαραίτητες προφυλάξεις.

Η πληροφορία συμπληρώνεται με την ονομασία της ουσίας βάσει διεθνώς αναγνωρισμένης χημικής ονοματολογίας, καθώς και με το όνομα και τη διεύθυνση του κατασκευαστή ή του γενικού αντιπροσώπου ή του εισαγωγέα.

Όσον αφορά τις ουσίες που αναφέρονται στο άρθρο 5 παράγραφος 2 δεύτερη πρόταση της οδηγίας 67/548/ΕΟΚ, η επισήμανση που εφαρμόζεται από τον κατασκευαστή ή τον αντιπρόσωπό του εξακολουθεί να ισχύει μέχρις ότου η ουσία περιληφθεί στον κατάλογο του παραρτήματος I ή μέχρις ότου ληφθεί απόφαση να μη περιληφθεί, σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στο άρθρο 21.

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΩΣ «ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟ» ΚΑΙ ΕΚΚΛΟΓΗ ΦΡΑΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

2.1. Εισαγωγή

Σκοπός της ταξινόμησης είναι η εξακρίβωση όλων των τοξικολογικών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων ουσιών και παρασκευασμάτων που μπορεί να προκαλέσουν κίνδυνο κατά τη συνήθη διακίνηση ή χρήση αυτών των ουσιών και παρασκευασμάτων.

— Για τις ουσίες για τις οποίες ζητούνται πληροφορίες σύμφωνα με το παράρτημα VII, τα περισσότερα από τα απαιτούμενα στοιχεία για την ταξινόμηση και επισήμανση περιφέρονται στη «Βασική ομάδα». Η ταξινόμηση και επισήμανση πρέπει να αναθεωρούνται κάθε φορά που γίνονται γνωστές περισσότερες πληροφορίες (παράρτημα VIII).

R 9 Εγκριτικό όταν αναμειχθεί με καύσιμα υλικά
 — άλλες ουλές και παρασκευάσματα που μπορούν να καταστούν εκρηκτικά όταν αναμειχθούν με καύσιμα υλικά, π.χ. ορισμένες χλωρίδικες ενώσεις.

Εξόχως εύφλεκτα

Oι ουλές και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως εξόχως εύφλεκτα και προ. ρίζονται με το σύμβολο «F+» και την ένδειξη κινδύνου «εξόχως εύφλεκτα», σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμασιών που περιγράφονται στο παράρτημα V. Η φράση για την επικίνδυνη κατάσταση πρέπει να προσδιορίζεται σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

R 12 Εξόχως εύφλεκτο

— Υγράς ουλές και παρασκευάσματα που έχουν σημείο ανάφλεξης κατώτερο από 0 °C και σημείο ζέσης (H, σε περιπτώση κερωχής ζέσης, το αρχικό σημείο ζέσης) κατώτερο ή ίσο με 35 °C.

Άλιαν εύφλεκτα

Oι ουλές και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως λιαν εύφλεκτα και προσδιορίζονται με το σύμβολο «E» και την ένδειξη κινδύνου «λιαν εύφλεκτο», σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμασιών που περιγράφονται στο παράρτημα V. Οι φράσεις επικινδύνων καταστάσεων πρέπει να τίθενται σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

R 17 Αυτοαναφλέγεται στον αέρα

— ουλές και παρασκευάσματα που μπορούν να ανατιγούν υψηλή θερμοκρασία και τελικά να αναφλέγονται σε επαφή με τον αέρα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και χωρίς καμία προφορά εξωτερικής ενέργειας.

R 11 Άλιαν εύφλεκτο

— στερεές ουλές και παρασκευάσματα τα οποία μπορούν εύκολα να αναφλέγονται μετά από σύντομη επαφή με κηρή ανάφλεξης και τα οποία εξακολουθούν να καίγονται ή να αναλόκονται μετά την απομάκρυνση της πηγής ανάφλεξης.

— υγράς ουλές και παρασκευάσματα τα οποία έχουν σημείο ανάφλεξης κατώτερο από 21 °C, αλλά δεν είναι εξόχως εύφλεκτα.

R 12 Εξόχως εύφλεκτο

— αέριας ουλές και παρασκευάσματα τα οποία είναι εύφλεκτα στον αέρα υπό κανονική πίεση.

R 13 Εξόχως εύφλεκτο υγροσκοπμένο αέριο

— αέριας ουλές και παρασκευάσματα τα οποία είναι εύφλεκτα στον αέρα υπό κανονική πίεση όταν διατίθενται στην αγορά υπό υγροσκοπημένη μορφή.

R 15 Σε επαφή με νερό ελαιοβερώνονται λιαν εύφλεκτα αέρια

— ουλές και παρασκευάσματα τα οποία, όταν βρεθούν σε επαφή με νερό ή υγρό αέρα, εκπέμπουν λιαν εύφλεκτα αέρια σε επικίνδυνες ποσότητες, σε μια ελάχιστη ταχύτητα 1 l/kg/h.

Εύφλεκτα

Oι ουλές και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως εύφλεκτα σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμασιών που περιγράφονται στο παράρτημα V. Προσδιορίζονται με φράσεις κινδύνου R σύμφωνα με τα κριτήρια που αναφέρονται πιο κάτω:

R 10 Εύφλεκτα

— υγράς ουλές και παρασκευάσματα τα οποία έχουν σημείο ανάφλεξης ίσο με ή ανώτερο

2.4.3.

2.3.3. Όταν η ταξινόμηση πρόκειται να βασιστεί σε πειραματικά αποτελέσματα που προέρχονται από δοκιμασίες σε ζώα, τα αποτελέσματα αυτά θα πρέπει να είναι έγκυρα για τον άνθρωπο, υπό την έννοια ότι οι δοκιμασίες πρέπει να αντικατοπτρίζουν, με κατάλληλο τρόπο, τους κινδύνους για τον άνθρωπο.

2.4. Κριτήρια ταξινόμησης, εκλογής συμβόλων, ενδείξεως κινδύνου και ελάχιστης φράσεων για τις επικίνδυνες καταστάσεις

Η ταξινόμηση πρέπει να συμπεριλαμβάνει τόσο τις τοξικολογικές όσο και τις φυσικοχημικές ιδιότητες ουσιών και παρασκευασμάτων. Ο σκοπός της εκλογής φράσεων για τις επικίνδυνες καταστάσεις είναι να εξασφαλιστεί ότι η ειδική φύση των ενδεχόμενων κινδύνων που έχουν προσδιοριστεί στην ταξινόμηση, εκφράζονται στην ετικέτα. Για τον σκοπό αυτό είναι απαραίτητο να ληφθούν υπόψη τα κριτήρια που δίδονται για την εκλογή του συμβόλου ή των συμβόλων και φράσεων για τις επικίνδυνες καταστάσεις σε καθένα από τα εδάφια 2.4.1 έως 2.4.11 και στο κεφάλαιο 3, π.χ. μία ταξινόμηση κατά το 2.4.6 δεν σημαίνει ότι τα τμήματα 2.4.7 ή 2.4.9 μπορεί να αγνοηθούν.

Τα κριτήρια εφαρμόζονται σε αέριας ουλές και παρασκευάσματα αλλά μόνον εφόσον μπορούν να υπόκεινται στις διατάξεις περί συσκευασίας και επισήμανσης της οδηγίας αυτής ή των χωριστών οδηγιών επί των παρασκευασμάτων.

Παρά τα κριτήρια που αναφέρονται στις παραγράφους 2.4.3, 2.4.4 και 2.4.5, ουλές και παρασκευάσματα υπό μορφή αεροζόλ μπορούν να υπόκεινται στα κριτήρια αναφλεξιμότητας που παρατίθενται στην παράγραφο 1.8 και 2.2 υπό η) του παραρτήματος της οδηγίας 75/324/ΕΟΚ.

2.4.1.

Εγκριτικά

Oι ουλές και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως εγκριτικά και προσδιορίζονται με το σύμβολο «E» και την ένδειξη «εγκριτικό», σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμασιών που περιγράφονται στο παράρτημα V Είναι υποχρεωτική η χρήση μιας φράσης επικινδύνων καταστάσεων και πρέπει να προσδιορίζεται με βάση τα ακόλουθα:

R 2 Κίνδυνος έκρηξης από κύτταμα, τρεβή, φωτιά ή άλλες πηγές ανάφλεξης

— ουλές και παρασκευάσματα συμπεριλαμβανομένων των οργανικών υπεροξειδίων, εκτός από εκείνα που αναφέρονται πιο κάτω.

R 3 Πολύ μεγάλος κίνδυνος έκρηξης από κύτταμα, τρεβή, φωτιά ή άλλες πηγές ανάφλεξης

— ουλές και παρασκευάσματα τα οποία είναι ιδιαίτερος κωδικοποιημένα, όπως όλα τα μικροβιακά οξεία, PEIN (τετρανιτρικός πεντααεφρίτης) και ορισμένα μη οργανωμένα οργανικά υπεροξειδία όπως το υπεροξείδιο διβενζοϋλίου.

2.4.2.

Οξειδωτικά

Oι ουλές και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως οξειδωτικά και προσδιορίζονται με το σύμβολο «O» και την ένδειξη κινδύνου «οξειδωτικό», σύμφωνα με τα αποτελέσματα των δοκιμασιών που περιγράφονται στο παράρτημα V (βλ.κε επίσης 2.2.3). Είναι υποχρεωτική η χρήση μιας φράσης κινδύνου και πρέπει να προσδιορίζεται με βάση τα αποτελέσματα δοκιμασιών υπό τους κάτωθι όρους:

R 11 Άλιαν εύφλεκτο

— οργανικά υπεροξειδία που έχουν ιδιότητες ευφλέκτου αερίου ακόμη και όταν δεν είναι σε επαφή με άλλα καύσιμα υλικά.

R 8 Η επαφή με καύσιμα υλικά μπορεί να προκαλέσει φωτιά

— άλλες οξειδωτικές ουλές και παρασκευάσματα που μπορούν να προκαλέσουν φωτιά ή να αυξήσουν τον κίνδυνο της φωτιάς όταν βρεθούν σε επαφή με καύσιμα υλικά.

- R 39 (*)** Κίνδυνος πολύ σοβαρών μόνιμων επιδράσεων
- υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις ότι μπορεί να προκληθεί μη αντιστρέψιμη βλάβη, εκτός από τις επικτώσεις που αναφέρονται στο κεφάλαιο 3, κατόν μιας και μόνης έκθεσης διά της καταλήλου οδού, και γενικά στις ανωτέρω αναφερόμενες δόσεις (βλ. επίσης 2.3.2 και 2.3.3).
- R 48 (*)** Κίνδυνος σοβαφής βλάβης της υγείας κατόν παρατεταμένης έκθεσης
- σοβαρή βλάβη (σαφής οργανική διαταραχή ή μορφολογική μεταβολή με τοξικολογική σημασία) μπορεί να προκληθεί κατόν επανλημμένης ή παρατεταμένης έκθεσης, διά καταλήλου οδού, σε επίπεδα σημαντικά κατώτερα από εκείνα που αναφέρονται στο τμήμα 2.4.8 (βλ. επίσης 2.3.2 και 2.3.3).
- 2.4.8. Επιβλεψη**
- Οι ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινοούνται ως επιβλαβή και προσδιορίζονται με το σύμβολο «Xn» και την ένδειξη κινδύνου «επιβλαβές», σύμφωνα με τα κριτήρια που δίδονται στο παράρτημα VI, μέρος I, κατά τα κατωτέρω. Οι φράσεις R χρησιμοποιούνται επίσης σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:
- R 22** Επιβλεβές σε περίπτωση κατέσωσης
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LD₅₀ από του στόματος εις ποντικούς: 200 < LD₅₀ < 2 000 mg/kg
- R 21** Βλεβερθ σε επαφή με το δέρμα
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LD₅₀ από του δέρματος εις ποντικούς ή κουνέλια: 400 < LD₅₀ < 2 000 mg/kg
- R 20** Βλεβερθ όταν εισπνείται
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LC₅₀ δι' εισπνοής εις ποντικούς: 2 < LC₅₀ < 20 mg/l/4 h
- 40 (**)** Πιθανοί κίνδυνοι μόνιμων επιδράσεων
- υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις ότι μπορεί να προκληθεί μη αντιστρέψιμη βλάβη, εκτός από τις επικτώσεις που αναφέρονται στο κεφάλαιο 3, κατόν μιας και μόνης έκθεσης διά της καταλήλου οδού γενικά στις δόσεις που αναφέρονται πιο πάνω (βλ. επίσης 2.3.2 και 2.3.3).
- R 48 (*)** Κίνδυνος σοβαφής βλάβης της υγείας κατόν παρατεταμένης έκθεσης
- σοβαρή βλάβη (σαφής οργανική διαταραχή ή μορφολογική μεταβολή με τοξικολογική σημασία) μπορεί να προκληθεί λόγω επανλημμένης ή παρατεταμένης έκθεσης, διά της καταλήλου οδού, σε επίπεδα της τάξης του (βλ. επίσης 2.3.2 και 2.3.3):
 - από του στόματος εις ποντικούς: < 50 mg/kg (βάρους σώματος)/ημέρα (**)
 - από δέρματος εις ποντικούς ή κουνέλια: < 100 mg/kg (βάρους σώματος)/ημέρα (**)
 - δι' εισπνοής εις ποντικούς: < 0,5 mg/l, 6 h/ημέρα (**).

(*) R 23, R 24 ή R 25 πρέπει επίσης να χρησιμοποιούνται για να υποδεικνύουν τις οδοφς χορήγησης/έκθεσης.
 (**) R 20, R 21 ή R 22 πρέπει επίσης να χρησιμοποιούνται για να υποδεικνύουν τις οδοφς χορήγησης/έκθεσης.
 (*) R 20, R 21, ή R 22 πρέπει επίσης να χρησιμοποιούνται για να υποδεικνύουν τις οδοφς χορήγησης/έκθεσης.
 (**) Οι τιμές αυτές δεν αποκλείουν εν' ουδενί να επιπέσουν την ελτογή της δόσης κατά τη διάρκεια των δοκιμασιών του παραρτήματος V.

από 21 °C και κατώτερο από ή ίσο με 55 °C.

Εντούτοις, στην πράξη έχει αποδειχθεί ότι ένα παρασκεύασμα που έχει σημείο ανάφλεξης ίσο με ή ανώτερο από 21 °C και κατώτερο από ή ίσο με 55 °C δεν είναι απαραίτητο να ταξινομηθεί ως εύφλεκτο αν το παρασκεύασμα αυτό δεν θα μπορούσε σε καμία περίπτωση να συντηρηθεί την κατάσταση μόνο για τόσο χρόνο ώστε να μην υπάρχουν λόγοι που να το καθιστούν επικίνδυνο για αυτούς που το χρησιμοποιούν ή για άλλα άτομα.

2.4.6. Άλιαν τοξικά

Οι ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινοούνται ως πολύ τοξικά και προσδιορίζονται με το σύμβολο «T+» και την ένδειξη κινδύνου «λιαν τοξικά», σύμφωνα με τα κριτήρια που δίδονται στο παράρτημα VI, μέρος I, κατά τα κατωτέρω.

Οι φράσεις R χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

- R 28** Άλιαν τοξικό σε περίπτωση κατέσωσης
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LD₅₀ από του στόματος εις ποντικούς: < 25 mg/kg
- R 27** Άλιαν τοξικό σε επαφή με το δέρμα
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LD₅₀ από του δέρματος εις ποντικούς ή κουνέλια: < 50 mg/kg
- R 26** Άλιαν τοξικό όταν εισπνείται
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LC₅₀ δι' εισπνοής εις ποντικούς: < 0,5 mg/l/4 h
- R 39 (*)** Κίνδυνος πολύ σοβαρών μόνιμων επιδράσεων
- Υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις ότι μπορεί να προκληθεί μη αντιστρέψιμη βλάβη, εκτός από τις επικτώσεις που αναφέρονται στο κεφάλαιο 3, κατόν μιας και μόνης έκθεσης διά καταλήλου οδού, γενικά στις ανωτέρω δόσεις (βλ. επίσης 2.3.2 και 2.3.3).
- 2.4.7. Τοξικά**
- Οι ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινοούνται ως τοξικά και προσδιορίζονται με το σύμβολο «T» και την ένδειξη κινδύνου «τοξικά», σύμφωνα με τα κριτήρια που δίδονται στο παράρτημα VI, μέρος I, κατά τα κατωτέρω. Οι φράσεις κινδύνου πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:
- R 25** Τοξικό σε περίπτωση κατέσωσης
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LD₅₀ από του στόματος εις ποντικούς: 25 < LD₅₀ < 200 mg/kg
- R 24** Τοξικό σε επαφή με το δέρμα
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LD₅₀ από του δέρματος εις ποντικούς ή κουνέλια: 50 < LD₅₀ < 400 mg/kg
- R 23** Τοξικό όταν εισπνείται
- αποτελλοματα οξείας τοξικότητας: LC₅₀ δι' εισπνοής εις ποντικούς: 0,5 < LC₅₀ < 2 mg/l/4 h

(*) R 26, R 27 ή R 28 πρέπει επίσης να χρησιμοποιούνται για να υποδεικνύουν τις οδοφς χορήγησης/έκθεσης.

R 41 (*) Κίνδυνος σοβαρής βλάβης των ματιών

— εάν, όταν χρησιμοποιούνται στο μάτι του ζώου, προκαλούνται σοβαρές οφθαλμικές βλάβες οι οποίες διατηρούνται επί 24 ώρες ή και περισσότερο μετά την ενστάλαξη της προς δοκιμή ουσίας.

Οι οφθαλμικές βλάβες είναι σοβαρές εάν τα μέσα αποτελέσματα αντιστοιχούν με τις τιμές: Βολερότητα του κερατοειδούς χιτώνα από 3 και άνω βλάβη της ίριδος με τιμή άνω των 1,5. Το ίδιο θα ισχύει στην περίπτωση που η δοκιμασία συμπληρωθεί με την χρήση οίηση τριών ζώων, εάν οι βλάβες αυτές σε δύο ή περισσότερα ζώα ισοδυναμούν με κέφα. Από τις τιμές: Βολερότητα του κερατοειδούς χιτώνα από 3 και άνω βλάβη της ίριδος με τιμή 2.

R 43 Μπορεί να προκαλέσει ευσθητικοποίηση σε εαφή με το δέρμα

— εάν πρακτικές εμπειρίες δείχνουν ότι οι ουσίες και τα παρασκευάσματα δυνατόν να προκαλέσουν αντίδραση ευσθητικοποίησης σε σημαντικό αριθμό ατόμων κατόπιν επαφής με το δέρμα ή βάσει θετικής αντίδρασης σε κεραιματοζώα.

Στην περίπτωση της μεθόδου δοκιμιασίας ευσθητικοποίησης του δέρματος, που περιγράφεται λεπτομερώς στο παράρτημα V ή στην περίπτωση άλλων βοηθητικών μεθόδων δοκιμιασίας, ανταπόκριση στο 30 % των ζώων τουλάχιστον θεωρείται θετική. Για κάθε άλλη μέθοδο δοκιμιασίας, ανταπόκριση στο 15 % τουλάχιστον θεωρείται θετική.

R 37 Επιδείξει το ανακυνωτικό σύστημα

— ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρό ερεθισμό στο ανακυνωτικό σύστημα με βάση κανονικά πρακτικές παρατηρήσεις.

2.4.11. Άλλες ιδιότητες

Πρόθετες φράσεις R χρησιμοποιούνται για ουσίες και παρασκευάσματα που ταξινομούνται βάσει των ανωτέρω παραγράφων 2.4.1 έως 2.4.10, σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια (με βάση την εμπειρία που αποκτήθηκε κατά τη σύνταξη του παραρτήματος I):

R 1 Εμφανιστικό σε ξηρή κατάσταση

Για εκρηκτικές ουσίες και παρασκευάσματα που κυκλοφορούν στην αγορά υπό μορφή διαλύματος ή σε υγρή μορφή: π.χ. νιτροκυτταρίνη με άνω του 12,6 % άζωτο.

R 4 Σχηματίζει πολύ ευσθητικές εκρηκτικές μεταλλικές ενώσεις

Για ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να σχηματίσουν ευαίσθητα εκρηκτικά μεταλλικά παράγωγα: π.χ. νικρικό οξύ, στρωτικό οξύ.

R 5 Θέρμανση μπορεί να προκαλέσει έκρηξη

Για θερμικά ασταθές ουσίες και παρασκευάσματα που δεν ταξινομούνται ως εκρηκτικά: π.χ. υπερχλωρικό οξύ > 50 %.

R 6 Εκρηκτικό σε εαφή ή χωρίς εαφή με τον αέρα

Για ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία είναι ασταθή σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος: π.χ. ακετυλγόλιο.

R 7 Μπορεί να προκαλέσει πυρκαϊά

Για δραστικές ουσίες και παρασκευάσματα: π.χ. φθόριο, υδροβρωδές νάτριο.

R 14 Αντιδρά βίαια με νερό

Για ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία αντιδρούν έντονα με το νερό: π.χ. ακετυλχλωρίδιο, αλκαλικά μέταλλα, τετραχλωροοξογόλιο.

(*) Η χρήση του R 34 ή του R 35 αποκλείει τη χρήση του R 41.

Αυτές οι τιμές-οδηγοί μπορούν να εφαρμοστούν άμεσα όταν παρατηρούνται σοβαρές πληγές σε μια υπο-ζώνη (90 μέρους) μελέτη της τοξικότητας, αλλά επίσης χρησιμοποιούν σαν οδηγός για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των υπο-οξείων (28 ημέρες) ή χρόνιων (2 έτη) δοκιμασιών τοξικότητας.

R 42 Μπορεί να προκαλέσει ευσθητικοποίηση δ' εαφής

— εάν η πρακτική εμπειρία δείχνει ότι οι ουσίες και τα παρασκευάσματα είναι δυνατόν να προκαλέσουν αντίδραση ευσθητικοποίησης δ' εαφής στον άνθρωπο, με μεγαλύτερη συχνότητα από ό,τι θα αναμένετο από την ανταπόκριση ενός κανονικού πληθυσμού.

2.4.9.**R 32** Διαβρωτική

Οι ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως διαβρωτικά και προσδιορίζονται με το σύμβολο «C» και την ένδειξη κτύπου «διαβρωτικό», σύμφωνα με τα κριτήρια που δίδονται στο παράρτημα VI (B). Οι φράσεις κινδύνου ακοιδούνται σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

R 35 Προκαλεί σοβαρά εγκαύματα

— εάν, όταν τοποθετηθούν σε ακέραιο δέρμα ζώου, παρατηρείται καταστροφή σε όλο το πάχος των ιστών του δέρματος, σαν αποτέλεσμα έκθεσης μέχρι 4 ώρες, ή αν το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να προβλεφθεί.

R 34 Προκαλεί εγκαύματα

— εάν, όταν τοποθετηθούν σε ακέραιο δέρμα ζώου, παρατηρείται καταστροφή σε όλο το πάχος των ιστών του δέρματος, σαν αποτέλεσμα έκθεσης μέχρι 4 ώρες, ή αν το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να προβλεφθεί.

2.4.10.**R 38** Ερεθιστική

Οι μη διαβρωτικές ουσίες και τα παρασκευάσματα ταξινομούνται ως ερεθιστικά και προσδιορίζονται με το σύμβολο «Xi» και τη λέξη «ερεθιστικό», σύμφωνα με τα κριτήρια που δίδονται στο παράρτημα VI (B), κατά τα κατωτέρω. Οι φράσεις R χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

R 38 Επιδείξει το δέρμα

— εάν, όταν τοποθετηθούν σε ακέραιο δέρμα ζώου μέχρι 4 ώρες, προκαλούν σοβαρή φλεγμονή, η οποία διατηρείται επί 24 ώρες ή περισσότερο μετά το τέλος της έκθεσης.

Η φλεγμονή θεωρείται σοβαρή όταν η μέση τιμή των αποτελεσμάτων είναι 2 και άνω είτε για σχηματισμό ερυθμάτος και εσχάρων, είτε για σχηματισμό οίδηματος. Το ίδιο θα ισχύει στην περίπτωση που η δοκιμασία πραγματοποιήθηκε με τη χρησιμοποίηση τριών ζώων, εάν το αποτέλεσμα που σημειώθηκε, τόσο για τον σχηματισμό ερυθμάτος και εσχάρων όσο και για τον σχηματισμό οίδηματος σε δύο ή περισσότερα ζώα, ισοδυναμεί με την τιμή 2 και άνω.

R 36 Επιδείξει τα μάτια

— εάν, όταν χρησιμοποιούνται στον οφθαλμό του ζώου, δημιουργούνται σημαντικές οφθαλμικές βλάβες, οι οποίες διατηρούνται επί 24 ώρες ή περισσότερο μετά την ενστάλαξη της προς δοκιμή ουσίας.

Σημαντικές είναι οι οφθαλμικές βλάβες που έχουν τις εξής διαβαθμίσεις: Βολερότητα του κερατοειδούς χιτώνα με τιμή από 2 έως 3 μη συμπεριλαμβανομένου. Βλάβη της ίριδος με τιμή από 1 έως και 1,5. Κοκκίνισμα του επιπεφυκότος με τιμή ίση ή μεγαλύτερη του 2,5, οίδημα του επιπεφυκότος (chemosis) με τιμή από 2 και άνω. Το ίδιο θα ισχύει στην περίπτωση που η δοκιμασία συμπληρωθεί με την χρησιμοποίηση τριών ζώων, εάν οι βλάβες σε δύο ή περισσότερα ζώα έχουν μια από τις ανωτέρω τιμές, εκτός από τη βλάβη της ίριδος, όπου η τιμή πρέπει να είναι ίση ή μεγαλύτερη του 1 αλλά μικρότερη του 2 και για κοκκίνισμα του επιπεφυκότος η τιμή πρέπει να είναι ίση με 3.

- R 16** Εμφηκτικό όταν αναμυθεί με οξείδωτικές ουσίες
Για ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία αντιδρούν εκρηκτικά με οξειδωτικές ουσίες: π.χ. ερυθρός ψόφωρος.
- R 18** Κατά τη χρήση μπορεί να σχηματίσει εύφλεκτη/εκρηκτική μίγμα ατμού/αέρος
Για παρασκευάσματα που τα ίδια δεν ταξινομούνται ως εύφλεκτα, αλλά που περιέχουν κτηνικά συστατικά τα οποία είναι εύφλεκτα στον αέρα.
- R 19** Μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικά υπεροξειδία
Για ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να σχηματίσουν υπεροξειδία κατά την υδροβ. κτυπή: π.χ. διαιθυλοαιθέρας, 1,4-διοξάνο.
- R 29** Σε επαφή με το νερό ελευθερώνονται τοξικά αέρια
Για ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία, όταν έρθουν σε επαφή με νερό ή υγρό αέρα, εκλύουν πολύ τοξικά αέρια σε ενδεχόμενες επικίνδυνες ποσότητες: π.χ. φωσφίδιο του σπρηλίου, πενταθειώδες ψόφωρος.
- R 30** Κατά τη χρήση γίνεται λίαν εύφλεκτο
Για παρασκευάσματα που τα ίδια δεν ταξινομούνται ως εύφλεκτα αλλά μπορούν να καταστούν εύφλεκτα εάν απωλλούν μη εύφλεκτα κτηνικά συστατικά.
- R 31** Σε επαφή με οξεία ελευθερώνονται τοξικά αέρια
Για ουσίες και παρασκευάσματα που αντιδρούν με οξεία και εκλύουν τοξικά αέρια σε επικίνδυνες ποσότητες: π.χ. υποχλωριώδες νάτριο, κολιδοσούζιο βέραιο. Για ουσίες που χρησιμοποιούνται από το ευρύ κοινό, η χρησιμοποίηση της φράσης S 50 [να μην αναμηνγνέται με ... (πρέπει να προσδιοριστεί από τον κατασκευαστή)] αρμόζει περισσότερο.
- R 32** Σε επαφή με οξεία ελευθερώνονται λίαν τοξικά αέρια
Για ουσίες και παρασκευάσματα που αντιδρούν με οξεία και εκλύουν τοξικά αέρια σε επικίνδυνες ποσότητες: π.χ. άλατα υδροκρικού οξέος, αζίδιο του νατρίου. Για ουσίες που χρησιμοποιούνται από το αλά κοινό, η χρησιμοποίηση της φράσης S 50 [να μην αναμηνγνέται με ... (να προσδιοριστεί από τον κατασκευαστή)] αρμόζει περισσότερο.
- R 33** Κίνδυνος συννεκών από τη συσώρευση
Για ουσίες και παρασκευάσματα όταν η συσώρευση στο ανθρώπινο σώμα είναι πιθανή και μπορεί να προκαλέσει ανησυχία, που εντούτοις δεν επαρκεί για να δικαιολογηθεί τη χρήση του R 48.
- Κατά το παρελθόν αφορούσε ουσίες του καρβιμίματος I και παρασκευάσματα που ήταν πιθανό να προκαλέσουν βλάβη στην υγεία μετά από παρατεταμένη έκθεση ή που ήταν πιθανό να συγερπηθούν και στη συνέχεια να συσσωρευθούν μέσα στο ανθρώπινο σώμα. Τώρα πρέπει προσδευτικά, στις κατάλληλες περιπτώσεις, να αντικατασταθεί από το R 48.
- R 44** Κίνδυνος έκρηξης εάν θερμανθεί σε κλειστή επιψόφωρα
Για ουσίες και παρασκευάσματα που δεν ταξινομούνται αυτά καθαυτά σαν εκρηκτικά αλλά που εντούτοις μπορούν να δείξουν εκρηκτικές ιδιότητες στην πράξη εάν θερμανθούν υπό αρκετά περιορισμό. Π.χ. ορισμένες ουσίες που μπορούν να αποσυντεθούν με έκρηξη αν θερμανθούν μέσα σε χαλύβδινο δοχείο, δεν έχουν το ίδιο αποτέλεσμα αν θερμανθούν σε λιγότερο ισχυρά δοχεία.
- 3.** ΠΡΟΣΒΕΤΑ ΚΡΗΤΗΡΙΑ ΟΣΙΑΝ ΑΦΟΡΑ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΕΙΔΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΕΠΙ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ
Σημείωση: περισσότερες οδηγίες για τα παρασκευάσματα θα δημοσιευθούν αργότερα.
- 3.1.** Διαδικασία ταξινόμησης των ουσιών που μπορούν να έχουν τα αποτελέσματα που αναφέρονται στα κεφάλαια αυτά
- 3.1.1.** Εάν ένας κατασκευαστής ή ο αντιπρόσωπός του διαθέτουν πληροφορίες που δείχνουν ότι μία ουσία μπορεί να ταξινομηθεί και να επισημανθεί σύμφωνα με τα κριτήρια που δίδονται στα τμήματα 3.2, 3.3 ή 3.4, ο κατασκευαστής ή ο αντιπρόσωπός του θα επισημανθεί προσημένα την ουσία με τη φράση R 40 και θα της προσδώσει το σύμβολο «Χn», εκτός εάν τα συμπεράσματα στα οποία έφτασε η εφαρμογή των κριτηρίων που αναφέρονται στις παραγράφους 2.4.6 έως 2.4.10 υποδεικνύουν την ανάγκη μιας πιο αυστηρής ταξινόμησης.
- 3.1.2.** Εξέλλο, ο κατασκευαστής ή ο αντιπρόσωπός του παρακαλούνται να υποβάλουν, όσο το δυνατό γρηγορότερα, έγγραφο που να συνοψίζει όλες τις σχετικές πληροφορίες προς ένα κράτος μέλος στο οποίο η ουσία τέθηκε στην αγορά.
Αυτό το περιληπτικό έγγραφο πρέπει να περιέχει βιβλιογραφία με όλες τις σχετικές παραπομπές και μπορεί να περιλαμβάνει μη δημοσιεύσιμα σχετικά στοιχεία.
- 3.1.3.** Για να επιταχθεί το ταχύτερο δυνατόν εναρμονισμένη ταξινόμηση για την Κοινότητα, με τη διαδικασία που καθορίζεται στο άρθρο 21, τα κράτη μέλη που διαθέτουν πληροφορίες που δικαιολογούν την ταξινόμηση ουσίας σε μια από τις κατηγορίες αυτές, είτε υποβλήθηκαν από τον κατασκευαστή είτε όχι, πρέπει να διαβιβάζουν αυτές προς την Επιτροπή τις πληροφορίες αυτές μαζί με κρίσεις για ταξινόμηση και επισήμανση.
- Η Επιτροπή θα διαβιβάζει την προτεινόμενη ταξινόμηση και επισήμανση που έχει λάβει προς τα άλλα κράτη μέλη. Κάθε κράτος μέλος μπορεί να απαντήσει στην Επιτροπή, για να λάβει γνώση των πληροφοριών που υποβλήθηκαν.
- Οποιοδήποτε κράτος μέλος έχει βέβαιους λόγους να πιστεύει ότι η προτεινόμενη ταξινόμηση και επισήμανση είναι ακατάλληλη όσον αφορά τα καρκινώματα, μεταλλαζόνια ή τερατογόνα αποτελέσματα μιας ουσίας, πρέπει να το γνωστοποιήσει στην Επιτροπή.
- 3.1.4.** Η προσωρινή επισήμανση που εφαρμόζεται από τον κατασκευαστή ή τον αντιπρόσωπό του παραμένει ισχυρή μέχρις ότου τεθεί σε ισχύ απόφαση σχετικά με την καταχώριση ή μη της εν λόγω ουσίας στο κάρβηριμα I.
- 3.2.** Καρκινογόνες ουσίες
- 3.2.1.** Προς εξυπηρέτηση των σκοπών της ταξινόμησης και της επισήμανσης και έχοντας υπόψη τις σημερινές γνώσεις, οι ουσίες αυτές διαφύονται σε τρεις κατηγορίες:
- Κατηγορία 1
Ουσίες γνωστές ως καρκινώγους για τον άνθρωπο. Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις για τη διαπίστωση αιτιώδους σχέσης μεταξύ της έκθεσης του ανθρώπου στην ουσία και της ανάπτυξης του καρκίνου.
- Κατηγορία 2
Ουσίες που θα μπορούσαν να θεωρηθούν καρκινώγους για τον άνθρωπο. Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις που παρέχουν ισχυρή μαρτυρία ότι η έκθεση του ανθρώπου στην ουσία μπορεί να καταλήξει στην ανάπτυξη καρκίνου, γενικά με βάση τα κατώτερα:
- κατάλληλες μακροπρόθεσμες μελέτες πάνω σε ζώα,
— άλλα σχετικά στοιχεία.
- Κατηγορία 3
Ουσίες που προκαλούν ανησυχία στον άνθρωπο λόγω πιθανών καρκινωγών αποτελεσμάτων αλλά για τις οποίες οι διαθέσιμες πληροφορίες δεν είναι κατάλληλες για να γίνει ικανοποιητική εκτίμηση. Υπάρχουν ορισμένες αποδείξεις από τις σχετικές μελέτες επί των ζώων, αλλά είναι ανεπαρκείς για να καταταγεί η ουσία στην κατηγορία 2.

- 3.2.2. Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ειδικές φράσεις κινδύνου:
 Κατηγορίες 1 και 2:
 R 45 Μπορεί να προκαλέσει κερνή
 Κατηγορία 3:
 R 40 Πιθανό κίνδυνο μόνιμων επιδράσεων
- 3.2.3. Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ταξινόμησεις και τα ακόλουθα σύμβολα:
 Κατηγορίες 1 και 2: τουλάρχιστον: Τοξικό
 Κατηγορία 3: Επιβλαβής
 Τα συμπεράσματα στα οποία καταλήγει η εφαρμογή των κριτηρίων που αναφέρονται στις παραγράφους 2.4.6 έως 2.4.10 μπορούν να υποδεικνύουν την ανάγκη μιας αυστηρότερης ταξινόμησης.
- 3.3. Μεταλλαξιογόνες ουσίες
- 3.3.1. Προς εξυπηρέτηση των σκοπών της ταξινόμησης και της επισήμανσης, και έχοντας υπόψη τις σημερινές γνώσεις, οι ουσίες του είδους αυτού διαίρονται σε τρεις κατηγορίες:
 Κατηγορία 1
 Ουσίες που είναι γνωστές ως μεταλλαξιογόνες για τον άνθρωπο.
 Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις για να διαπιστωθεί η αιτιώδης σχέση μεταξύ της έκθεσης του ανθρώπου στην ουσία και της κληρονομικής γενετικής βλάβης.
 Κατηγορία 2
 Ουσίες που πρέπει να θεωρούνται τερατογόνες για τον άνθρωπο.
 Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις που παρέχουν ισχυρή υποψία ότι η έκθεση του ανθρώπου στην ουσία μπορεί να προκαλέσει μη κληρονομικές εκ γενετής ανωμαλίες στους απογόνους, γενικά με βάση τα καλύτερα:
 — κατάλληλες μελέτες πάνω σε ζώα,
 — άλλα σχετικά στοιχεία.
- 3.3.2. Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ειδικές φράσεις κινδύνου:
 Κατηγορίες 1 και 2:
 R 47 Μπορεί να προκαλέσει ανωμαλίες στα νεογνά
 Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ταξινόμησεις και τα ακόλουθα σύμβολα:
 Κατηγορία 1: τουλάρχιστον: Τοξικό
 Κατηγορία 2: Επιβλαβής
 Τα συμπεράσματα στα οποία καταλήγει η εφαρμογή των κριτηρίων που αναφέρονται στις παραγράφους 2.4.6 έως 2.4.10 μπορούν να υποδεικνύουν την ανάγκη αυστηρότερης ταξινόμησης.
- 3.3.3. Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ειδικές φράσεις κινδύνου:
 Κατηγορίες 1 και 2:
 R 46 Μπορεί να προκαλέσει κληρονομική γενετική βλάβη
 Κατηγορία 3:
 R 40 Πιθανό κίνδυνο μόνιμων επιδράσεων
- 3.3.3. Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ταξινόμησεις και τα ακόλουθα σύμβολα:
 Κατηγορία 1: τουλάρχιστον: Τοξικό
 Κατηγορία 2: Επιβλαβής
 Τα συμπεράσματα στα οποία καταλήγει η εφαρμογή των κριτηρίων που αναφέρονται στις παραγράφους 2.4.6 έως 2.4.10 μπορούν να υποδεικνύουν την ανάγκη μιας αυστηρότερης ταξινόμησης.
- 3.4. Τερατογόνες ουσίες
- 3.4.1. Προς εξυπηρέτηση των σκοπών της ταξινόμησης και της επισήμανσης, και έχοντας υπόψη τις σημερινές γνώσεις, οι ουσίες αυτές διαίρονται σε δύο κατηγορίες:
 Κατηγορία 1
 Ουσίες γνωστές ως τερατογόνες για τον άνθρωπο.
 Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις για τη διαπίστωση αιτιώδους σχέσης μεταξύ της έκθεσης του ανθρώπου στην ουσία και των επακόλουθων μη κληρονομικών εκ γενετής ανωμαλιών των απογόνων.
 Κατηγορία 2
 Ουσίες που πρέπει να θεωρούνται τερατογόνες για τον άνθρωπο.
 Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις που παρέχουν ισχυρή υποψία ότι η έκθεση του ανθρώπου στην ουσία μπορεί να προκαλέσει μη κληρονομικές εκ γενετής ανωμαλίες στους απογόνους, γενικά με βάση τα καλύτερα:
 — κατάλληλες μελέτες πάνω σε ζώα,
 — άλλα σχετικά στοιχεία.
- 3.4.2. Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ειδικές φράσεις κινδύνου:
 Κατηγορίες 1 και 2:
 R 47 Μπορεί να προκαλέσει ανωμαλίες στα νεογνά
 Χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες ταξινόμησεις και τα ακόλουθα σύμβολα:
 Κατηγορία 1: τουλάρχιστον: Τοξικό
 Κατηγορία 2: Επιβλαβής
 Τα συμπεράσματα στα οποία καταλήγει η εφαρμογή των κριτηρίων που αναφέρονται στις παραγράφους 2.4.6 έως 2.4.10 μπορούν να υποδεικνύουν την ανάγκη αυστηρότερης ταξινόμησης.
4. ΕΚΛΟΤΗ ΦΡΑΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗΣ
- Οι φράσεις για τις οδηγίες προφύλαξης χρησιμοποιούνται για τις ουσίες και τα παρασκευάσματα σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:
- S 1 Φυλάσσεται κλειδωμένο
 — Εφαρμογή
 — Σε πολύ τοξικές και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 — Κριτήρια χρήσης
 — Συνιστάται για πολύ τοξικές και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα που είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό.

- S 2** Μετρά από παιδιά
- Εφαρμογή
 - Όλες οι επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική μόνο για τις επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα που είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό ή τα οποία είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν σε μέρη προσβάσιμα στο ευρύ κοινό εκτός εάν δεν υπάρχει λόγος φόβου για κάποιο κίνδυνο ειδικά για τα παιδιά.
- S 3** Να φυλάσσεται σε ψυγείο μέρος
- Εφαρμογή
 - Σε οργανικά υπεροξειδία.
 - Σε άλλες επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα με σημείο ζέσης 40 °C.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική για οργανικά υπεροξειδία εκτός εάν χρησιμοποιείται η φράση S 47.
 - Συνοψίζεται για άλλες επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα με ανώτατο σημείο ζέσης 40 °C.
- S 4** Μακριά από κατοικημένους χώρους
- Εφαρμογή
 - Σε πολύ τοξικά και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Κανονικά περιορίζεται σε πολύ τοξικά και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα όταν πρέπει να συμπληρωθεί η φράση S 13, π.χ. όταν υπάρχει κίνδυνος εισπνοής και η ουσία ή το παρασκεύασμα πρέπει να αποθηκευθεί μακριά από κατοικημένους χώρους. Οι οδηγίες δεν αποσκοπούν στο να παρεμποδίσουν μια ενδελεγγυμένη χρησιμοποίηση της ουσίας ή του παρασκευάσματος σε κατοικημένους χώρους.
- S 5** Διατηρείται το περιεχόμενο μίση σε ... (το είδος του κατάλληλου υγρού καθορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε αυτοαναφλεγόμενες στερεές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Κανονικά περιορίζεται σε ειδικές περιπτώσεις, π.χ. στο νάτριο, κάλιο ή λαυκό φωσφορο.
- S 6** Διατηρείται σε ερμητικό ... (το είδος του αβρανούς αερίου καθορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα οι οποίες πρέπει να διατηρούνται σε αβρανοί κερβίλλων.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Κανονικά περιορίζεται σε ειδικές περιπτώσεις, π.χ. ορισμένων οργανομεταλλικών ενώσεων.
- S 7** Το δοχείο να διατηρείται ερμητικά κλεισμένο
- Εφαρμογή
- S 8** Το δοχείο να προστατεύεται από υγρασία
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που μπορεί να έχουν έντονη αντίδραση με το νερό.
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία όταν έρχονται σε επαφή με το νερό ελευθερώνουν λίαν εύφλεκτα αέρια.
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία όταν έρθουν σε επαφή με το νερό ελευθερώνουν λίαν τοξικά ή τοξικά αέρια.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Κανονικά περιορίζεται στα κέδια εφαρμογής που αναφέρονται πιο πάνω όταν χρειάζεται να ενισχυθεί η προειδοποίηση που δίδεται από τις φράσεις R 14, R 15, κυρίως, και την R 29.
- S 9** Το δοχείο να διατηρείται σε καλά αεραζόμενο μέρος
- Εφαρμογή
 - Σε οργανικά υπεροξειδία.
 - Σε πτηνικές ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να εκλύουν λίαν τοξικά, τοξικά ή επιβλαβή αέρια.
 - Εξόχως εύφλεκτα ή λίαν εύφλεκτα υγρά και αέρια.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική σε οργανικά υπεροξειδία ως συνδυασμός S 3/7/9.
 - Συνοψίζεται για πτηνικές ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να εκλύουν λίαν τοξικά, τοξικά ή επιβλαβή αέρια.
 - Συνοψίζεται σε εξόχως εύφλεκτα ή λίαν εύφλεκτα υγρά ή αέρια.
- S 12** Να μη διατηρείται το δοχείο ερμητικά κλεισμένο
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που με τη δημιουργία αερίων ή ατμών θα μπορούσαν να διαρρήξουν το δοχείο.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Κατ' αρχήν περιορίζεται στις ειδικές περιπτώσεις που αναφέρονται πιο πάνω.
- S 13** Μετρά από τρέφωμα, κατά και (μιστροφέι)
- Εφαρμογή
 - Σε λίαν τοξικά, τοξικά και επιβλαβή ουσίες και παρασκευάσματα.
- S 2** Μετρά από παιδιά
- Σε οργανικά υπεροξειδία.
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που εκλύουν τοξικούς, επιβλαβείς ή πολύ εύφλεκτους ατμούς ή που εκλύουν λίαν εύφλεκτα αέρια ή πολύ εύφλεκτα αέρια.
 - Σε ουσίες που όταν βρεθούν σε επαφή με υγρασία εκλύουν πολύ εύφλεκτα αέρια.
 - Σε πολύ εύφλεκτα στερεά.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική, σε οργανικά υπεροξειδία ως συνδυασμός S 3/7/9.
 - Συνοψίζεται και για τα άλλα κέδια εφαρμογής που αναφέρονται πιο πάνω.

- Κριτήρια χρήσης
— Συντάσσεται όταν οι ουσίες αυτές και τα παρασκευάσματα είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό.
- S 14** Μακρά από ... (ασύμβατες ουσίες που καθορίζονται από τον κατασκευαστή)
— Εφαρμογή
— Σε οργανικά υπεροξειδία.
— Κριτήρια χρήσης
— Υποχρεωτική, που περιορίζεται κανονικά στα οργανικά υπεροξειδία. Εντούτοις μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εξαιρετικές περιπτώσεις όταν το ασυμβαστό είναι δυνατόν να ληφθεί ιδιαίτερο κίνδυνο.
- S 15** Μακρά από θερμότητα
— Εφαρμογή
— Σε ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία μπορούν να αποσυντεθούν ή μπορούν να αντιδράσουν αυτόματα υπό την επίδραση της φωτιάς.
— Κριτήρια χρήσης
— Περιορίζεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις, π.χ. μονομερή, αλλά δεν χρησιμοποιείται εάν οι φράσεις κινδύνου R 2, R 3 ή/και R 5 έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί.
- S 16** Μακρά από παγιά ανέλεξής — Απογορεύεται το κλάσμα
— Εφαρμογή
— Σε ελάχως εφάλεκτα ή λίαν εφάλεκτα υγρά και αέρια.
— Κριτήρια χρήσης
— Συντάσσεται για ουσίες και παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω αλλά δεν χρησιμοποιείται εάν έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί οι φράσεις κινδύνου R 2, R 3, ή/και R 5.
- S 17** Μακρά από καύσιμες ουσίες
— Εφαρμογή
— Σε ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να σχηματίσουν εκρηκτικά ή αυταναφλετόμενα μίγματα με τις καύσιμες ουσίες.
— Κριτήρια χρήσης
— Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ειδικές περιπτώσεις, π.χ. για να δώσει έμφαση στις φράσεις κινδύνου R 8 και R 9.
- S 18** Χαφιστείτε και ανοίξτε το δοχείο προσεκτικά
— Εφαρμογή
— Σε ουσίες και παρασκευάσματα που είναι επικίνδυνες να δημιουργήσουν υπερβολική πίεση στο δοχείο.
— Σε ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να σχηματίσουν εκρηκτικά υπεροξειδία.
— Κριτήρια χρήσης
- Περιορίζεται κανονικά στις περιπτώσεις που αναφέρονται πιο πάνω όταν υπάρχει κίνδυνος βλάβης για τα μέλη ή/και όταν οι ουσίες και τα παρασκευάσματα είναι δυνατόν να χρησιμοποιούνται από το ευρύ κοινό.
- S 20** Μην τρώτε ή πίνετε όταν το χρησιμοποιείτε
— Εφαρμογή
— Σε λίαν τοξικές, τοξικές και διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
— Κριτήρια χρήσης
— Περιορίζεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις (π.χ. αραιωτικό και ενώσεις του αραιωτικού, φθοριούχα οξικά άλατα), ιδίως όταν κάποιο από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί από το ευρύ κοινό.
- S 21** Μην καπνίζετε όταν το χρησιμοποιείτε
— Εφαρμογή
— Σε ουσίες και παρασκευάσματα που παράγουν τοξικά προϊόντα κατά την καύση.
— Κριτήρια χρήσης
— Περιορίζεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις (π.χ. αλγονομίενες ενώσεις).
- S 22** Μην αναπνεύετε την σκόνη
— Εφαρμογή
— Σε όλες τις στερεές επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα.
— Κριτήρια χρήσης
— Συντάσσεται για εκείνες τις ουσίες και παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω, οι οποίες είναι επικίνδυνες να σχηματίσουν εισπνεύσιμες σκόνες, και όταν είναι αναγκαίο για να επιστήσι την προσοχή του χρήστη στους κινδύνους εισπνοής που δεν αναφέρονται στις φράσεις κινδύνου οι οποίες έχουν αναγραφεί. Εντούτοις, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εξαιρετικές περιπτώσεις για να προσδώσει έμφαση σε αυτές τις εκφράσεις κινδύνου, ιδίως για να προσδώσει έμφαση στην φράση R 42.
- S 23** Μην αναπνεύετε αέρια/καπνούς/αερούς/αεραφύματα (η κατάλληλη διατύπωση προσδιορίζεται από τον κατασκευαστή)
— Εφαρμογή
— Σε όλες τις επικίνδυνες υγρές ή αέριες ουσίες και παρασκευάσματα.
— Κριτήρια χρήσης
— Συντάσσεται όταν είναι ανάγκη να στραφεί η προσοχή του χρήστη σε κινδύνους από την εισπνοή, που δεν αναφέρονται στις φράσεις κινδύνου που πρέπει να αναρροφούνται. Εντούτοις, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε εξαιρετικές περιπτώσεις για να προσδώσουν έμφαση σε τέτοιες φράσεις κινδύνου, ιδίως για να προσδώσουν έμφαση στην φράση R 42.
— Συντάσσεται για ουσίες και παρασκευάσματα σε μορφή αεροζόλ, τα οποία είναι δυνατόν να χρησιμοποιούνται από το ευρύ κοινό.
- S 24** Αποπλύνετε εκτεθ με το δέρμα
— Εφαρμογή
— Σε όλες τις επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα.
— Κριτήρια χρήσης
— Συντάσσεται όταν πρέπει να στραφεί η προσοχή του χρήστη σε κινδύνους από την επαφή με το δέρμα, που δεν αναφέρονται στις φράσεις κινδύνου που πρέπει να αναρροφούνται. Εντούτοις, μπορούν να χρησιμοποιούνται σε εξαιρετικές περιπτώσεις για να προσδώσουν έμφαση σε τέτοιες φράσεις κινδύνου, ιδίως για να προσδώσουν έμφαση στην φράση R 43.

- S 25 Αποφύγετε επαφή με τα μάτια
- Εφαρμογή
 - Σε διαβρωτικές και ερεθιστικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιορίζεται, κανονικά, σε ειδικές περιπτώσεις, όταν κρίνεται ουσιαστικό να προσδοθεί έμφραση στον κίνδυνο για τα μάτια, που δηλώνεται με τη χρήση των φράσεων R 34, R 35, R 36 ή R 41. Είναι τόσο σημαντικό αν αυτές οι ουσίες και παρασκευάσματα είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό και η προστασία των ματιών ή του προσώπου μπορεί να μην είναι εφικτή.
- S 26 Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια πλύνετε αμέσως με άφρονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή
- Εφαρμογή
 - Σε διαβρωτικές και ερεθιστικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική σε διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα και σε εκείνες στις οποίες έχει αναγραφεί η φράση R 41.
 - Συνιστάται σε ερεθιστικές ουσίες στις οποίες έχει ήδη αναγραφεί η φράση κινδύνου R 36.
- S 27 Αφαιρέστε αμέσως όλα τα ενδύματα που έχουν μολυνθεί
- Εφαρμογή
 - Σε οργανικά υπεροξειδία.
 - Σε λιαν τοξικές, τοξικές ή διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική σε οργανικά υπεροξειδία.
 - Συνιστάται για λιαν τοξικές και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία απορροφώνται εύκολα από το δέρμα και για διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα, εκτός εάν η φράση για την προφύλαξη S 36 μπορεί να θεωρηθεί αρκετή όπως έχει.
- S 28 Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα, πλύνετε αμέσως με άφρονο ... (το είδος του υγρού καθορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε λιαν τοξικές, τοξικές ή διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται για τις ουσίες και τα παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω, ιδίως όταν το νερό δεν είναι το πλέον ενδεδειγμένο υγρό έκπλυσης.
- S 29 Μη ρίχνετε τα υελάσματα στην αποχέτευση
- Εφαρμογή
 - Σε εφόδως ή λιαν εύφλεκτα υγρά.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται για τα εφόδως ή λιαν εύφλεκτα υγρά τα οποία δεν αναμιγνύονται με το νερό. Ο σκοπός είναι να αποφεραθούν τα συζήματα (π.χ. φωτιά, έκρηξη) και να μην επιταθούν τα γενικά προβλήματα μόλυνσης.
- S 30 Ποτέ μην προσθέτετε νερό στο προϊόν αυτό
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα τα οποία αντιδρούν έντονα με το νερό.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιορίζεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις (π.χ. θετικό οξύ) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κατάλληλη φράση για να δώσει τις σαφέστερες δυνατές πληροφορίες, είτε για να προσδώσει έμφραση στη φράση R 14 είτε σαν εναλλακτική φράση της R 14.
- S 33 Αλλάξτε προστατευτικά μέτρα έναντι ηλεκτροστατικών εκκνώσεων
- Εφαρμογή
 - Σε εφόδως λιαν εύφλεκτες ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται για ουσίες και παρασκευάσματα που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία, που δεν απορροφούν υγρασία. Στην πράξη δεν χρησιμοποιείται ποτέ για ουσίες και παρασκευάσματα που διατίθενται στην αγορά προς χρήση από το ευρύ κοινό.
- S 34 Αποφύγετε τα κτυπήματα και την τριβή
- Εφαρμογή
 - Σε εκρηκτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική χρήση περιορίζεται κανονικά σε εκρηκτικά οργανικά υπεροξειδία.
- S 35 Πάρτε τις απαραίτητες προφυλάξεις προκειμένου να πετύχετε το προϊόν και τη συνσκευασία του
- Εφαρμογή
 - Σε εκρηκτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Σε λιαν τοξικές και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική για εκρηκτικές ουσίες και παρασκευάσματα εκτός από τα οργανικά υπεροξειδία.
 - Συνιστάται για λιαν τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα, ιδίως όταν οι ουσίες αυτές και τα παρασκευάσματα είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό.
- S 36 Φοράτε κατάλληλη προστατευτική ενδυμασία
- Εφαρμογή
 - Σε λιαν τοξικές, τοξικές ή εκφλαβείς ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Σε διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται για παρασκευάσματα και ουσίες χρησιμοποιούμενες στη βιομηχανία, οι οποίες είναι:
 - λιαν τοξικές, τοξικές ή διαβρωτικές, ή/και
 - εκφλαβείς και εύκολως απορροφώμενες από το δέρμα, ή/και
 - επικίνδυνες να βλάψουν την υγεία με την παρατεταμένη έκθεση.

- S 37 Φορέτε κατάλληλα γάντια
- Εφαρμογή
 - Σε λιαν τοξικά, τοξικές, επιβλαβείς ή διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Σε οργανικά υπεροξείδια.
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που ερεθίζουν το δέρμα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται για λιαν τοξικά, τοξικές και διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα, όταν δεν χρησιμοποιείται η φράση S 36 (βλ. παρακάτω) ή το ευρύ κοινό).
 - Συνιστάται για οργανικά υπεροξείδια ως συνδυασμός S 37/39.
 - Συνιστάται για ουσίες και παρασκευάσματα που ερεθίζουν το δέρμα, ιδίως όταν η φράση κινδύνου R 38 δεν αναφέρεται στην επισήμανση.
- S 38 Σε περίπτωση μη επαρκούς ερωσμού, χρησιμοποιείτε κατάλληλη ανεκταστική συσκευή
- Εφαρμογή
 - Σε λιαν τοξικές ή τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιγράφεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις που συνεκρίνονται τη χρήση λιαν τοξικών και τοξικών ουσιών και παρασκευασμάτων στη βιομηχανία ή τη γεωργία.
- S 39 Χρησιμοποιείτε συσκευή προστασίας ματιών/προσώπου
- Εφαρμογή
 - Σε οργανικά υπεροξείδια.
 - Σε διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα, περιλαμβανομένων των ερεθιστικών που αποτελούν κινήσων κινδύνων για τα μάτια.
 - Σε λιαν τοξικές και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται για οργανικά υπεροξείδια ως συνδυασμός S 37/39.
 - Συνιστάται για τις διαβρωτικές ουσίες και παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω, ιδίως όταν υπάρχει κίνδυνος πτασιμότητας.
 - Περιγράφεται κανονικά σε εξαιρετικές περιπτώσεις για λιαν τοξικές και τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα, όταν υπάρχει κίνδυνος πτασιμότητας και είναι δυνατό να απορροφηθούν εύκολα από το δέρμα.
- S 40 Για τον καθαρισμό του πέταματος και όλων των αντικειμένων που έχουν μολυνθεί από το αυτό το υλικό χρησιμοποιείτε ... (το είδος καθορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε όλες τις επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια
 - Περιγράφεται κανονικά σε εκείνες τις επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα για τις οποίες το νερό δεν θεωρείται το κατάλληλο μέσο καθαρισμού (π.χ. όταν είναι απαραίτητη η απορρόφηση από υλικό με μορφή σκόνης, ή διάλυση με διαλυτικό) και όπου είναι σημαντικό για την υγεία ή/και για λόγους ασφάλειας να δοθούν συμβουλές για την επισήμανση.
- S 41 Σε περίπτωση πυρκαϊάς ή/και έκρηξης μην αναπνέετε τους καπνούς
- Εφαρμογή
- S 42 Κατά τη διάρκεια πυρκαϊάς ή έκρηξης χρησιμοποιείτε κατάλληλη αναπνευστική συσκευή (η κατάλληλη διατύπωση προσδιορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που προορίζονται για τέτοια χρήση αλλά που μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία και την ασφάλεια του χρήστη, εκτός αν ληφθούν οι κατάλληλες προφυλάξεις.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιγράφεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις.
- S 43 Σε περίπτωση πυρκαϊάς, χρησιμοποιήστε ... (αναφέρετε το ακριβές είδος μέσων κατάσβεσης. Εάν το νερό αυξάνει τον κίνδυνο, προσθέστε: Μην χρησιμοποιείτε ποτέ νερό)
- Εφαρμογή
 - Σε εξόχως εύφλεκτες, λιαν εύφλεκτες και εύφλεκτες ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική χρήση για ουσίες και παρασκευάσματα που σε επαφή με το νερό ή τον υγρό αέρα αναπτύσσουν πολύ εύφλεκτα αέρια.
 - Συνιστάται για εξόχως εύφλεκτες, λιαν εύφλεκτες και εύφλεκτες ουσίες και παρασκευάσματα, ιδίως όταν δεν αναμειγνύονται με το νερό.
- S 44 Εάν αισθανθείτε αδυναμία, ζητήστε ιατρική συμβουλή (βλέψτε την ετικέτα όπου είναι δυνατόν).
- Εφαρμογή
 - Τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική χρήση για τις ουσίες και τα παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω, όταν χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία και δεν είναι πιθανό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό.
- S 45 Σε περίπτωση αιχμώματος ή αν αισθανθείτε αδυναμία, ζητήστε ορισώς ιατρική συμβουλή (βλέψτε την ετικέτα όπου είναι δυνατόν)
- Εφαρμογή
 - Σε λιαν τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Σε τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Υποχρεωτική χρήση για τις λιαν τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω.
 - Υποχρεωτική χρήση για τις τοξικές ουσίες και παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω, όταν είναι πιθανό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό.
- S 46 Σε περίπτωση κατάσβεσης, ζητήστε ορισώς ιατρική συμβουλή και δείξτε αυτό το δοχείο ή την ετικέτα
- Εφαρμογή
 - Σε όλες τις επικίνδυνες ουσίες και παρασκευάσματα, εκτός από εκείνα που είναι λιαν τοξικά ή τοξικά.

- S 52 Να μη χρησιμοποιηθεί σε ευρείες επιφάνειες σε κατοικούμενους χώρους
- Εφαρμογή
 - Πιπτικές λίαν τοξικές, τοξικές και επιβλαβείς ουσίες και παρασκευάσματα που τις περιέχουν.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται όταν είναι πιθανό να προκληθεί βλάβη στην υγεία από παρατεταμένη έκθεση σε αυτές τις ουσίες λόγω της πτητικότητάς τους σε μεγάλες επιφάνειες χρήσης στο σπίτι ή σε άλλους κλειστούς χώρους όπου συγκεντρώνονται άτομα.
- S 53
5. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ
- 5.1. Η πρόταση για την επισήμανση της ουσίας πρέπει να απορρέει από το σύνολο των συμβόλων, των φράσεων R (κινδύνων) και των φράσεων S (οδηγίες προφύλαξης) που της προσδίδονται.
- 5.2. Η πρόταση για την επισήμανση ενός παρασκευάσματος πρέπει να απορρέει κατ' ανάλογο τρόπο προς εκείνον που χρησιμοποιείται για μια ουσία και ιδίως να βασίζεται:
- α) στον καθορισμό των κατηγοριών κινδύνου σύμφωνα με τα ειδικά κριτήρια που καθιερώθηκαν σε κάθε ειδική οδηγία (περί παρασκευασμάτων)
 - β) στην εκλογή της καταλληλότερης φράσης R και S. Διότι, ενώ ορισμένες φράσεις R απορρίβνουν ακριβώς από τις κατηγορίες κινδύνου, άλλες φράσεις R και S που πρέπει να εφαρμοστούν απορρίβνουν κυρίως από τις φράσεις R και S που προσδίδονται στο ανατομικό που συμβάλλει περισσότερο στις επικίνδυνες ιδιότητες του παρασκευάσματος, σύμφωνα με τα προηγούμενα τμήματα 2 και 4*
 - γ) σε ορισμένες περιπτώσεις, ιδιαίτερες οδηγίες, παρέχουν υποχρεωτικές φράσεις για ορισμένα παρασκευάσματα (π.χ. κωανοακυλικές κόλλες, βαφές που προορίζονται για γκασιμό). Στις περιπτώσεις αυτές, οι φράσεις αυτές πρέπει πάντοτε να αναφέρονται.
- 5.3. Παρόλο που η τελική εκλογή της πλέον κατάλληλης φράσης R και S εξαρτάται κυρίως από την ανάγκη να δοθούν όλες οι απαραίτητες πληροφορίες, πρέπει αυστηρώς να ληφθεί υπόψη η σαφήνεια και ο αντικτυπός της ετικέτας. Για λόγους σαφήνειας, οι αναγκαίες πληροφορίες πρέπει να είναι εκφρασμένες με το λιγότερο δυνατό αριθμό φράσεων.
- 5.4. Γενικά αρκούν μέχρι τέσσερις φράσεις R και μέχρι τέσσερις φράσεις S. Για το σκοπό αυτό, οι συνδυασμένες φράσεις που περιέχονται στα παρατήματα III και IV θεωρούνται ως μόνες φράσεις. Παρόλο που είναι δυνατό να μεσφύει το σύνολο του αριθμού των φράσεων για ουσίες και παρασκευάσματα που έχουν ταξινόμηθεί, π.χ. ως επιβλαβή, ερεθιστικά ή εύφλεκτα, περισσότερο από τέσσερις φράσεις R και τέσσερις φράσεις S θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε πολύ ειδικές περιπτώσεις.
- * Όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν περισσότερες από τέσσερις φράσεις κινδύνου σε μία ουσία ή παρασκευάσμα, καθώς και ο συνδυασμός φράσεων που αναφέρεται στο παράρτημα III, είναι γενικά δυνατό να καταργηθούν οι φράσεις που αναφέρονται στον κατώτερο βαθμό ενδεχόμενου κινδύνου, εφόσον με τον τρόπο αυτό δεν μειώνεται η συνολική αποτελεσματικότητα των ειδικών προειδοποιήσεων. Σηχνά διαπιστώνεται ότι μερικές φράσεις για επικίνδυνες καταστάσεις μπορούν να καταργηθούν με την κατάλληλη εκλογή μιας οδηγίας προφύλαξης.
- Οι φράσεις R που αντιστοιχούν στα σύμβολα που περιλαμβάνονται στην ετικέτα είναι υποχρεωτικές, με τη διαφορά ότι οι φράσεις «έξωτος εύφλεκτος» ή «λίαν εύφλεκτος» δεν χρειάζονται όταν απλώς εναλλακτικά τονίζουν τις λέξεις που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή του κινδύνου μέσω ενός συμβόλου.
- S 47 Διατηρείται σε θερμοκρασία κάτω των ... °C (προσδιορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που γίνονται ασταθή σε μια ορισμένη θερμοκρασία.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιορίζεται, κανονικά, σε ειδικές περιπτώσεις (π.χ. ορισμένα οργανικά υπεροξειδία).
- S 48 Διατηρείται υγρό με ... (το κατάλληλο υγρό προσδιορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να γίνουν πολύ ευσταθή σε σπινθήρες, τριβή ή, σε περίπτωση σύγκρουσης, αν αποξηραθούν.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιορίζεται κανονικά σε ειδικές περιπτώσεις, π.χ. στην υντροκυτταρίνη.
- S 49 Να διατηρείται μόνο στο αρχικό δοχείο
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα ευαίσθητα σε καταλυτική αποσύνθεση.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Περιορίζεται κανονικά σε ουσίες και παρασκευάσματα που υφίστανται σε καταλυτική αποσύνθεση (π.χ. ορισμένα οργανικά υπεροξειδία).
- S 50 Να μην αναμιγνύεται με ... (προσδιορίζεται από τον κατασκευαστή)
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που μπορούν να αντιδρούν με το προσδιοριζόμενο προϊόν και να αναπτύξουν λίαν τοξικά ή τοξικά αέρια.
 - Σε οργανικά υπεροξειδία.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται σε ουσίες και παρασκευάσματα που αναφέρονται πιο πάνω, που είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό, όταν αποτελεί καλύτερη εναλλακτική λύση από τις φράσεις R 31 ή R 32.
 - Υποχρεωτική χρήση σε ορισμένα υπεροξειδία που μπορούν να αντιδράσουν βίαια με εκταμυντές ή με προωδήτες.
- S 51 Να χρησιμοποιείται μόνο σε καλά αεραζόμενο χώρο
- Εφαρμογή
 - Σε ουσίες και παρασκευάσματα που είναι πιθανόν ή σκοπεύουν να δημιουργήσουν ατμούς, αέριο, κενό, ομίχλη κ.λ.κ., που δημιουργούν κινδύνους σε περίπτωση εισπνοής, ή κίνδυνου πυρκαϊάς ή έκρηξης.
 - Κριτήρια χρήσης
 - Συνιστάται όταν η χρήση της φράσης S 38 δεν μπορεί να είναι η κατάλληλη. Έχει μεγάλη σημασία, όταν αυτές οι ουσίες και τα παρασκευάσματα είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν από το ευρύ κοινό.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΜΕΡΟΣ Α: Μέθοδοι προσδιορισμού φυσικοχημικών ιδιοτήτων	Σελίδα
A. 1 Σημείο τήξεως/Περιοχή τήξεως	4
A. 2 Σημείο ζεσεως/Περιοχή ζεσεως	13
A. 3 Σχετική πυκνότητα	20
A. 4 Τάση ατμών	25
A. 5 Εμφανειακή τάση	37
A. 6 Διαλυτότητα στο νερό	44
A. 7 Διαλυτότητα στο λίπος	54
A. 8 Συντελεστής κατανομής	58
A. 9 Σημείο αναφλέξεως	62
A. 10 Αναφλεξιμότητα (Στερεά)	64
A. 11 Αναφλεξιμότητα (Αέρια)	67
A. 12 Αναφλεξιμότητα (Ουσίες που εκλύουν λίαν αναφλέξιμα αέρια)	69
A. 13 Αναφλεξιμότητα (Στερεά και υγρά)	73
A. 14 Εκρηκτικές ιδιότητες	75
A. 15 Αυτοαναφλεξιμότητα (Πιπτικά υγρά, αέρια)	85
A. 16 Αυτοαναφλεξιμότητα (Στερεά)	87
A. 17 Οξειδωτικές ιδιότητες	90
94	
94	
96	
99	
103	
106	
109	
113	
118	
122	
127	
131	
134	
137	
140	
143	
146	
ΜΕΡΟΣ Β: Μέθοδοι προσδιορισμού τοξικότητας	
Γενική εισαγωγή	
B. 1 Οξεία τοξικότητα από στόματος	
B. 2 Οξεία τοξικότητα ανακνευστική	
B. 3 Οξεία τοξικότητα δερματική	
B. 4 Οξεία τοξικότητα δερματική ερεθιστικότητα	
B. 5 Οξεία τοξικότητα ερεθιστικότητα οφθαλμού	
B. 6 Οξεία τοξικότητα δερματική ευαισθητοποίηση	
B. 7 Υπο-οξεία τοξικότητα από στόματος	
B. 8 Υπο-οξεία τοξικότητα ανακνευστική	
B. 9 Υπο-οξεία τοξικότητα δερματική	
B. 10 Άλλες επιδράσεις — Μεταλλαξογένεση — Θηλαστικά — in vitro	
B. 11 Άλλες επιδράσεις — Μεταλλαξογένεση — Θηλαστικά — μεζόδος οστών	
B. 12 Άλλες επιδράσεις — Μεταλλαξογένεση — Θηλαστικά — μικροπυρήνας	
B. 13 Άλλες επιδράσεις — Μεταλλαξογένεση — Escherichia Coli	
B. 14 Άλλες επιδράσεις — Μεταλλαξογένεση — Salmonella Typhimurium	
ΜΕΡΟΣ Γ: Μέθοδοι προσδιορισμού οικοτοξικότητας	
Γ. 1 Οξεία τοξικότητα σε ψάρια	
Γ. 2 Οξεία τοξικότητα για daphnia	
Γ. 3 Διασπασιμότητα — Βιοδιασπασιμότητα: τροποποιημένη βασική μέθοδος OECD	
Γ. 4 Διασπασιμότητα — Βιοδιασπασιμότητα: τροποποιημένη μέθοδος ελ-χτου AFNOR NF T 90/302	
Γ. 5 Διασπασιμότητα — Βιοδιασπασιμότητα: τροποποιημένη μέθοδος Σιμπ	
Γ. 6 Διασπασιμότητα — Βιοδιασπασιμότητα: μέθοδος κλειστής φιάλης	
Γ. 7 Διασπασιμότητα — Βιοδιασπασιμότητα: τροποποιημένη μέθοδος MITI	
Γ. 8 Διασπασιμότητα — Βιοχημικός απαιτούμενο οξυγόνο	
Γ. 9 Διασπασιμότητα — Χημικός απαιτούμενο οξυγόνο	
Γ. 10 Ακικοδόμηση — Αβιοτική ακικοδόμηση: Υδρόλυση σαν συνάρτηση του pH	

5.5. Η τελική εκλογή των οδηγιών προφύλαξης πρέπει να έχει σχέση με τις φράσεις R που περιλαμβάνονται στην επισήμανση και με την προοριζόμενη χρήση της ουσίας ή του παρασκευάσματος:

- φράσεις S που είναι σαφώς συμβουλευτικές σε σχέση με φράσεις S παραλείπονται συνήθως από την ετικέτα, εκτός εάν χρησιμοποιούνται για να δώσουν ιδιαίτερη έμφαση σε ειδική προειδοποίηση
- ορισμένες φράσεις S, π.χ. S. 2, αναφέρονται ειδικά σε ουσίες και παρασκευάσματα που προορίζονται για χρήση από το ευρύ κοινό, ενώ άλλες φράσεις χρησιμοποιούνται ειδικά για τους εργαζόμενους. Οι φράσεις πρέπει να εμπεριλαμβάνονται με σκοπό την προοριζόμενη χρήση
- ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίδεται στην εκλογή των οδηγιών προφύλαξης στις προβλεπόμενες συνθήκες χρήσης ορισμένων ουσιών και παρασκευασμάτων, π.χ. ψεκασμός ή άλλα αποτελέσματα χρήσης αεροζόλ.

Άρθρο 4.

Το κείμενο του Παραρτήματος V, στο οποίο παραρτάται το Π.Δ. 329/83, αντικαθίσταται από το κείμενο του Παραρτήματος του παρόντος άρθρου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Το παράρτημα καθιερώνει μεθόδους ελέγχου για τον προσδιορισμό των φυσικοχημικών, τοξικολογικών και οικοτοξικολογικών ιδιοτήτων που περιλαμβάνονται στο παράρτημα VII και στο παράρτημα VIII της οδηγίας 79/831/ΕΟΚ, καθώς και τις αρχές για την ορθή εργαστηριακή πρακτική που πρέπει να τηρείται κατά την εφαρμογή των μεθόδων.

Οι μέθοδοι και οι αρχές για την ορθή εργαστηριακή πρακτική βασίζονται σε αντίστοιχες μεθόδους και αρχές αναγνωρισμένες και συνιστώμενες από αρμόδιους διεθνείς οργανισμούς (κυρίως του ΟΟΣΑ).

Στις περιπτώσεις που δεν υπήρχαν τέτοιοι μέθοδοι, υιοθετήθηκαν εθνικά πρότυπα ή κατάλληλες επιστημονικές μέθοδοι. Γενικά, οι έλεγχοι πρέπει να γίνονται με την ουσία, όπως αυτή κυκλοφορεί στην αγορά. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην πιθανή επίδραση ξένων προσμείξεων στα αναλυτικά αποτελέσματα.

Στις περιπτώσεις που οι μέθοδοι του παραρτήματος της οδηγίας 79/831/ΕΟΚ δεν είναι κατάλληλες για τη διερεύνηση μιας ιδιότητας, ο γναστοποιών πρέπει να αιτιολογήσει την εναλλακτική μέθοδο που θα χρησιμοποιηθεί.

Τα ζωικά περιβάματα και οι μελέτες θα διεξάγονται σύμφωνα με τους εθνικούς κανονισμούς, και θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ανθρώπινες αρχές και οι διεθνείς εξελίξεις στον τομέα της ζωικής πρόνοιας.

Ανάμεσα σε δύο η περισσότερες ισοδύναμες μεθόδους πρέπει να χρησιμοποιηθεί εκείνη που απαιτεί τη θύα του μικρότερου δυνατού αριθμού πειραματοζώων.

- 1.4. Αρχή της μέθδου**
Προσδιορίζεται η θερμοκρασία (περιοχή θερμοκρασίας) της φάσεως μετατροπής από τη στερεά στην υγρή κατάσταση. Στην πράξη, κατά τη θέρμανση ενός δείγματος της ελεγχόμενης ουσίας υπό ατμοσφαιρική πίεση, προσδιορίζονται οι θερμοκρασίες της αρχής της τήξεως και της τελικής φάσεως της τήξεως. Περιγράφονται τρεις τύποι μεθόδων, η μέθοδος τριχοειδούς, η μέθοδος θερμών φάσεων και οι προαδιορισμοί του σημείου τήξεως.
- 1.4.1. Μέθοδος τριχοειδούς**
- 1.4.1.1. Συσκευή σημείου τήξεως με υγρό λουτρό**
Μικρή ποσότητα της λεπτά κρυσταλλωμένης ουσίας φέρεται σε τριχοειδή σωλήνα και συμπιέζεται καλά. Ο σωλήνας θερμαίνεται μαζί με ένα θερμιόμετρο και ρυθμίζεται η άνοδος της θερμοκρασίας σε λιγότερο από περίπου 1 K/min κατά τη διάρκεια της κυρίως τήξεως. Προσδιορίζονται η αρχική και τελική θερμοκρασία τήξεως.
- 1.4.1.2. Μεταλλικός κορμός**
Όπως περιγράφεται στο 1.4.1.1, με τη διαφορά ότι ο τριχοειδής σωλήνας και το θερμιόμετρο είναι τοποθετημένα σε ένα θερμιόμετρο μεταλλικό θάλαμο και η παρατήρηση γίνεται από τρύπες στο θάλαμο.
- 1.4.1.3. Ανίχνευση με φωτοκύτταρο**
Το δείγμα στον τριχοειδή σωλήνα θερμαίνεται αυτόματα σε ένα μεταλλικό κύλινδρο. Μία δέση φωτός κατευθύνεται, μέσω της ουσίας, από μια τρύπα στον κύλινδρο, προς ένα φωτοκύτταρο βαθμονομημένο με ακρίβεια. Οι οπτικές ιδιότητες των περισσότερων ουσιών αλλάζουν από σκληρές προς διαφανείς όταν τήκονται. Η ένταση του φωτός που φθάνει στο φωτοκύτταρο αυξάνει και δίνει ένα σήμα ακινησίας στην αριθμητική ένδειξη της θερμοκρασίας ενός θερμιόμετρο με αντίσταση από λευκόχρυσο, τοποθετημένου στο θάλαμο θερμάνσεως. Η μέθοδος αυτή δεν είναι κατάλληλη για μερικές ισχυρά χρωματιστές ουσίες.
- 1.4.2. Θερμής εμφάνισης**
- 1.4.2.1. Θερμής ράβδος Kofler**
Η θερμή ράβδος Kofler χρησιμοποιεί δύο τμήματα μετάλλου με διαφορετική θερμική αγωγιμότητα, που θερμαίνονται ηλεκτρικά, με τη ράβδο κατασκευασμένη κατά τρόπο ώστε η κτώση θερμοκρασίας να είναι σχεδόν γραμμική κατά την κατεύθυνση του μήκους της. Η θερμοκρασία της θερμής ράβδου μπορεί να κυμαίνεται από 283 K έως 543 K με ένα ειδικό εξέρτημα αναγνώσεως της θερμοκρασίας, που περιλαμβάνει ένα δοχείο με ένα δείκτη και μία κλίμακα σχεδιασμένη για την ειδική ράβδο. Για τον προσδιορισμό ενός σημείου τήξεως, η ουσία τοποθετείται απευθείας στην εμφάνιση της θερμής ράβδου, σε λεπτή στερεή φάσεως. Διαβάζεται η θερμοκρασία στη διαχωριστική γραμμή διά μετακινήσεως του δείκτη πάνω στη γραμμή αυτή.
- 1.4.2.2. Μικροσκοπείο τήξεως**
Διάφορα μικροσκοπεία θερμών εμφανεών χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό σημείων τήξεως με πολύ μικρές ποσότητες υλικού. Στις περισσότερες από τις θερμής εμφάνισης η θερμοκρασία μετράται με
- ΜΕΡΟΣ Α: ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ**
- Α. 1. ΣΗΜΕΙΟ ΘΗΕΩΣ/ΠΕΡΙΟΧΗ ΘΗΕΩΣ**
- 1. ΜΕΘΟΔΟΣ**
Οι μέθοδοι που περιγράφονται εδώ βασίζονται στην κατευθυντήρια γραμμή ελέγχου του ΟΟΣΑ (1).
- 1.1. Εισαγωγή**
Οι μέθοδοι και τα όργανα που περιγράφονται εδώ εφαρμόζονται για τον προσδιορισμό του σημείου τήξεως χημικών ουσιών, χωρίς περιορισμούς σχετικά με το βαθμό καθαρότητας τους.
Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από τη φύση της ουσίας που θα ελεγχθεί.
Εκιομένως, ο περιοριστικός αυτός παράγοντας εξαρτάται από το εάν η ουσία μπορεί να κρυσταλλωθεί εύκολα, δύσκολα ή καθόλου.
Για μερικές ουσίες είναι πιο χαρακτηριστικός ο προσδιορισμός του σημείου τήξεως ή στερεοποίησησεως, γ' αυτό περιελάφθησαν εδώ πρότυπες μέθοδοι για τους προσδιορισμούς αυτούς.
- 1.2. Όργανα και μονάδες**
Σαν σημείο τήξεως ορίζεται η θερμοκρασία στην οποία λαμβάνει χώρα η μετατροπή της στερεάς φάσεως σε υγρή, σε κανονική ατμοσφαιρική πίεση.
Η θερμοκρασία αυτή, υπό ιδανικές συνθήκες, αντιστοιχεί στη θερμοκρασία του σημείου στερεοποίησησεως ή του σημείου τήξεως.
Εκείνη η φάση μετατροπής κολλών ουσιών λαμβάνει χώρα σε μια μεγάλη περιοχή θερμοκρασίας, συχνά χαρακτηρίζεται σαν περιοχή τήξεως.
Μετατροπή μονάδων (K σε °C)
 $t = T - 273,15$
όπου t εκφράζεται σε °C και T σε K.
- 1.3. Ουσίες αναφοράς**
Δεν είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς σε όλες τις περιπτώσεις κατά τις οποίες ερευνάται μια νέα χημική ουσία. Οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για τον έλεγχο της εφαρμοζόμενης μεθόδου, κατά διαστήματα και για σύγκριση αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται άλλη μέθοδος.
Μερικές ουσίες αναφοράς περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία (2).

Β. Μέθοδο θερμών επιφανειών και πήξεως

Μέθοδος μετρήσεως	Ουσίες που μπορούν να κοινοποιηθούν	Ουσίες που δεν κοινοποιούνται εύκολα	Ποσότητα θερμότητας	Μείωση ακρίβεια, κατά προέγερση αίσθηση (1)	Παρατηρήσεις
Θερμή επιφάνεια Koffler	Ναι	Όχι	283 K έως 543 K	± 1,0 K	Υπόχρον πρό-τυπο: ANSI/ASTM D 3431-76
Μικροσκόπιο τήξεως	Ναι	Μόνο σε μερικές	273 K έως 573 K (μέχρι 1773 K)	± 0,2 K	Υπόχρον πρό-τυπο: DIN 53736
Μέθοδος μηνίσκου	Όχι	Ειδικά για πολλαμνία	293 K έως 573 K	± 0,5 K	Υπόχρον πρό-τυπο: ISO 1218(E)
Μέθοδο σημείου πήξεως	Για υγρές ουσίες	Για υγρές ουσίες	223 K έως 573 K	± 0,5 K	Υπόχρον πρό-τυπο: BS 4699

(1) Εξαρτώμενη από τον τύπο του οργάνου και από το βαθμό καθαρότητας της ουσίας.

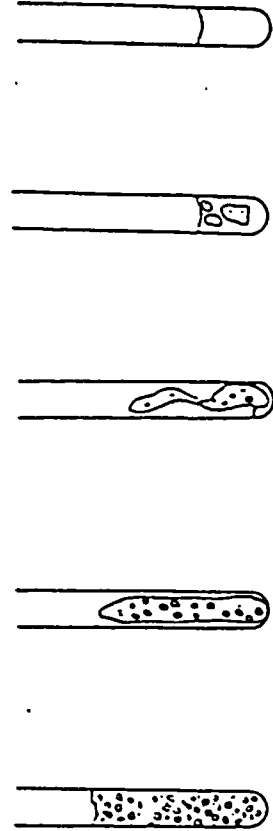
1.6. Περιγραφή των μεθόδων

Η τεχνική σχεδόν όλων των μεθόδων ελέγχου περιγράφεται σε εθνικά και διεθνή πρότυπα (βλέπε προσαρτήματα).

Μέθοδο με δοκιμαστικό σωλήνα

Λεπτά κοινοποιημένες ουσίες συνήθως παρουσιάζουν τις φάσεις τήξεως που εικονίζονται στο σχήμα 1 κατά τη διάρκεια ελαφρού ανάδου της θερμοκρασίας.

Σχήμα 1



Φάση Α Φάση Β Φάση Γ Φάση Δ Φάση Ε

ένα ενιαίο θερμοστατικό, καμιά φορά όμως χρησιμοποιούνται και υδραργυρικά θερμομέτρα. Μία τυπική σωατική μικροσκοπική θερμών επιφανειών για τον προσδιορισμό σημείου τήξεως αποτελείται από ένα θερμαινόμενο βάλανο ή οποιοςδήποτε μεταλλική πλάκα, πάνω στην οποία τοποθετείται το δείγμα πάνω σε ένα φορέο. Στο κέντρο της μεταλλικής πλάκας υπάρχει μια τρύπα, που επιτρέπει την είσοδο φωτός από τον καθρέφτη φωτισμού του μικροσκοπίου. Κατά τη χρήση, ο βάλανος κλείνεται με μια γυάλινη πλάκα που κόβει τον αέρα από την περιοχή εργασίας.

Η θέρμανση του δείγματος ρυθμίζεται με ένα ρεοστάτη. Για πολύ ακριβείς μετρήσεις, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κολωμένο φως για οπτικά αναδύρατες ουσίες.

Μέθοδος μηνίσκου

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ειδικά για πολλαμνία. Ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας, κατά την οποία η μετατόπιση ενός μηνίσκου από έλατο σπικίδης, που βρίσκεται μεταξύ μιας θερμής επιφάνειας και μιας υάλου-καλυκτρίδας, τοποθετημένης πάνω στο εξεταζόμενο δείγμα πολλαμνίου, γίνεται οπτικά.

Μέθοδος προσδιορισμού του σημείου πήξεως

Το δείγμα φέρεται σε έναν ειδικό δοκιμαστικό σωλήνα και τοποθετείται σε μια σωατική προσδιορισμού του σημείου κρυσταλλώσεως. Το δείγμα ανακινείται ελαφρά και συνεχώς κατά τη διάρκεια της ψύξεως και η θερμοκρασία διαβάζεται και καταγράφεται κάθε 30 δευτερόλεπτα. Όταν η θερμοκρασία παραμείνει σταθερή κατά τη διάρκεια μερικών αναγνώσεων, αυτή η θερμοκρασία (διορθωμένη κατά το θερμομετρικό σφάλμα) καταγράφεται σαν σημείο κρυσταλλώσεως.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Το πεδίο εφαρμογής και η ακρίβεια των διαφόρων μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του σημείου τήξεως/πρήξεως αναφέρονται στον ακόλουθο πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ: ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Α. Μέθοδο τριχοειδούς

Μέθοδος μετρήσεως	Ουσίες που μπορούν να κοινοποιηθούν	Ουσίες που δεν κοινοποιούνται εύκολα	Ποσότητα θερμότητας	Μείωση ακρίβεια, κατά προέγερση αίσθηση (1)	Παρατηρήσεις
Σωακευές σημείου τήξεως με υγρό λουτρό	Ναι	Μόνο σε μερικές	273 K έως 573 K	± 0,3 K	Υπόχρον πρό-τυπο: JIS K 0064
Σωακευές σημείου τήξεως με μεταλλικό κορμό	Ναι	Μόνο σε μερικές	293 K έως 573 K	± 0,5 K	Υπόχρον πρό-τυπο: ISO 1218(E)
Ανίχνευση με φωτοκύτταρο	Ναι	Σε αρκετές με σωακευές εφαρμογές	233 K έως 573 K	± 0,1 K	

(1) Εξαρτώμενη από τον τύπο του οργάνου και από το βαθμό καθαρότητας της ουσίας.

Για σημεία τήξεως πάνω από 513 K μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα μέγιστο εκτετατόμετρο από 3 μέτρα βελκός οξείας και 2 μέτρα βελκός κούλου (σε κλάσμα βάρους).

Θερμόμετρο:

Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο τα θερμόμετρα που είναι σύμφωνα με τις απαιτήσεις του ακόλουθου ή ισοδύναμων προτύπων: ASTM E 1-71, DIN 12770, JIS K 8001.

Πορεία:

Η ύψος ουσία κοινοποιείται σε λεπτή μορφή σε γυαλί και φέρεται στον τριτοειδή σωλήνα, συντηρημένο στη μία άκρη, έτσι ώστε το ύψος της στάθμης της να είναι περίπου 3 mm μετά από καλή σύμπτυξη. Για να ληφεί ένα δείγμα με ομοιόμορφη σύμπτυξη, ο τριτοειδής σωλήνας πρέπει να κλείσει από ένα άκρος περίπου 700 mm, μέσα σε έναν κατακόρυφο γυάλινο σωλήνα, πάνω σε μία βελή υδροχλωρίου.

Οι τρίτοι τριτοειδής σωλήνες φέρονται στο λουτρό έτσι ώστε το μέγεθος τμήμα της λεκάνης υδροχλωρίου του θερμόμετρου να εκτείνεται τον τριτοειδή σωλήνα στο τμήμα του που βρίσκεται το δείγμα. Συνήθως ο τριτοειδής σωλήνας εισέρχεται στη συσκευή σε 10 K. περίπου κάτω του σημείου τήξεως.

Το υγρό λουτρό θερμαίνεται έτσι ώστε η ανάφωση της θερμοκρασίας να είναι περίπου 3 K/min. Το υγρό πρέπει να αναδεύεται. Σε 10 K. περίπου κάτω της αναμενόμενης θερμοκρασίας τήξεως, η ταχύτητα ανάφωσής της θερμοκρασίας ρυθμίζεται κατά μήκτος σε 1 K/min.

Υαλολογισμός:

Ο υαλολογισμός του σημείου τήξεως γίνεται ως ακολούθως:

$$T = T_D + 0,00016 (T_D - T_E) A$$

όπου:

T = διορθωμένη θερμοκρασία τήξεως σε K,

T_D = ένδειξη θερμοκρασίας θερμομέτρου D σε K,

T_E = ένδειξη θερμοκρασίας θερμομέτρου E σε K,

A = εφάρμοδος διορθώσεων της υδροχλωρικής στάθμης του θερμομέτρου D με την επιβαρυνόμενη λεκάνη.

1.6.1.2. Μεταλλικός κορμός

Συνταγή

Η συνταγή αποτελείται από:

- έναν κυλινδρικό μεταλλικό κορμό, το πάχος μέρους του οποίου είναι κολλο και σχηματίζεται ένα θάλαμο (βλ.σε σχήμα 3).
- ένα μεταλλικό βύσμα, με δύο ή περισσότερες τρύπες, που εισέρχονται να εισέρχονται σωληνάριες μέσα στο μεταλλικό κορμό,
- ένα σύστημα θερμάνωσης του μεταλλικού κορμού, που επιτυγχάνεται π.χ. με μία ηλεκτρική αντίσταση ενσωματωμένη στον κορμό,
- ένα ποσότητα για ρύθμιση της ισχύος, αν χρησιμοποιείται ηλεκτρική θέρμανση,
- τήσορα κερφόρα από γυαλί ενέκτικτο στη θερμότητα πάνω στα όρθια τμήματα του θαλάμου, δομημένα τοποθετημένα σε ορθή γωνία μεταξύ τους. Εμπρός από το ένα από τα κερφόρα αυτά είναι στερεωμένος ένας προσοφθαλμικός φακός για παρατήρηση του τριτοειδή σωλήνα. Το θάλαμο κερφόρα χρησιμοποιούνται το φακό του εσωτερικού της διατάξεως με λάμας.
- έναν τριτοειδή σωλήνα από γυαλί ενέκτικτο στη θερμότητα, κλειστό στη μία άκρη (βλ.σε σχήμα 1.6.1.1).

Θερμόμετρο:

Βλ.σε πρόταση στο σημείο 1.6.1.1.

Μικροβί, επίσης, να χρησιμοποιηθούν θερμοηλεκτρικά όργανα με παρεμφερή ακρίβεια.

Φάση Β (σημείο συστολής): Παρατηρείται διάγνωση μεταξύ του δείγματος και των εσωτερικών τοιχωμάτων λόγω συστολής του δείγματος.

Φάση Γ (σημείο καταρρέουσας): Το υαλοπλήρες δείγμα αρχίζει να καταρρέει και να υγροποιείται.

Φάση Δ (σημείο υγροποιήσεως): Σχηματίζεται πλήρης μινιακός στην επιφάνεια, αλλά σημαντική ποσότητα του δείγματος παραμένει στερεά.

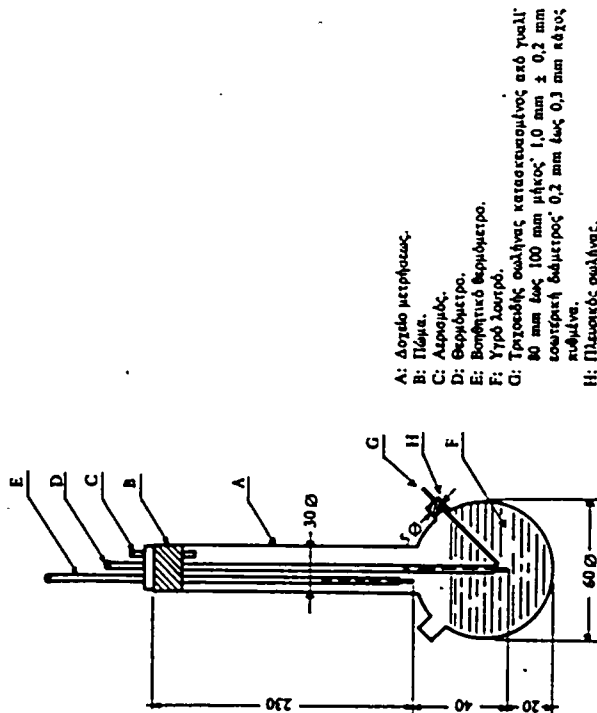
Φάση Ε (τελική φάση τήξεως): Δεν υπάρχουν στερεά σωματίδια.

Κατά τη διάρκεια του προσδιορισμού του σημείου τήξεως, η θερμοκρασία καταγράφεται στην αρχή της τήξεως και στην τελική φάση.

Όργανα σημείου τήξεως με συσκευή υγρού λουτρού

Το σχήμα 2 δείχνει έναν τύπο πρότυπης συσκευής σημείου τήξεως (JIS K 0064), κατασκευασμένης από γυαλί, όλες οι προδιαγραφές σε mm.

Σχήμα 2



Υγρό λουτρό:

Πρέπει να επιλεγεί το κατάλληλο υγρό, σε των κάτω, εξαρτώμενο από το σημείο τήξεως. Υγρή παραφή για σημεία τήξεως ότι ψηλότερα από 473 K, κυκλώ θεικό οξύ ή άλας οξείας για σημεία τήξεως ότι ψηλότερα από 573 K.

- 1.6.2.2. Μικροσκοπιο τήξεως
Βλέπε προσάρτημα.
- 1.6.2.3. Μέθοδος μηνίσκου (κολυμβία)
Βλέπε προσάρτημα.
- Η ταχύτητα θερμάνσεως κατά τη διάρκεια προσδιορισμού του σημείου τήξεως πρέπει να είναι μικρότερη από 1 K/min.
- 1.6.3. Μέθοδοι προσδιορισμών του σημείου πήξεως
Βλέπε προσάρτημα.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Σε μερικές περιπτώσεις είναι αναγκαία μια θερμομετρική διόρθωση.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Πρέπει να δηλώνεται η χρησιμοποιηθείσα μέθοδος.

Το δηλούμενο σημείο τήξεως είναι ο μέσος όρος τουλάχιστον δύο μετρήσεων, που βρίσκονται μέσα στην περιοχή της κατά προσέγγιση ακρίβειας (βλέπε πίνακα). Πρέπει να δηλώνεται μία εκτίμηση της ακρίβειας. Εάν η διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ της αρχικής και τελικής φάσεως της τήξεως βρίσκεται μέσα στα όρια ακρίβειας της μεθόδου, σαν σημείο τήξεως λαμβάνεται η θερμοκρασία της τελικής φάσεως της τήξεως, διαφορετικά δηλώνονται και οι δύο θερμοκρασίες.

Μερικές ουαίες διασκάνται ή εξαχνώνονται πριν από το σημείο τήξεως. Στις περιπτώσεις αυτές, αυτό πρέπει να δηλώνεται.

Πρέπει να δηλώνονται όλες οι πληροφορίες και οι παρατηρήσεις που είναι σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ειδικότερα όσες είναι σχετικές με τις ξένες προσμίξεις και με τη φυσική κατάσταση της ουαίας.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

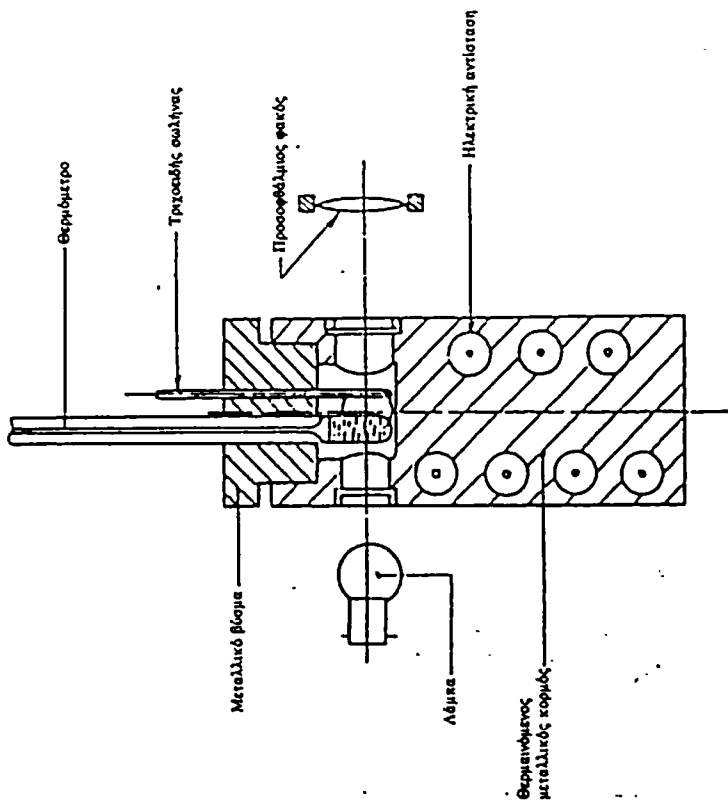
- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 102 — Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) IUPAC, Physicochemical Measurements: Catalogue of Reference Materials from National Laboratories, Pure and Applied Chemistry, Vol. 48, 1976, pp. 505—515.

Προσάρτημα

Τα ακόλουθα πρότυπα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για πρόβες τεχνικές λεπτομέρειες.

- 1. Μέθοδοι τριχοειδούς
- 1.1. Συσκευές σημείου τήξεως με υγρό λουτρό
ASTM E 324-69
Standard Test Method for Relative Initial and Final Melting Points and the Melting Range of Organic Chemicals
US 4634
Method for the Determination of Melting Point and/or Melting Range

Σχήμα 3



Πορεία:
Βλέπε σημείο 1.6.1.1. Στην περίπτωση αυτή δεν γίνεται διόρθωση θερμοκρασίας. Η μετρηθείσα θερμοκρασία δείχνει το σημείο τήξεως.

- 1.6.1.3. Ανίχνευση με φωτοκύτταρο
Συσκευή και πορεία:
Η συσκευή αποτελείται από ένα μεταλλικό βάλανο με αυτόματο σύστημα θερμάνσεως. Τρεις τριχοειδείς σωλήνες περιέχονται σύμφωνα με το σημείο 1.6.1.1 και φέρονται στον κλίβανο.
Πέντε γραμμικές αυξήσεις της θερμοκρασίας απαιτούνται για τη βαθμονόμηση της συσκευής και η κατάλληλη ανώψηση της θερμοκρασίας ρυθμίζεται ηλεκτρικά με υπολογισμένη εκ των προτέρων σταθερή και γραμμική ταχύτητα. Καταγραφές δείχνουν την πραγματική θερμοκρασία του κλίβανου και το σημείο τήξεως της ουαίας στους τριχοειδείς σωλήνες.

- 1.6.2. Θερμής επιφάνειας
- 1.6.2.1. Θερμή επιφάνεια Kofler
Βλέπε προσάρτημα.

Α. 2. ΣΗΜΕΙΟ ΖΕΞΕΩΣ/ΠΕΡΙΟΧΗ ΖΕΞΕΩΣ

DIN 53181	Bestimmung des Schmelzintervalles von Harzen nach Kapillarverfahren		
JIS K 0064	Testing Methods for Melting Point of Chemical Products		
1.2.	Συνεπείς σημεία τήξεως με μεταλλικό κορμό		
DIN 53736	Visuelle Bestimmung der Schmelztemperatur von teilkristallinen Kunststoffen		
ISO 1218 (E)	Plastics — Polyamides — Determination of «Melting Points»		
2.	Θερμής εμφάνεισης		
2.1.	Θερμής επιφάνεια Koffler		
ANSI/ASTM D 3451-76	Standard Recommended Practices for Testing Polymeric Powder Coatings		
2.2.	Μικροσκοπείο τήξεως		
DIN 53736	Visuelle Bestimmung der Schmelztemperatur von teilkristallinen Kunststoffen		
2.3.	Μέθοδος μινίσκου (πολυαμίδας)		
ISO 1218 (E)	Plastics — Polyamides — Determination of «Melting Point»		
ANSI/ASTM D 2133-66	Standard Specification for Acetal Resin Injection Moulding and Extrusion Materials		
NF T 51-050	Résines du Polyamides-Determination du «point de fusion» Méthode du ménisque		
3.	Μέθοδοι προσδιορισμού σημείου πήξεως		
BS 4633	Method for the Determination of Crystallizing Point		
BS 4695	Method for Determination of Melting Point of Petroleum Wax (Cooling Curve)		
DIN 10319	Bestimmung des Gefrierpunktes von Milch		
DIN 51421	Bestimmung des Gefrierpunktes von Flugkraftstoffen, Ottokraftstoffen und Motorenbenzolen		
DIN 51556	Bestimmung des Erstarrungspunktes am rotierenden Thermometer		
DIN 53175	Bestimmung des Erstarrungspunktes von Fettsäuren		
NF T 60-114	Point de fusion des paraffines		

ΜΕΘΟΔΟΣ

Οι μέθοδοι που περιγράφονται βασίζονται στην κατεφώνητηρια δοκιμασία του ΟΟΣΑ (1).

Εισαγωγή

Οι μέθοδοι και τα όργανα που περιγράφονται εδώ εφαρμόζονται σε υγρές ουσίες, εφόσον αυτές δεν υφίστανται χημικές αντιδράσεις κάτω του σημείου ζέσεως (π.χ. αυτο-οξείδωση, ανακατανομή των ατόμων στο μόριο, διάσπαση κλπ.). Οι μέθοδοι εφαρμόζονται σε καθαρές και σε μη καθαρές υγρές ουσίες.

Έμφαση δίνεται στη μέθοδο που χρησιμοποιεί αντίχτυση με φωτοκόκκινο, διότι επιτρέπει τον προσδιορισμό του σημείου τήξεως, καθώς επίσης και του σημείου ζέσεως. Επιπλέον, οι μετρήσεις γίνονται αυτόματα.

Η «δυναμική μέθοδος» παρουσιάζει το πλεονέκτημα ότι μπορεί επίσης να εφαρμοστεί και για τον προσδιορισμό της τάσεως ατμών και ότι δεν είναι ανάγκη να γίνεται διόρθωση της θερμοκρασίας ζέσεως σε κανονική πίεση (101,325 kPa), διότι η κανονική πίεση μπορεί να ρυθμισθεί κατά τη διάρκεια της μετρήσεως. Η μέθοδος όμως αυτή δεν έχει ακόμη αυτοματοποιηθεί.

Παρατηρήσεις

Η επίδραση ξένων προσμίξεων στον προσδιορισμό του σημείου ζέσεως εξαρτάται πολύ από τη φύση της προσμίξεως. Η επίδραση μπορεί να είναι σημαντική, αν στο δείγμα υπάρχει ένας λιαν κητικός διαλύτης.

Η σύνθεση του ερευνημένου δείγματος αλλάζει από μέτρηση σε μέτρηση λόγω εξάτμισης συστατικών με χαμηλό σημείο ζέσεως. Στις περιπτώσεις αυτές λαμβάνονται συνεχώς αυξανόμενες τιμές.

Όργανοι και μονάδες

Σαν κανονική θερμοκρασία ζέσεως ορίζεται η θερμοκρασία στην οποία η πίεση του κεκορεσμένου ατμού ενός υγρού είναι ίση με την κανονική πίεση.

Το μετρούμενο σημείο ζέσεως εξαρτάται από την ατμοσφαιρική πίεση. Η εξάρτηση αυτή περιγράφεται ποσοτικά από την εξίσωση των Clausius — Clapeyron ως ακολούθως:

$$\log p = - \frac{\Delta H_f}{2,3 RT} + \text{σταθερά}$$

όπου:

p = η τάση ατμών της ουσίας σε Pascals,

ΔH_f = η θερμότητα εξάτμισεως σε J mol⁻¹,

R = η παγκόσμια μοριακή σταθερότητα των αερίων = 8,31 J mol⁻¹ K⁻¹,

T = η θερμοκρασία η οποία εκφράζεται σε K.

Η θερμοκρασία στο σημείο ζέσεως (θερμοκρασία ζέσεως) δηλώνεται σε σχέση με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια της μετρήσεως.

Μετατροπή μονάδων:

Πίεση (μονάδες: kPa)

100 kPa = 1 bar = 0,1 MPa (η χρήση της μονάδας «bar» εξακολουθεί να επιτρέπεται αλλά δε συνιστάται)
 133 Pa = 1 mm Hg = 1 Torr (η χρήση των μονάδων «mm Hg» και «Torr» δεν επιτρέπεται).

Θερμοκρασία (μονάδες: K).

$$t = T - 273,15$$

όπου t εκφράζεται σε °C και T σε K.

Ουσίες αναφοράς

Δεν είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς σε όλες τις περιπτώσεις που ερευνάται μια νέα ουσία. Οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για τον έλεγχο της μεθόδου κατά διαστήματα, και για να επιτρέψουν σύγκριση αποτελεσμάτων.

Μερικές ουσίες ελέγχου της μεθόδου αναφέρονται στις μεθόδους του προσαρτήματος.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Όλες οι μέθοδοι προσδιορισμού του σημείου ζέσεως (περιοχής ζέσεως) βασίζονται στη μέτρηση της θερμοκρασίας ζέσεως. Περιγράφονται πέντε μέθοδοι.

1.4.1. Προσδιορισμός με χρήση ζεσσίμετρου (ebullimeter)

Τα ζεσσίμετρα αναπτύχθηκαν αρχικά για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους με τη μέθοδο της ανωψώσας του σημείου ζέσεως, είναι όμως κατάλληλα για ακριβείς μετρήσεις του σημείου ζέσεως. Μια πολύ απλή συσκευή περιγράφεται στο ASTM D 1120-72 (βλέπε προσάρτημα). Το υγρό θερμαίνεται στη συσκευή αυτή, υπό συνθήκες ισορροπίας, στην ατμοσφαιρική πίεση, μέχρι βρασμού.

1.4.2. Δυναμική μέθοδος

Η μέθοδος στηρίζεται στη μέτρηση της θερμοκρασίας επανασημικνώσεως των ατμών με ένα θερμοστοιχείο στην εκκαρπυρή κατά το βρασμό. Σ' αυτή τη μέθοδο η πίεση μπορεί να μεταβληθεί.

1.4.3. Μέθοδος αποστάξεως για σημείο ζέσεως και περιοχή ζέσεως

Η μέθοδος στηρίζεται στην απόσταξη του υγρού, στη μέτρηση της θερμοκρασίας επανασημικνώσεως των ατμών και στον προσδιορισμό του ποσού του αποστάγματος.

1.4.4. Μέθοδος κατά Siwoloboff

Ένα δείγμα θερμαίνεται μέσα σε ένα σωλήνα δείγματος, που είναι εμβακτισμένος σε ένα υγρό, σε ένα θερμόλουτρο. Ένα συντεταγμένο τρισείδας, που κρέμεται στο κατώτατο άκρο μια φουαλίδα αέρα, τοποθετείται μέσα στο σωλήνα δείγματος.

Προσδιορίζεται η θερμοκρασία στην οποία μια κωνική αλυσίδα από φουαλλίδες βγαίνει από το τρισείδας ή η θερμοκρασία στην οποία, σε ατμισία γάλα, η αλυσίδα των φουαλλίδων σταματάει και το υγρό αρχίζει να ανέβαινει στο τρισείδας (Siwoloboff).

1.4.5. Ανίχνευση με φωτοκύτταρο

Ακολουθούντες την αρχή κατά Siwoloboff, εφαρμόζεται αυτόματα φωτοηλεκτρική μέτρηση που χρησιμοποιεί τις ανερχόμενες φουαλλίδες.

Κριτήρια ποιότητας

Το κέλυ εφερισιγής και η ακρίβεια των διαφόρων μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του σημείου ζέσεως/περιοχής ζέσεως αναφέρονται στον πίνακα 1.

Περιγραφή των μεθόδων

Η πειραματική διαδικασία μερικών από τις μεθόδους ελέγχου περιγράφεται σε διεθνή και εθνικά πρότυπα (βλέπε προσάρτημα).

Ζεσσίμετρο

Βλέπε προσάρτημα.

Δυναμική μέθοδος

Βλέπε μέθοδο ελέγχου στο σημείο A.4 για τον προσδιορισμό της τάσεως ατμών. Καταγράφεται η θερμοκρασία ζέσεως που κατατηρείται με εφαρμογή πίεσεως 101,325 kPa.

Μέθοδος αποστάξεως (περιοχή ζέσεως)

Βλέπε προσάρτημα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΩΔΩΝ

Μέθοδος μέτρησης	Ακρίβεια, κατά προσέγγιση	Παρατηρήσεις
Ζεσσίμετρο	± 1,4 K (μέχρι 373 K) (†) (‡) ± 2,5 K (άνω των 373 K) (†) (‡)	Υπότυπον πρότυπο: ASTM D 1120-72 (†)
Δυναμική μέθοδος	± 0,5 K (†)	Υπότυπον πρότυπο: ISO/R 918 DIN 53171 BS 4591/71
Μέθοδος αποστάξεως (περιοχή ζέσεως)	± 0,5 K	
Κατά Siwoloboff	± 1 K μέγιστο ± 2 K (†)	
Ανίχνευση με φωτοκύτταρο	± 0,3 K (στούς 373 K) (†)	

(†) Η ακρίβεια αυτή ισχύει μόνο για απλές συσκευές, π.χ. όπως περιγράφονται στο πρότυπο ASTM D 1120-72 μπορεί να βελτιωθεί με πιο μελετημένες συσκευές ζεσσίμετρων.

(‡) Ισχύει μόνο για καθαρές ουσίες.

Μέθοδος κατά Siwoloboff

Το δείγμα θερμαίνεται σε μια συσκευή σημείου τήξεως, σε ένα σωλήνα δείγματος, διαμέτρου περίπου 5 mm (βλέπε σχήμα 1).

Το σχήμα 1 δείχνει έναν τύπο πρότυπης συσκευής σημείου τήξεως και σημείου ζέσεως (IIS K 0064) (κατασκευασμένης από γυαλί, όλες οι προδιαγραφές σε mm).

Το υγρό λουτρό επιλέγεται σύμφωνα με τη θερμοκρασία ζέσεως. Για θερμοκρασίες μέχρι 373 Κ. μπορεί να χρησιμοποιηθεί θετικό αέριό ή έλαιο αλικόνης. Υγρή παραφίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο μέχρι 473 Κ. Η θέρμανση του υγρού λουτρού πρέπει να ρυθμισθεί με μια άνοδο θερμοκρασίας 3 Κ/min στην αρχή. Το υγρό λουτρό πρέπει να αναδέχεται. Περίπου 10 Κ κάτω από το αναμενόμενο σημείο ζέσεως, η θέρμανση ελαττώνεται τόσο ώστε η άνοδος θερμοκρασίας να είναι μικρότερη από 1 Κ/min. Όταν πλησιάζει η θερμοκρασία ζέσεως αρχίζουν να βγαίνουν φυσαλλίδες από το τριχοειδές ζέσας.

Το σημείο ζέσεως είναι το σημείο εκείνο όταν, σε στιγμή αψή, στερματίζει η αλυσιδα των φυσαλλίδων και ζεφνικά αρχίζει να ανεβαίνει υγρό στο τριχοειδές. Η αντίστοιχη ένδειξη του θερμομέτρου είναι η θερμοκρασία ζέσεως της ουσίας.

Στην τροποποιημένη αρχή (σχήμα 3) το σημείο ζέσεως προοριζόταν σε ένα τριχοειδές σημείου τήξεως. Το τριχοειδές αυτό εκτείνεται σε λεπτό τμήμα μήκους περίπου 2 cm (α) και ροφείται σ' αυτό μικρή ποσότητα του δείγματος. Η ανοικτή άκρη του λεπτού τμήματος κλείνεται διά συντήξεως, έτσι ώστε μια μικρή φυσαλίδα αέρα εγκλωβίζεται στο άκρο. Κατά τη θέρμανση της συσκευής του σημείου τήξεως (β) η φυσαλίδα του αέρα διαστέλλεται. Το σημείο ζέσεως αντιστοιχεί στη θερμοκρασία στην οποία το βόρια της ουσίας ανέρχεται στο επίπεδο της επιφάνειας του υγρού λουτρού (γ).

Λήψανση με φωτοκύτταρο

Το δείγμα θερμαίνεται σε έναν τριχοειδή σωλήνα στο εσωτερικό ενός μεταλλικού κορμού.

Μια δέση φωτός καταδύεται διά μέσου καταλλήλων οκών στον κορμό, μέσω της ουσίας, σ' ένα φωτοκύτταρο βαθμονομημένο με ακρίβεια. Κατά τη διάρκεια της αύξησης της θερμοκρασίας του δείγματος, μεμονωμένες φυσαλλίδες αέρα βγαίνουν από το τριχοειδές ζέσας. Όταν η θερμοκρασία φθάσει τη θερμοκρασία ζέσεως, αυξάνει ο αριθμός των φυσαλλίδων και η έκτασή τους είναι συνετής. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα μία αλλαγή στην ένταση του φωτός, που παρακολουθείται από ένα φωτοκύτταρο και δίνει ένα σήμα στο δίκτυο αναγνώσεως της θερμοκρασίας ενός θερμομέτρου, με αντίσταση από λευκόχρσο, τοποθετημένου στον κορμό.

Η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, διότι επιτρέπει προσδιορισμούς σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τη θερμοκρασία δωματίου, μέχρι 233,15 Κ (- 20 °C) χωρίς μετατροπές στη συσκευή. Αλλά, η συσκευή τοποθετείται σε ένα ψυγρό δωμάτιο ή ψυκτικό λουτρό. Η ακρίβης εκτέλεση του προσδιορισμού του σημείου ζέσεως γίνεται ακολουθώντας τις οδηγίες της συσκευής.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Για μικρές αποκλίσεις από την κανονική πίεση (μέγιστο ± 5 kPa), οι θερμοκρασίες του σημείου ζέσεως ανήνουν στις κανονικές μέσες τιμές T_n διά χρησιμοποίησης της ακόλουθης εξίσωσης αριθμο-τύπων του Sidney Young:

$$T_n = T + f_T \times \Delta p$$

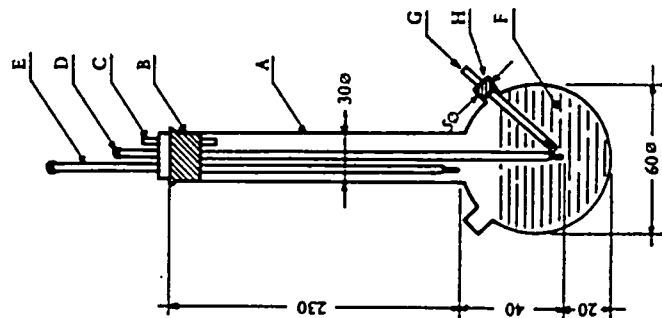
όπου:

$\Delta p = (101,325 - p)$ σημείωση συμβόλου,

$p =$ μέτρηση πίεσεως, σε kPa,

$f_T =$ ταχύτητα μεταβολής του σημείου ζέσεως με την πίεση, σε K/kPa,

Σχήμα 1

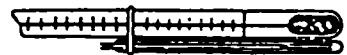


- A: Σωλήνας μετρήσεως.
- B: Πίσω.
- C: Αεραμίδ.
- D: Θερμόμετρο.
- E: Βοηθητικό θερμομέτρο.
- F: Υγρό λουτρό.
- G: Σωλήνας δείγματος: εξωτερική διάμετρος περίπου 5 mm, τριχοειδής σωλήνας, περίπου 100 mm μήκος και κεφαλή 1 mm εσωτερική διάμετρος και περίπου 0,2 μέτρο 0,3 mm πάχος τοιχώματος.
- H: Πλευρικός σωλήνας.

Ένας τριχοειδής σωλήνας (τριχοειδές ζέσας), συντετηγμένος περίπου 1 cm πάνω από το κατώτατο σημείο του, φέρεται μέσα στο σωλήνα δείγματος. Το επίπεδο μέχρι του οποίου προορίζεται η ελεγχόμενη ουσία είναι τίτσο ώστε η συντετηγμένη τομή του τριχοειδούς να είναι κάτω από την επιφάνεια του υγρού. Ο σωλήνας δείγματος που κεράζεται το τριχοειδές ζέσας στερεώνεται είτε πάνω στο θερμομέτρο με έναν ελαστικό σύνδεσμο είτε σε ένα πλευρικό υποστήριγμα (βλέπε σχήμα 2).

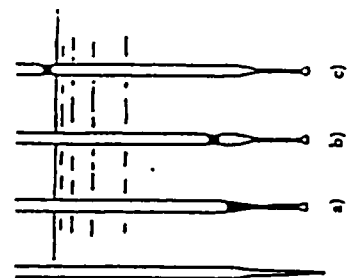
Σχήμα 2

Αρχή κατά Sivoboff



Σχήμα 3

Τροποποιημένη αρχή



2.

2. Μέθοδος αποστάξεως (περιοχή ζεσώς)

ISO/R 918 Test Method for Distillation (Distillation Field and Distillation Range)

BS 4349/68 Method for Determination of Distillation of Petroleum Products

BS 4591/71 Method for the Determination of Distillation Characteristics

DIN 5171 Lösungsmittel für Anstrichstoffe, Bestimmung des Siedeverlaufes

Α. 3. ΣΧΕΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Οι μέθοδοι που περιγράφονται βασίζονται στην καταλυνητήρια δοκιμασία του ΟΟΣΑ (1).

1.1. Εισαγωγή

Οι μέθοδοι για τον προσδιορισμό της σχετικής πυκνότητας που περιγράφονται εδώ εφαρμόζονται σε αεραίες και υγρές ουσίες, χωρίς οποιονδήποτε περιορισμό σχετικά με το βαθμό καθαρότητάς τους. Οι διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται αναφέρονται στον πίνακα 1.

1.2. Ορισμοί και μονάδες

Η σχετική πυκνότητα (D_{20}^{20}) στερεών ή υγρών είναι ο λόγος της μάζας ενός όγκου της ουσίας που εξετάζεται, προσδιορισμένου στους 20 °C, προς τη μάζα ίσου όγκου ύδατος, προσδιορισμένου στους 4 °C. Η σχετική πυκνότητα δεν έχει διαστάσεις.

Η πυκνότητα (ρ) μιας ουσίας είναι το πηλίκον της μάζας της m προς τον όγκο της v .

Η πυκνότητα εκφράζεται σε μονάδες S.I., σε kg/m^3 .

1.3. Ουσίες αναφοράς (1) (2)

Δεν είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς σε όλες τις περιπτώσεις που ερευνώνται νέα ουσία. Οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για τον έλεγχο της μεθόδου κατά διαστήματα, και για να επιτρέψουν σύγκριση αποτελεσμάτων.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Χρησιμοποιούνται τέσσερις μέθοδοι.

1.4.1. Μέθοδοι ανύψωσης

1.4.1.1. Υδρόμετρο (για υγρές ουσίες)

Ικανοποιητική ακρίβεια και γρήγοροι προσδιορισμοί της πυκνότητας επιτυγχάνονται με τα εκκλιόμενα υδρόμετρα, τα οποία επιτρέπουν την εκτίμηση της πυκνότητας ενός υγρού από το βάθος που βυθίζονται και με αντήγωση σε βαθμολογημένη κλίμακα.

T = μετρήσιμη θερμοκρασία ζεσώς, σε K,

T_m = θερμοκρασία ζεσώς διορθωμένη σε κανονική πίεση, σε K.

Οι συντελεστές διορθώσεως της θερμοκρασίας T_m και οι εξισώσεις για τις προσαρτήσεις τους συμπεριλαμβάνονται στα διεθνή και εθνικά πρότυπα που προαναφέρθηκαν για κολλίδες ουσίες.

Η μέθοδος DIN 5171, π.χ., μνημονεύει τις ακόλουθες κατά προέγταση διορθώσεις για διαλύτες που περιλαμβάνονται στα πρότυπα:

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΔΙΟΡΘΩΣΕΩΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ (T_m)

Θερμοκρασία T σε K	Συντελεστής διορθώσεως T _m σε K/Pa
323,15	0,26
348,15	0,28
373,15	0,31
398,15	0,33
423,15	0,35
448,15	0,37
473,15	0,39
498,15	0,41
523,15	0,44
548,15	0,45
573,15	0,47

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Πρέπει να δίδονται η χρησιμοποιηθείσα μέθοδος. Το αναφερόμενο σημείο ζεσώς είναι η μέση τιμή τουλάχιστον δύο μετρήσεων, οι οποίες βρίσκονται στην περιοχή της κατά προέγταση ακρίβειας, και αναφέρονται στον πίνακα 1. Εάν οι προσδιορισμοί δεν είναι ανακαταγόμενοι, πρέπει να εφαρμόζονται άλλες μέθοδοι.

Τα μετρήσιμα σημεία ζεσώς και η μέση τιμή τους πρέπει να δηλώνονται και η πίεση (πίεσεις) στις οποίες έγιναν οι μετρήσεις πρέπει να αναφέρονται σε kPa.

Η πίεση πρέπει να είναι κατά προτίμηση κοντά στην κανονική πίεση. Αν μια ελεγχόμενη ουσία βράζει σε περιοχή ζεσώς, αυτή η περιοχή πρέπει να υποδεικνύεται. Πρέπει να αναφέρονται εκτιμήσεις της ακρίβειας όλων των αποτελεσμάτων.

Πρέπει να αναφέρονται όλες οι πληροφορίες και παρατηρήσεις για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ειδικά σε ό,τι αναφέρεται στις ξένες προσμίξεις και στη φυσική κατάσταση της ουσίας.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 103 — Decision of the Council (C(81) 30 final.

Προσάρτημα

Τα ακόλουθα πρότυπα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για πρόσθετες τεχνικές λεπτομέρειες:

1. Ζεστοσκόπιο

ASTM D 1120-72 Standard Test Method for Boiling Point of Engine Anti-freezes

3.

1.4.1.2. Υδροστατικός ζυγός (για υγρά και στερεές ουσίες)

Η διαφορά μεταξύ του βάρους ενός ελεγχόμενου δείγματος, μετρούμενου στον αέρα και στο νερό, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της πυκνότητάς του. Για στερεά, η μετρούμενη πυκνότητα είναι μόνο αντιπροσωπευτική του συγκεκριμένου δείγματος που χρησιμοποιείται, για τον προσδιορισμό της πυκνότητας υγρών, ένα σώμα γνωστού όγκου υ ζυγίζεται πρώτα στον αέρα και μετά στο υγρό.

1.4.1.3. Μέθοδος βυθιζόμενης σφαίρας (για υγρά ουσίες) (3)

Με τη μέθοδο αυτή, η πυκνότητα ενός υγρού προσδιορίζεται από τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων του ζυγαριάζου του υγρού πριν και μετά το βράκτιο μιας σφαίρας γνωστού όγκου στο ελεγχόμενο υγρό.

1.4.2. Μέθοδος πυκνόμετρου

Για στερεά ή υγρά μπορούν να χρησιμοποιηθούν πυκνόμετρα διαφόρων σχημάτων με γνωστός όγκος. Η πυκνότητα υπολογίζεται από τη διαφορά βάρους του γεμάτου και του άδειου πυκνόμετρου και από το γνωστό όγκο του.

1.4.3. Συγκριτικά πυκνόμετρα αέρα (για στερεά)

Η πυκνότητα ενός στερεού, οποιασδήποτε μορφής, μπορεί να μετρηθεί στη θερμοκρασία του δωματίου με το συγκριτικό πυκνόμετρο αέρα. Ο όγκος μιας ουσίας μετρείται στον αέρα, ή σε ένα αδρανές αέριο, σε έναν κώνο μεταβατικού βαθμονομημένου όγκου. Για τον υπολογισμό της πυκνότητας γίνεται μια μέτρηση μάζας, αφού πρώτα γίνει η μέτρηση του όγκου.

1.4.4. Πυκνόμετρο ταλαντώσεως (4) (3) (6)

Η πυκνότητα ενός υγρού μπορεί να μετρηθεί με ένα πυκνόμετρο ταλαντώσεως. Ένας μηχανικός ταλαντωτής, σε σχήμα U-ωαλίνα, δονείται με μια ελαστική συχνότητα, που εξαρτάται από τη μάζα του ταλαντωτή. Η εισαγωγή ενός δείγματος αλλάζει τη συχνότητα συντονισμού του ταλαντωτή. Η ουσική πρέπει να βαθμονομηθεί με δύο υγρά ουσίες που έχουν γνωστές πυκνότητες. Αυτές οι ουσίες εκλύονται κατά προσέγγιση έτσι ώστε οι πυκνότητές τους να καλύπτουν την περιοχή που πρόκειται να μετρηθεί.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Το παθίο εφαρμογής των διαφόρων μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της σχετικής πυκνότητας αναφέρεται στον πίνακα.

Η ειρφέα που περιλαμβάνεται στο πρότυπο του ISO αναφέρεται μόνο σε καθαρές ουσίες.

1.6. Περιγραφή των μεθόδων

Τα πρότυπα που δίνονται σαν παραδείγματα, και που πρέπει να χρησιμοποιούνται για πρόσθετες τεχνικές λεπτομέρειες, αναφέρονται στο κροσέρισμα.

Οι έλεγχοι πρέπει να εκτελούνται στους 20 °C με διελεγμένη τουλάχιστον δύο μετρήσεων.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Βλέπε πρότυπα.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Η χρησιμοποιούμενη μέθοδος/πρότυπο πρέπει να αναφέρεται.

Η σχετική πυκνότητα D₂₀ πρέπει να αναφέρεται, όπως ορίζεται στο σημείο 1.2, μαζί με τη φυσική κατάσταση της μετρούμενης ουσίας.

Πρέπει να αναφέρονται όλες οι πληροφορίες και παρατηρήσεις για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ειδικά σε ό,τι αναφέρεται στις ζώνες προοιμίξης και στη φυσική κατάσταση της ουσίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ: ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΩΝ ΜΕΘΩΔΩΝ

Μέθοδος μέτρησης	Πυκνότητα		Μέγιστο δυνατό δυναμικό έδαφος	Παρατηρήσεις
	στερεά	υγρά		
1.4.1.1. Υδρόμετρο		X	5 Pa s	ISO 387 ISO/R 649
1.4.1.2. Υδροστατικός ζυγός:	α) στερεά	X		ISO/R 1185 (A) ISO/R 91 και R 738
	β) υγρά		5 Pa s	
1.4.1.3. Μέθοδος βυθιζόμενης σφαίρας		X	20 Pa s	DIN 53217
1.4.2. Πυκνόμετρο:	α) στερεά			ISO/R 3507 ISO/R 1183 (B) ISO/R 738
	β) υγρά	X	500 Pa s	
1.4.3. Συγκριτικό πυκνόμετρο αέρα		X		DIN 53990 — Teil 3 DIN 53243
1.4.4. Πυκνόμετρο ταλαντώσεως		X	5 Pa s	

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 109 — Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) IUPAC, Recommended reference materials for realisation of physico-chemical Properties. — In: Pure and Applied Chemistry, Vol. 48, 1976, p. 508.
- (3) Wagener, H., Die Tauchregel zur Bestimmung der Dichte von Flüssigkeiten, Technisches Messen (m, Vol. 11, 1979, pp. 437—430.
- (4) Leopold H., Die digitale Messung von Flüssigkeiten, Elektroakt, Vol. 19, 1970, pp. 297—302.
- (5) Baumgarten, D., Füllmengenkontrolle bei verspechten Erzeugnissen-Verfahren zur Dichtebestimmung bei flüssigen Produkten und ihre praktische Anwendung. Die Pharmazeutische Industrie, Vol. 37, 1973, pp. 717—726.
- (6) Riemann, J., Der Einsatz der digitalen Dichtemessung im Brauereilaboratorium. Brauwissenschaft, Vol. 9, 1976, pp. 253—255.

4.

<i>Προσάρτημα</i>	
1.1.1.	<p>Μέθοδος ενδέσσης</p> <p>Υδρόμετρο</p> <p>DIN 12790 Hydrometer; general instructions</p> <p>ISO 387</p> <p>DIN 12791 Part I: Density hydrometers; construction, adjustment and use</p> <p>ISO/R 649 Part II: Density hydrometers; standardised sizes, designation</p> <p>DIN 12793 Laboratory glassware: range find hydrometers</p> <p>Υδροστατικός ζυγός</p> <p>Για στερεές ουσίες:</p> <p>ISO R 1183 Method A. Methods for determining the density and relative density of plastics excluding cellular plastics</p> <p>ASTM-D-792 Specific Gravity and Density of Plastics by Displacement</p> <p>DIN 53479 Testing of plastics and elastomers; determination of density</p> <p>Για υγρές ουσίες:</p> <p>ISO R 91</p> <p>DIN 51757 Testing of mineral oils and related materials; determination of density</p> <p>ASTM D 941 — 55, ASTM D 1296 — 67 και ASTM D 1481 — 62</p> <p>ASTM D 1298 Density, specific gravity or API gravity of crude petroleum and liquid petroleum products by hydrometer method</p> <p>BS 4714 Density, specific gravity or API gravity of crude petroleum and liquid petroleum products by hydrometer method</p> <p>Μέθοδος βυθίζουσας σφαίρας</p> <p>DIN 53217 Testing of paints, varnishes and similar products; determination of density by pycnometer (Enlargement for immersed ball method to be published in 1981)</p> <p>2. Μέθοδος κυρομέτρου</p> <p>Για υγρές ουσίες</p>
1.1.	<p>Πυκνωτές</p> <p>Liquid chemical products; determination of density at 20 °C.</p> <p>DIN 12797 Gay-Lussac pycnometer (for non-volatile liquids which are not too viscous)</p> <p>DIN 12798 Lipkin pycnometer (for liquids with a kinematic viscosity of less than 100·10⁻⁶m²·s⁻¹ at 15 °C)</p> <p>DIN 12800 Sprengel pycnometer (for liquids as DIN 12798)</p> <p>DIN 12801 Reichauer pycnometer (for liquids with a kinematic viscosity of less than 100·10⁻⁶m²·s⁻¹ at 20 °C, applicable in particular also to hydrocarbons and aqueous solutions as well as to liquids with higher vapour pressure, approximately 1 bar at 90 °C)</p> <p>DIN 12806 Hubbard pycnometer (for viscous liquids of all types which do not have a too high vapour pressure, in particular also for paints, varnishes and bitumen)</p> <p>DIN 12807 Bingham pycnometer (for liquids, as in DIN 12801)</p> <p>DIN 12808 Jaulmes pycnometer (in particular for ethanol-water mixture)</p> <p>DIN 12809 Pycnometer with ground-in thermometer and capillary side tube (for liquids which are not too viscous)</p> <p>DIN 53217 Testing of paints, varnishes and similar products; determination of density by pycnometer</p> <p>DIN 51757 Point 7: Testing of mineral oils and related materials; determination of density</p> <p>ASTM D 297 Section 15: Rubber Products-Chemical Analysis</p> <p>ASTM D 2111 Method C: Halogenated organic compounds</p> <p>BS 4699 Method for determination of specific gravity and density of petroleum products (graduated bicapillary pycnometer method)</p> <p>BS 5903 Method for determination of relative density and density of petroleum products by the capillary-stoppered pycnometer method</p> <p>Για στερεές ουσίες</p> <p>2.2. ISO/R 1183 Method B. Methods for determining the density and relative density of plastics excluding cellular plastics</p> <p>DIN 19683 Determination of the density of soils</p> <p>3. Ευγενικό κυρομέτρο σίφης</p> <p>DIN 55990 Part 3: Prüfung von Anstrichstoffen und ähnlichen Beschichtungstoffen; Pulverlack; Bestimmung der Dichte</p> <p>DIN 53243 Anstrichstoffe; Chlorhaltige Polymere; Prüfung</p> <p style="text-align: center;">Α. 4. ΤΑΣΗ ΑΤΜΩΝ</p> <p>1. Μέθοδος</p> <p>Οι μέθοδοι που περιγράφονται βασίζονται στην κατασκευημένη δοκιμασία του ΟΟΣΑ (1).</p> <p>1.1. Εισαγωγή</p>

Τα ακόλουθα πρότυπα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για πρόσθετες τεχνικές πληροφορίες:

- Είναι χρήσιμο, για την εκτέλεση του ελέγχου αυτού, να έχουμε προκαταρκτικές πληροφορίες για τη δομή, το σημείο τήξεως και το σημείο ζέσεως της ουσίας.
- Δεν υπάρχει απλή κεραιματική διαδικασία μετρήσεως εφαρμοσμένη σε όλη την περιοχή των τάσεων ατμών. Συνεπώς, αρκετές μέθοδοι συνιστώνται σαν κατάλληλες για τη μέτρηση τάσεως ατμών από $<10^{-1}$ Pa μέχρι 10^3 Pa.
- Οι ξένες προσμίξεις επηρεάζουν συνήθως την τάση ατμών. Η επίδραση των ξένων προσμείξεων στον προσδιορισμό της τάσεως ατμών εξαρτάται πολύ από τη φύση της ξένης προσμείξεως. Η επίδραση μπορεί να είναι σημαντική αν στο δείγμα υπάρχει ένας ξένος κτητικός διαλύτης.
- 1.2. Οργανοί και μονάδες**
- Σαν τάση ατμών μιας ουσίας ορίζεται η κεκορεσμένη πίεση πάνω από μια στερεή ή υγρή ουσία. Στη θερμοδυναμική ισορροπία, η τάση ατμών μιας καθαρής ουσίας είναι συνάρτηση μόνο της θερμοκρασίας.
- Η μονάδα πίεσεως SI που πρέπει να χρησιμοποιείται είναι το Pascal (Newton/m²).
- Μονάδες που έχουν χρησιμοποιηθεί ιστορικά, μαζί με τους συντελεστές μετατροπής τους, είναι:
- 1 Torr (mm Hg) = $1,333 \times 10^2$ Pa
- 1 Ατμόσφαιρα (φυσική ατμόσφαιρα) = $1,013 \times 10^5$ Pa
- 1 Ατμόσφαιρα (τεχνική ατμόσφαιρα) = $9,81 \times 10^4$ Pa
- 1 Bar = 10^5 Pa
- Η μονάδα θερμοκρασίας SI είναι ο βαθμός Kelvin (K).
- 1.3. Ουσίες αναφοράς**
- Δεν είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάζονται μία νέα ουσία. Οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για τον έλεγχο της μεθόδου κατά διαστήματα, και για να δίνουν τη δυνατότητα για τη σύγκριση αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται μία άλλη μέθοδος.
- 1.4. Αρχή της μεθόδου**
- Για τον προσδιορισμό της τάσεως ατμών προτιμώνται κίνετοί μέθοδοι, που μπορούν να εφαρμοστούν σε διαφορετικές περιπτώσεις τάσεως ατμών. Για κάθε μέθοδο, η τάση ατμών προσδιορίζεται σε διάφορες θερμοκρασίες. Σε μια περιφεριακή περιοχή θερμοκρασίας, ο λογάριθμος της τάσεως ατμών μιας καθαρής ουσίας είναι γραμμική συνάρτηση του αντίστροφου της θερμοκρασίας.
- 1.4.1. Δυναμική μέθοδος**
- Στη δυναμική μέθοδο, μετράται η θερμοκρασία ζέσεως που αντιστοιχεί σε μια καθορισμένη πίεση. Συνιστώμενη περιοχή:
- 10^3 Pa μέχρι 10^5 Pa, μεταξύ 20°C και 100°C .
- Η μέθοδος αυτή είναι επίσης υποδειχθεί σαν κατάλληλη για τον προσδιορισμό του σημείου ζέσεως και είναι χρήσιμη για το σκοπό αυτό μέχρι 350°C .
- 1.4.2. Στατική μέθοδος**
- Κατά τη στατική διαδικασία, σε θερμοδυναμική ισορροπία, η τάση ατμών, που αποκαθίσταται σε ένα κλειστό σύστημα, προσδιορίζεται σε μια καθορισμένη θερμοκρασία.
- Η μέθοδος αυτή είναι κατάλληλη για στερεά και υγρά αποτελούμενα από ένα ουσιαστικό και από πολλά ουσιαστικά.
- Συνιστώμενη περιοχή:
- 10^3 Pa μέχρι 10^5 Pa, μεταξύ 0°C και 100°C .
- 1.4.3. Ισοτεχνισκόπιο**
- Η πρότυπη αυτή μέθοδος είναι, επίσης, στατική μέθοδος, αλλά συνήθως δεν είναι κατάλληλη για ουσίες με πολλά ουσιαστικά. Πρόδοτες πληροφορίες αναφέρονται στη μέθοδο ASTM D-2879-73.
- Συνιστώμενη περιοχή:
- από 100 Pa μέχρι 10^5 Pa, μεταξύ 0°C και 100°C .
- 1.4.4. Ζυγός τάσεως ατμών**
- Προσδιορίζεται η ποσότητα μιας ουσίας που βγαίνει από μία κυψέλη, στη μονάδα του χρόνου, από ένα άνογμα γνωστού μεγέθους, υπό συνθήκες κενού, έτσι ώστε η επιστροφή της ουσίας στην κυψέλη να είναι αμελητέα (π.χ. με μέτρηση του καλμού που παράγεται σε έναν σωληνοφόρο από μία ακτίνια ατμού ή με μέτρηση της απώλειας βάρους).
- Συνιστώμενη περιοχή:
- 10^{-1} Pa μέχρι 1 Pa, μεταξύ 0°C και 100°C .
- 1.4.5. Μέθοδος κεκορεσμένου αερίου**
- Ένα ρέμα αερανούς αερίου φορέα διαβιβάζεται πάνω από την ουσία, κατά τρόπο ώστε να γίνεται κεκορεσμένο από τους ατμούς της και στη συνέχεια οι ατμοί συλλέγονται σε μία κατάλληλη κυψέλη. Η μέτρηση της ποσότητας της ουσίας που μεταφέρθηκε από γνωστή ποσότητα αερίου φορέα χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της τάσεως ατμών σε δεδομένη θερμοκρασία.
- Συνιστώμενη περιοχή:
- μέχρι 1 Pa.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας**
- Οι διάφορες μέθοδοι προσδιορισμού της τάσεως ατμών συγκρίνονται σχετικά με το πεδίο εφαρμογής τους, την επαναληψιμότητα, την αναπαραγωγιμότητα, την ακρίβεια της μετρήσεως, το υπόγειο πρόβλημα, στον εκδούλο πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ: ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Μέθοδος μετρήσεως	Ουσίες		Εκτιμώμενη επαναληπτική μόντιση (%)	Εκτιμώμενη αναπαραγωγική μόντιση (%)	Συνιστώμενη κερύση	Υπόδειγμα πρότυπο
	στερεές	υγρά				
1.4.1. Δυναμική μέθοδος		X	μέχρι 25 %	μέχρι 25 %	10 ³ Pa μέχρι 2·10 ⁴ Pa 2·10 ⁴ Pa μέχρι 10 ⁵ Pa	—
1.4.2. Στατική μέθοδος	X	X	5—10 %	1—5 %	10 Pa μέχρι 10 ⁵ Pa	—
1.4.3. Ισοθενοκόκκιο	X	X	5—10 %	5—10 %	10 ³ Pa μέχρι 10 ⁵ Pa	ASTM-D 2879-75
1.4.4. Ζυγός τάσεως ατμών	X	X	5—20 %	μέχρι 50 %	10 ⁻¹ Pa μέχρι 1 Pa	—
1.4.5. Μέθοδος κεκορεσμένου αερίου	X	X	10—30 %	μέχρι 50 %	< 10 ⁻¹ Pa μέχρι 1 Pa	—

(1) Εξαρτάται από τον βαθμό καθαρότητας.

1.6. Πιετροσφή της μεθόδου

1.6.1. Δυναμική μέτρηση

1.6.1.1. Συσκευή

Η περιμετρική συσκευή συντάσσεται τυπικά από ένα δοχείο ζέσεως με ψυκτήρα από γυαλί ή μέταλλο (σχήμα 1), εξάρτημα για ρύθμιση της θερμοκρασίας και εξάρτημα για ρύθμιση και μέτρηση της πίεσεως. Μία τυπική συσκευή μετρήσεως εικονιζόμενη στο σχέδιο είναι κατασκευασμένη από πυρίμαχο γυαλί και αποτελείται από 5 τμήματα.

Ο μεγάλος, μερικά δευλιότομος, σωλήνας αποστέλλεται από μία συμμοσμένη βαλβίδα, έναν ψυκτήρα, ένα δοχείο φύξεως και μία εισαγωγή.

Ο γυάλινος κύλινδρος, με μία αντλία Coitrell, βράσκειται στο τμήμα ζέσεως του σωλήνα και έχει τραχεία επάνω από τμήματα γυαλιού, προς αποφυγή εκτινιζέων κατά τη διάρκεια του θρασμού.

Η θερμοκρασία μετρείται με ένα θερμοστοιχείο ή ένα θερμομέτρο αντιστάσεως, που είναι ρυθμιζόμενο σε μικρή ποσότητα λαδιού. Εισάγεται στο σωλήνα φορτίσεως, που φέρει πρασνική συμμοσμένη σύνδεση και είναι κλειστός στον πυθμένα.

Ο σταυρός χρησιμοποιείται για τις αναγκαίες συνδέσεις με το εξάρτημα ρυθμίσεως και μετρήσεως της πίεσεως.

Η βαλβίδα, που παίζει το ρόλο ρυθμιστή του όγκου, συνδέεται με τη συσκευή μετρήσεως με τη βοήθεια ενός τρισευδούς σωλήνα.

Ένας θερμομονώδης, που εισάγεται στη γυάλινη συσκευή εξωτερικά, από κάτω, χρησιμεύει για τη θέρμανση του δοχείου ζέσεως. Το επιθυμητό ρεάμα θερμάνσεως ρυθμίζεται με τη βοήθεια ενός μετασχηματιστή που ρυθμίζει την τάση και ελέγχεται από ένα αμπερόμετρο.

Μία αντλία λαδιού χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση του επιθυμητού κενού μεταξύ 10³ Pa και 10⁵ Pa κενού.

Ένας κύλινδρος αζώτου χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση της επιθυμητής πίεσεως και συνδέεται μέσω μιας βαλβίδας, που χρησιμεύει επίσης για αεριομό της συσκευής.

Μία βαλβίδα πίεσεως αερίφθιας, που συνδέεται με το σταυρό, χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της πίεσεως.

Πορεία μετρήσεως

1.6.1.2.

Η τάση ατμών μετρείται διά προσδιορισμού του σημείου ζέσεως του δείγματος σε διάφορες καθορισμένες πιέσεις μεταξύ 10³ Pa κενού και 10⁵ Pa. Μία σταθερή θερμοκρασία, υπό σταθερή πίεση, δείχνει ότι έχει αποκατασταθεί το σημείο ζέσεως (ισορροπία ζέσεως στην περίκλιση μείγματος). Αφίερατες ουσίες δεν μπορούν να μετρηθούν με τη μέθοδο αυτή.

Για να εφαρμοστεί η μέθοδος, όλα τα γυάλινα τμήματα καθαρίζονται πρώτα σχολαστικά, ξηραίνονται και δημοιωφρείται κενό με αντλία αερίου. Εισάγεται ακολούθως η ουσία στη συσκευή. Εάν χρησιμοποιούνται στερεές ουσίες, που δεν έχουν τη μορφή σκόνης, μπορεί να δημιουργηθούν προβλήματα κατά την κλήρωση, αλλά μπορεί να κυκλοφορήσουν μέσα στη συσκευή διά θερμάνσεως του ψυκτήρα. Μετά την κλήρωση, σταθεροποιείται η συσκευή και απερατώνεται η ουσία. Ρυθμίζεται η χειριρύτερη επιθυμητή πίεση και τίθεται σε λειτουργία το σύστημα θερμάνσεως. Ταυτόχρονα, το θερμοστοιχείο ή το θερμομέτρο αντιστάσεως συνδέεται με έναν καταγραφέα. Η ισορροπία έχει επιτευχθεί όταν αποκατασταθεί σταθερή θερμοκρασία ζέσεως υπό σταθερή δοσέα πίεση. Μετά την καταγραφή του σημείου αυτού ισορροπίας, ρυθμίζεται ψηλότερη πίεση. Συνεχίζεται η διαδικασία κατά τον ίδιο τρόπο μέχρις ότου η πίεση φθάσει τα 10⁵ Pa (συνολικά λαμβάνονται 5 έως 10 σημεία μετρήσεως). Για έλεγχο, επαναλαμβάνονται τα σημεία ισορροπίας σε ελαττωμένους πιέσεις.

Στατική μέτρηση

Συσκευή

1.6.2.

1.6.2.1.

Μία τυπική συσκευή μετρήσεως (βλέπε σχήμα 2) περιλαμβάνει ένα θερμομετρικό και ένα ψυκτικό σύστημα, κατασκευασμένα από γυαλί και μέταλλο, που χρησιμοποιούν για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας του δείγματος, καθώς και εξάρτημα για τη ρύθμιση και μέτρηση της πίεσεως και της θερμοκρασίας.

Ο θάλαμος του δείγματος έχει από το ένα μέρος μια βαλβίδα υγρού κενού από ανοξείδωτο χάλυβα και από το άλλο μέρος ένα σωλήνα-U, που φέρει κατάλληλο μανομετρικό υγρό. Το άλλο άκρο του σωλήνα-U καταλήγει σε σύνδεση με σχήμα σταυρού, ο ένας κλάδος του οποίου οδηγεί στην αντλία κενού, ο άλλος σε κύλινδρο αζώτου και ο τρίτος στη βαλβίδα πίεσεως.

Για τη θέρμανση της ουσίας σε ορισμένη ρυθμιζόμενη θερμοκρασία, ολόκληρος ο θάλαμος του δείγματος, μαζί με τη στροφή της βαλβίδας και ένα αρκετά μεγάλο τμήμα του σωλήνα-U (για πρακτικούς λόγους, μέχρι το ύψος της στροφής της βαλβίδας), τοποθετείται σε κατάλληλο λουτρό σταθερής θερμοκρασίας. Η θερμοκρασία μετρείται με τη βοήθεια θερμοστοιχείου ή θερμομέτρου αντιστάσεως που βρίσκεται πολύ κοντά στην εξωτερική επιφάνεια του θαλάμου του δείγματος και μπορεί να καταγράφεται.

Για την υπέρψξη του δείγματος χρησιμοποιείται υγρό αζώτο ή μέγιστο ξηρού πάγου και αλκοόλης. Για τη μέτρηση χειρικών θερμοκρασιών χρησιμοποιείται ειδικό υπερκροστατικό όργανο.

Για την εκτέλεση της συσκευής μέχρι την επιθυμητή πίεση χρησιμοποιείται κατάλληλη αντλία.

Η τάση ατμών μιας ουσίας μετρείται συνήθως έμμεσα με χρησιμοποίηση ενός δείκτη μηδενός. Αυτός ο δείκτης μηδενός μπορεί να είναι ένας σωλήνας-U, που φέρει κάποιο υγρό όποιος καθορίζεται παρακάτω, ή, μεταξύ άλλων, ένα μανομετρο μεμβράνης. Η τάση των ατμών μετακινεί το υγρό στο σωλήνα-U μέσα από τη θέση ισορροπίας, σε λουτρό ρυθμιζόμενης θερμοκρασίας. Τότε διαβάζεται άζωτο στη συσκευή από ένα συνδέσιμο κύλινδρο αζώτου, διά μέσου βαλβίδας, για την αντιστάθμιση του αποκαταστασθέντος της τάσεως ατμών και επαναφορά της βαλβίδας πίεσεως στο μηδέν. Η ακριβέστερη για σκοπό αυτό πίεση αζώτου διαβάζεται σε έναν ακριβή μετρητή πίεσεως, που βρίσκεται στη θερμοκρασία

ται εδώ δείχνει τις αρχές λειτουργίας. Μερικά από τα εξαρτήματα εικονίζονται στο σχήμα 4. Είναι ο βασικός δίσκος και ο βολατός κώδικας, μία αντλία με ένα όργανο μέτρησης κενού και εξαρτήματα για τη μέτρηση της τάσεως ατμών με απόκλιση ενός δείκτη.

Τα ακόλουθα εξαρτήματα στερεώνονται στη βασική κλάκα:

- Ένας φούρνος εξάτμισης με δακτύλιο στεγανότητας και περιστροφική κλήρωση. Ο φούρνος εξάτμισης είναι ένα πεπλατυσμένο, κυλινδρικό χάλκινο δοχείο μήκους επίσης να κατασκευαστεί από γυαλί με χάλκινο τοίχωμα). Είναι τοποθετημένος πάνω σε μία χάλκινη βάση, η οποία είναι βιδωμένη πάνω σε ένα κομμάτι από ανοξείδωτο χάλυβα στην καλύτερη προσέγγιση ακμής του. Το κομμάτι αυτό του ανοξείδωτου χάλυβα είναι στερωμένο στη βασική κλάκα με ένα δακτύλιο στεγανότητας, κατά τρόπο ώστε να μπορεί να περιστρέφεται γύρω από τον άξονα του φούρνου. Η βιδωμένη γίνεται με ένα θερμαντικό πηνίο, τοποθετημένο στο εσωτερικό του κομματιού από ανοξείδωτο χάλυβα και είναι κατ' αυτό τον τρόπο στεγανοποιημένο από το βάλαιο κενού.
- Το κάλυμμα του φούρνου είναι κατασκευασμένο από χάλκο και φέρει τρία ανοίγματα εξάτμισης, διαφορικών τομών, τοποθετημένα σε 90 μοίρες προς άλλους. Κάθε ένα φούρνος κλεισιέται, το εκβιβάει άνοιγμα του φούρνου ή μία ενδιάμεση θέση μπορούν να τοποθετηθούν κάτω από τη σιμπίλη στον ψυκτήρα, που είναι τοποθετημένος έκκεντρα ως προς το φούρνο, οδηγώντας έτσι τη μοριακή δέσμη στη φέλλα του ζυγού ή εκτρέποντάς την. Πάνω στο τοίχωμα του φούρνου είναι στερεωμένο ένα θερμολογείο ή ένα θερμόμετρο αντιστάσεως για τη μέτρηση της θερμοκρασίας.
- Ο ζυγός είναι ένα όργανο με κινούμενο πηνίο. Ο δείκτης έχει αντικατασταθεί από ένα μικρό σωλήνα, πάνω στον οποίο είναι στερωμένο η δέσμη του ζυγού και η αντιστάθιση. Η δέσμη του ζυγού έχει μία αντικαταστάσιμη φέλλα, κατασκευασμένη από λεπτό κομμάτι αργύρου επιστρωμένο με φύλλο χρυσού. Στο κέντρο περίπου της δέσμης της δέσμης του ζυγού είναι στερωμένο ένα σύρμα constantan, πάχους 0,1 mm, πάνω στο οποίο μπορούν να σταθούν βήρη βαθμονομήσεως. Η τάση ατμών μπορεί να καταγραφεί με χρησιμοποιήση ενός φωτοηλεκτρικού οργάνου μηδενικής ενδείξεως.
- Ένα κυλινδρικό ορειχάλκινο δοχείο περιβάλλει από παντού τη φέλλα του ζυγού, εκτός των δύο σχισμών για την κίνηση της δέσμης του ζυγού και ενός στενού ανοίγματος για την είσοδο της μοριακής δέσμης. Διαφανή θερμότητας προς τα έξω επιτυγχάνεται με μία ράβδο χάλκου στην κορυφή του ορειχάλκινου δοχείου, με τη βοήθεια ενός σωλήνα από ανοξείδωτο χάλυβα, μέσω της βασικής κλάκας και είναι θερμικά μονωμένη από αυτή. Η ράβδος είναι βυθισμένη σε ένα δοχείο Dewar, που περιέχει υγρό άζωτο και βρλασεται κάτω από τη βασική κλάκα.

Πορεία μετρήσεως

Γεμίζεται ο χάλκινος φούρνος με την ουσία, κλείνεται το κάλυμμα και το άνοιγμα της κλάκας, η θέρμανση και ο ψυκτήρας τοποθετούνται πάνω στο φούρνο. Συνεχολογείται ο κώδικας και αρχίζουν να λειτουργούν οι εντάτες κενού. Η τελική θέση πριν αρχίσει η μέτρηση είναι 19-4 Pa περίπου. Από 10-3 Pa και κάτω μπαίνει σε λειτουργία η ψύξη του ψυκτικού θαλάμου.

Μετά πάροδο ορισμένου χρόνου, ο ζυγός έχει φθάσει σε αρκετά χαμηλή θερμοκρασία, έτσι ώστε η εκφυλούσα ακτίνια ατμών μπορεί να συμπυκνωθεί πάνω στη φέλλα. Η συμπύκνωση αυτή προκαλεί ένα σήμα στον συνδεδεμένο καταγραφέα. Το σήμα αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατά δύο τρόπους: στην περίπτωση της συγκεκριμένης συσκευής που περιγράφεται εδώ, η τάση ατμών προσδιορίζεται ακριβώς από την κλίση στη φέλλα της κλίμακας (η μοριακή μάζα δε χρειάζεται). Ταυτόχρονα, προσδιορίζεται η μάζα που συμπυκνώνεται και επομένως η ταχύτητα εξάτμισης μπορεί να υπολογιστεί από το χρόνο επικαθίσσεως. Το τελευταίο αυτό ισχύει για πιο γενικές συσκευές. Η τάση ατμών μπορεί, επίσης, να υπολογιστεί από την ταχύτητα εξάτμισεως και τη μοριακή μάζα, χρησιμοποιώντας την εξίσωση Herz.

$$P = C \sqrt{\frac{2 \pi RT \times 10^3}{M}}$$

όπου:

- C = ταχύτητα εξάτμισεως (g/s·m²),
- M = μοριακή μάζα (g/mol),
- T = θερμοκρασία (K),
- R = παγκόσμια μοριακή σταθερά αερίων (J/mol·K).

1.6.2.2.

Πορεία μετρήσεως

Πριν από τη μέτρηση, όλα τα μέρη της συσκευής του σχήματος 2 καθαρίζονται προσεκτικά με διαλύτες και μετά ξηραίνονται υπό κενό. Στη συνέχεια ο σωλήνας-U γεμίζεται με το επιθυμητό υγρό, που πρέπει να έχει επαρκώς σε ανωψωμένη θερμοκρασία πριν από το γέμισμα.

Μετά το γέμισμα με την ουσία, συνεχολογείται η πλήρης συσκευή και ο θάλαμος του δέγματος υπερψύχεται αρκετά. Κατόπιν, με τη βοήθεια ανοιχτή πάνω από το βάλαιο του δέγματος, αφαιρείται ο αέρας με την αντλία επί αρκετά λεπτά. Ύστερα κλείνεται η βαλβίδα πάνω από την ουσία, φέρεται το δείγμα στη θερμοκρασία που έχει επιλεγεί και, όσο διατηρείται αυτή η θερμοκρασία, η προκύπτουσα μετακίνηση της στήλης παρατηρείται και αντισταθίζεται στη θέση μηδέν με άζωτο, αν είναι αναγκαίο, μέχρι να επικρατήσει σταθερότητα θερμοκρασίας. Υπερψύχεται πάλι ο θάλαμος του δέγματος. Εάν παρατηρηθεί υπόλογο κίσεως στην κατάσταση υπερψύξεως τούτο σφραγίζεται είτε σε αέρα που παρέμεινε στο δείγμα και ελεγχόδηκε κατά τη διάρκεια της φερμάσεως, ο οποίος μπορεί να απομακρυνθεί, είτε στο ότι η θερμοκρασία ψύξεως δεν ήταν αρκετά χαμηλή. Στην περίπτωση αυτή πρέπει να χρησιμοποιηθεί υγρό άζωτο σαν ψυκτικό μέσο.

Αφού το δείγμα επαρκώς ικανοποιητικά, προσδιορίζεται η εξάρτηση της τάσεως ατμών από τη θερμοκρασία σε διαστήματα θερμοκρασίας αρκετά μικρά.

1.6.3.

Ισοθερμοκόκιο

Πλήρης περιγραφή της μεθόδου αυτής δίνεται στη βιβλιογραφία (2). Η αρχή λειτουργίας του οργάνου μετρήσεως φαίνεται στο σχήμα 3. Όπως και στη στατική μέθοδο που περιγράφεται στο σημείο 1.6.2, το ισοθερμοκόκιο είναι κατάλληλο για τον έλεγχο στερεών και υγρών.

Στην περίπτωση υγρών, η ίδια η ουσία χρησιμοποιείται σαν υγρό του βοηθητικού μανόμετρου. Στην περίπτωση στερεών, χρησιμοποιούνται τα μανομετρικά υγρά που αναφέρονται στο σημείο 1.6.2, ανάλογα με την περιγραφή της πίεσεως και της θερμοκρασίας. Στην περίπτωση υγρών, η σφαιρα στην επιθυμητή θερμοκρασία γεμίζεται με την υπό έλεγχο ουσία, η οποία αποαερώζεται σε ανωψωμένη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια βρασμού.

Στη συνέχεια, μέρος του υγρού αποστράγγεται έξω από τη σφαιρα, συμπυκνώνεται στην ανώτερη ψυχρή σφαιρα και επιστρέφει στο σωλήνα-U. Όταν ο σωλήνας αυτός γεμίσει αρκετά με ακαερωμένο υγρό, η καλύτερη σφαιρα με το σωλήνα-U σε θερμοστατικό λουτρό, φέρεται στην επιθυμητή θερμοκρασία και η δημιουργούμενη τάση ατμών μετράται άμεσα, ακριβώς όπως στη μέθοδο που περιγράφεται στο σημείο 1.6.2.

Στην περίπτωση στερεών, το ακαερωμένο μανομετρικό υγρό φέρεται στην κορυφή του μικρού βραχίονα του ισοθερμοκόκου. Κατόπιν, το υπό έλεγχο στερεό φέρεται στην καλύτερη σφαιρα και ακαερώζεται σε ανωψωμένη θερμοκρασία. Ύστερα, το ισοθερμοκόκιο τοποθετείται με κλίση, έτσι ώστε το μανομετρικό υγρό να ρέσει στο σωλήνα-U. Η μέτρηση της τάσεως ατμών σαν συνάρτηση της θερμοκρασίας γίνεται σύμφωνα με το σημείο 1.6.2.

1.6.4.

Ζυγός τάσεως ατμών

1.6.4.1.

Συσκευή

Αναφέρονται στη βιβλιογραφία (1) αρκετές διαφορικές περιεματικές διατάξεις. Εκείνη που περιγράφεται

1.6.5.2.

Πορεία μετρήσεως

Προκατασκευή της στήλης κορεσμού:

Διάλυμα της ελεγχόμενης ουσίας σε πολύ πτητικό διαλύτη προστίθεται σε κατάλληλη ποσότητα υδροψόμου. Η ποσότητα της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει να είναι αρκετή, ώστε να εξασφαλιστεί ο κορεσμός σε όλη τη διάρκεια του ελέγχου. Ακομακρόνεται τελείως ο διαλύτης δι' εξατμίσεως στον αέρα ή σε περιστεφόμενη συσκευή εξατμίσεως και το υλικό που έχει προσεκτικά αναμιχθεί προστίθεται στη στήλη κορεσμού. Αφού θερμοστατηθεί το δείγμα, διαβιβάζεται ξηρό αέριο από τη συσκευή.

Μέτρηση:

Συνδέονται οι παγίδες με τη γραμμή εξόδου από τη στήλη και καταγράφεται ο χρόνος. Ελέγχεται η ταχύτητα ροής στην αρχή, καθώς και σε κανονικά χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια του πειράματος, με χρησιμοποιημένο φασαλλομέτρο (ή συνεχώς, με ροόμετρο μέγας).

Πρέπει να μετράται η πίεση στην έξοδο της στήλης κορεσμού. Αυτό μπορεί να γίνει είτε

α) με χαρμυβόλη βαλβίδας πίεσης μεταξύ της στήλης και των παγίδων (λόγω του αυξημένου νεκρού χώρου και προσροφητικής επιφάνειας), είτε

β) με μέτρηση της πίεσης πίεσης κατά μήκος του ειδικού συστήματος που χρησιμοποιείται, σε συνάρτηση με την ταχύτητα ροής, σε χωριστό πείραμα (που μπορεί να μην είναι ικανοποιητικό για υγρές παγίδες).

Ο χρόνος που απαιτείται για τη συλλογή της ποσότητας της ελεγχόμενης ουσίας, που είναι αναγκαία για τις διάφορες μεθόδους ανάλυσης, προσδιορίζεται με προκαταρκτικά πειράματα ή κατ' εκτίμηση. Πριν από τον υπολογισμό της τάσεως ατμών σε δεδομένη θερμοκρασία, πρέπει να γίνουν προκαταρκτικά πειράματα για τον προσδιορισμό της μέγιστης ταχύτητας ροής που θα κορέσει τον αέριο φορέα με ατμούς της ουσίας. Αυτό εξασφαλίζεται, αν ο αέριος φορέας διαβιβαστεί μέσα από τη στήλη κορεσμού, τόσο αρχικά, ώστε μικρότερη ταχύτητα να μη δίνει με υπολογισμό μεγαλύτερη τάση ατμών.

Η ειδική αναλυτική μέθοδος μπορεί να προσδιοριστεί από τη φύση της ελεγχόμενης ουσίας (π.χ. αέρια χρωματογραφία ή σταθμική μέθοδος).

Προσδιορίζεται η ποσότητα της ουσίας που μεταφέρεται από γνωστό όγκο αέριου φορέα.

Υπολογισμός της τάσεως ατμών

Η τάση ατμών υπολογίζεται από την κυκνότητα ατμών, W/V, από την εξίσωση:

$$p = \frac{W}{V} \times \frac{RT}{M}$$

όπου:

P = τάση ατμών (Pa),

W = προσροφηθείσα μάζα ελεγχόμενης ουσίας (g),

V = όγκος κορεσμένου αερίου (m³),

R = διεθνής μοριακή σταθερά αερίων (J/mol·K),

T = θερμοκρασία (K),

M = μοριακή μάζα (g/mol).

Οι μετρήσιμες όγκοι πρέπει να διορθωθούν για διαφορά πίεσης και θερμοκρασίας μεταξύ του ροομέτρου και της θερμοστατημένης στήλης κορεσμού. Αν το ροόμετρο έχει τοποθετηθεί μετά την παγίδα των ατμών κατά τη διαδικασία της ροής, είναι ανάγκη να γίνουν διορθώσεις για σφάλματα που οφείλονται σε τυχόν εξατμιζόμενα συστατικά της παγίδας [βλ. βιβλιογραφία (1)].

$$p = \text{τάση ατμών (Pa)}$$

Αφού ετοιμασθεί το αναγκαίο κενό, αρχίζει η σειρά μετρήσεων στη χαμηλότερη επιθυμητή θερμοκρασία μετρήσεως. Ανοίγεται το κατάλληλο στόμιο και η ακτίνα ατμών περνάει από τη θωράκιση που βρίσκεται επί μέρους πάνω από το κύλιμα και χτυπάει την ψυχή φύλλα της κλίμακας. Η άλαττα αυτή είναι έτσι τοποθετημένη ώστε όλη η ακτίνα ατμών συλλέγεται κατά τη συνημιτονοειδή κατανομή της. Η ροή της ακτίνας ατμών προκαλεί μια δύναμη στη φύλλα της κλίμακας, στην ψυχή επιφάνεια της οποίας γίνεται η συμπύκνωση. Από τη δύναμη αυτή της ακτίνας ατμών, η δόση της κλίμακας αποκλιίνει από τη θέση ισορροπίας. Στο άκρο της δόσης της κλίμακας βρίσκεται μία μικρή λωρίδα που καταγράφεται οπτικά μέσω ενός συστήματος κρυσμάτων και δύο φωτοδίοδων λυχνιών. Αλλάως, ένα συνδεδεμένο κύκλωμα ελέγχου ρυθμίζει και εναλλάσσει τη δόση της κλίμακας στην κατάσταση ισορροπίας. Καταγράφεται η απαιτούμενη ροή και μετά από πλήρη αντιστάθιση αντιστοιχεί στην τάση ατμών της ουσίας.

Για περισσότερες μετρήσεις, αυξάνεται η θερμοκρασία κατά μικρά διαστήματα, μέχρι να φθάσει την υψηλότερη επιθυμητή τιμή. Ψύχεται κατόπιν το δείγμα και μπορεί να καταγραφεί μία δεύτερη κυματόλη τάσεως ατμών. Οι δύο παρές μετρήσεων είναι ανεξαρτηγώμες μόνο αν το μετρούμενο δείγμα είναι ικανοποιητικά καθαρό. Αν μία τρίτη σειρά μετρήσεων δεν επιβεβαιώσει τα αποτελέσματα της δεύτερης σειράς, αυτό είναι δυνατό να οφείλεται στο ότι η ουσία μπορεί να αποσυντίθεται στην περιοχή της θερμοκρασίας μετρήσεως.

Μέθοδος κεκορεσμένου αερίου

Συσκευή

Μία τυπική συσκευή που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο αυτό περιλαμβάνει ορισμένα τμήματα, που φαίνονται στο σχήμα 3 και περιγράφονται παρακάτω [βλ. βιβλιογραφία (1)].

Αθρανός αερίου:

Ο αέριος φορέας δεν πρέπει να αντιδρά χημικά με την ελεγχόμενη ουσία. Συνήθως χρησιμοποιείται αέριο για το σκοπό αυτό, σε ορισμένες όμως περιπτώσεις μπορεί να απαιτούνται άλλα αέρια. Το χρησιμοποιούμενο αέριο πρέπει να είναι ξηρό (βλέπε σχήμα 4: Σημείο 4: Σημειωτική υγρασία του Sensor).

Έλεγχος ροής:

Απαιτείται κατάλληλο σύστημα ελέγχου του αερίου για την εξασφάλιση σταθερής και καθορισμένης ροής μέσω της στήλης κορεσμού.

Παγίδες συλλογής ατμών:

Οι παγίδες αυτές εξαρτώνται από τα ειδικά χαρακτηριστικά του δείγματος και από τη μέθοδο ανάλυσης που θα χρησιμοποιηθεί. Οι ατμοί πρέπει να παγιδευτούν ποσοτικά και υπό μορφή που να επιτρέπει την ανάλυση που θα ακολουθήσει. Για μερικές ελεγχόμενες ουσίες, θεωρούνται κατάλληλες οι παγίδες που περιέχουν υγρό όπως το ελάνο ή η αιθυλενογλυκόλη. Για άλλες, μπορεί να χρησιμοποιηθούν στερεοί απορροφητές.

Ανταλλακτής θερμότητας:

Για μετρήσεις σε διαφορετικές θερμοκρασίες μπορεί να παρασεί ανάγκη να συνδεθεί στη συσκευή ανταλλακτής θερμότητας.

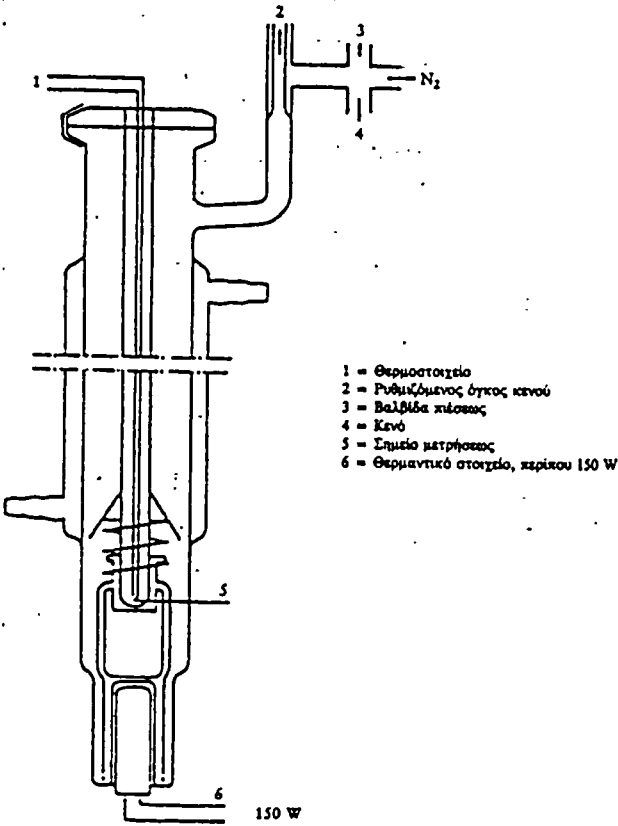
Στήλη κορεσμού:

Η ελεγχόμενη ουσία είναι διάλυμα προσροφημένο σε κατάλληλο αδρανές υπόστρωμα. Το υπόστρωμα αυτό συμπιέζεται στη στήλη κορεσμού, οι διαστάσεις και η ταχύτητα ροής της οποίας πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να εξασφαλιστεί πλήρης κορεσμός του αερίου φορέα. Η στήλη κορεσμού πρέπει να είναι θερμοστατημένη. Για μετρήσεις σε θερμοκρασίες πάνω από 20 °C, η περιοχή μεταξύ της στήλης κορεσμού και των παγίδων πρέπει να θερμαίνεται, για να εμποδίζεται η συμπύκνωση της ελεγχόμενης ουσίας.

Προσάρτημα

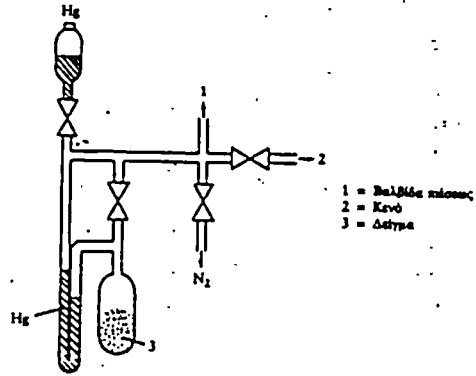
Σχήμα 1

Διασκευή προσδιορισμού της καπιλάρης τάσεως ατμών κατά τη θερμοκρατική μέθοδο



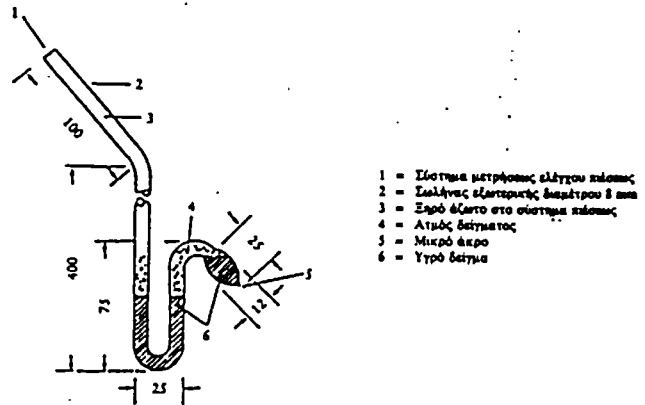
Σχήμα 2

Διασκευή προσδιορισμού της καπιλάρης τάσεως ατμών κατά τη στατική μέθοδο



Σχήμα 3

Διασκευή προσδιορισμού της καπιλάρης τάσεως ατμών κατά τη στατική μέθοδο



ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η τάση ατμών, από οποιαδήποτε από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν, πρέπει να προσδιορίζεται σε τουλάχιστον δύο θερμοκρασίες. Για να είναι δυνατό να ελεγχθεί η γραμμικότητα της καμπύλης τάσεως ατμών, είναι προτιμότερες τρεις ή περισσότερες θερμοκρασίες, στην περιοχή 0 °C — 50 °C.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

Στην έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιληφθούν οι ακόλουθες πληροφορίες:

- ακριβής προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ξένες προσμείξεις),
- τουλάχιστον δύο τιμές τάσεως ατμών και θερμοκρασίας, κατά προτίμηση στην περιοχή 0 °C — 50 °C. Πρέπει, επίσης, να περιληφθούν όλα τα προκαταρκτικά δεδομένα και μία καμπύλη log p σαν συνάρτηση του 1/T. Επιπλέον, πρέπει να αναφέρεται μια εκτίμηση της τάσεως ατμών στους 20 °C ή 25 °C.

Αν παρατηρηθεί κάποια μεταβολή (μεταβολή καταστάσεως, αποσύνθεση), πρέπει να δηλωθούν οι ακόλουθες πληροφορίες:

- φύση της αλλαγής,
- θερμοκρασία στην οποία παρατηρήθηκε η μεταβολή, υπό ατμοσφαιρική πίεση,
- τάση ατμών σε 10 °C και 20 °C κάτω από τη θερμοκρασία μεταβολής και σε 10 °C και 20 °C πάνω από τη θερμοκρασία αυτή (εκτός αν η μεταβολή είναι από στερεό σε αέριο).

Πρέπει να δηλωθούν όλες οι πληροφορίες και παρατηρήσεις που είναι σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Πρέπει να δηλωθεί η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

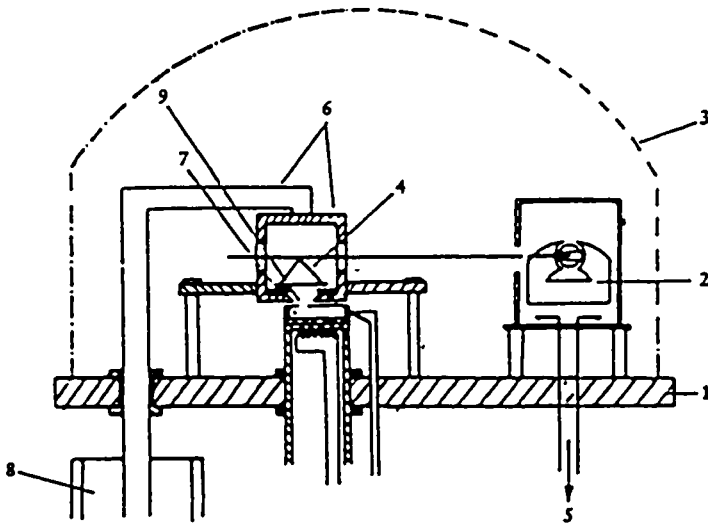
- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 104 — Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 104, ref (4) — Decision of the Council C(81) 30 final.

Α. 5. ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗ ΤΑΣΗ

- 1. ΜΕΘΟΔΟΣ**
Οι περιγραφόμενες μέθοδοι βασίζονται στην καταβυθνήτριά μέθοδο ελέγχου του ΟΟΣΑ (1).
- 1.1. Εισαγωγή**
Οι περιγραφόμενες μέθοδοι εφαρμόζονται στη μέτρηση της επιφανειακής τάσεως των υδατικών διαλυμάτων.
Είναι χρήσιμο να υπέρχει προκαταρκτική πληροφορία για τη διαλυτότητα στο νερό, συντακτικό τύπο, τις ιδιότητες υδρολύσεως και την κρίσιμη συγκέντρωση για τη δημιουργία μικκυλίων της ουσίας πριν από την εκτέλεση των δοκιμασιών αυτών.
Οι παρακάτω μέθοδοι είναι εφαρμόσιμες στις περισσότερες χημικές ουσίες, χωρίς οικονομικότερο περιεχόμενο όσον αφορά το βαθμό καθαρότητας τους.
Η μέτρηση της επιφανειακής τάσεως με τη μέθοδο του μετρητή τάσεως με δακτύλιο, περιορίζεται στα υδατικά διαλύματα με δυναμικό ιζώδες μικρότερο των 200 mPa s περίπου.
- 1.2. Όργανα και μονάδες**
Η ελεύθερη επιφανειακή ενέργεια ανά μονάδα επιφάνειας αναφέρεται σαν επιφανειακή τάση.
Η επιφανειακή τάση δίνεται σαν:
N/m (SI μονάδα), ή
mN/m (SI υπο-μονάδα)
1 N/m = 10³ dyn/cm,
1 mN/m = 1 dyn/cm στο ακρατικό σύστημα cgs.
- 1.3. Ουσίες αναφοράς**
Οι ουσίες αναφοράς δεν είναι ανέτηρη να χρησιμοποιούνται σε όλες τις περιπτώσεις όταν ερευνηθεί μία νέα ουσία. Πραγματικά χρησιμοποιούνται για τη βαθμονόμηση της μεθόδου από καιρό σε καιρό, και για να προσφέρουν μία ευκαμψία συγκρίσεως των αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται μία άλλη μέθοδος.
Οι ουσίες αναφοράς που καλύπτουν μία μεγάλη περιοχή επιφανειακών τάσεων, δίνονται στις βιβλιογραφίες (1) και (2).
- 1.4. Αρχή των μεθόδων**
Οι μέθοδοι βασίζονται στη μέτρηση της μέγιστης δύναμης που απαιτείται να ασκηθεί κείμενα σε έναν αναβόλα ή σε ειδικό δακτύλιο που είναι σε επαφή με το προς έλεγχον υγρό το οποίο βρίσκεται τοποθετημένο σε ένα δοχείο μετρήσεως, για να αποκολληθεί αυτός από αυτή την επιφάνεια ή σε ένα δίσκο, με τη μία πλευρά σε επαφή με την επιφάνεια, για να εκανάλει κανονικά στη θέση της η μεμβράνη που σχηματίζεται.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας**
Οι μέθοδοι αυτές είναι μεγαλύτερης ακρίβειας από αυτήν που φαίνεται να απαιτείται για περιβαλλοντική εκτίμηση.

Σχήμα 4

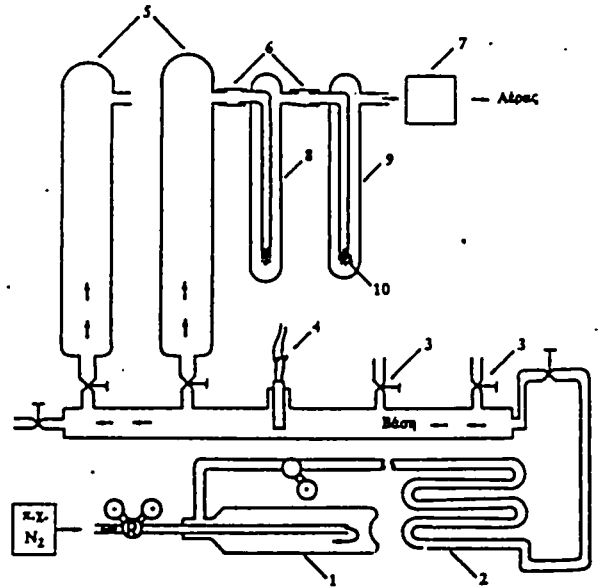
Συσκευή προσδιορισμού της κεκλιμένης τάσεως ατμών κατά τη μέθοδο (ζυγού τάσεως ατμών)



- 1 = Βασικός δίσκος
- 2 = Όργανο κινήσεως του πηνίου
- 3 = Βολαντός κώδενας
- 4 = Ζυγός με φάλαγγα-κλίμακα
- 5 = Όργανο μετρήσεως κενού
- 6 = Σύστημα ψήξεως και φωσφική ράβδος
- 7 = Φοορνος εξαιτμισσεως
- 8 = Δοχείο Dewar με υγρό άζωτο
- 9 = Φωσφική

Σχήμα 3

Παρόμοια συστήματα ροής για τον προσδιορισμό της τάσεως ατμών κατά τη μέθοδο κενωμένου αερίου



- 1 = Ρυθμιστής ροής
- 2 = Ανταλλάκτης θερμότητας
- 3 = Βελονοειδής βαλβίδα
- 4 = Σχηματική υγρασία του Sensor
- 5 = Στήλης προσροφήσεως
- 6 = Συνέδεση PTFE
- 7 = Ρυθμιστρο
- 8 = Παγίδα (προσοροφήτης)
- 9 = Παγίδα λαδιού
- 10 = Παραγωγική φωτοαλλογενή

- 1.6. Περιγραφή των μεθόδων
- 1.6.1. Μέθοδος δίσκου
Βλέπε ISO 304 (Επιφανειακά ενεργητά ουσίες — Προσδιορισμός της επιφανειακής τάσεως με σχηματισμό υγρών μεμβρανών).
- 1.6.2. Μέθοδος αναβολία
Βλέπε ISO 304 (Επιφανειακά ενεργητά ουσίες — Προσδιορισμός της επιφανειακής τάσεως με σχηματισμό υγρών μεμβρανών).
- 1.6.3. Μέθοδος δακτύλου
Βλέπε ISO 304 (Επιφανειακά ενεργητά ουσίες — Προσδιορισμός της επιφανειακής τάσεως με σχηματισμό υγρών μεμβρανών).
- 1.6.4. Εναρμονισμένη μέθοδος δακτύλου του ΟΟΣΑ

1.6.4.1. Σύσκευή

Οι μετρητές τάσεως που κυκλοφορούν στο εμπόριο είναι κατάλληλοι για τη μέτρηση αυτή. Αποτελούνται από τα κατωτέρω στοιχεία:

- κινητό τραπέζι δειγματος,
- σύστημα μετρήσεως δύναμης,
- σώμα μετρήσεως (δακτύλος),
- δοχείο μετρήσεως.

1.6.4.1.1. Κινητό τραπέζι δειγματος

Το κινητό τραπέζι δειγματος χρησιμοποιείται σαν υποστήριγμα για το δοχείο μετρήσεως με ελεγχόμενη θερμοκρασία που κεράζεται το υγρό το οποίο πρόκειται να υποστεί τη δοκιμασία. Μαζί με το σύστημα μετρήσεως της δύναμης, συναρμολογείται πάνω σε ένα βέθρο.

1.6.4.1.2. Σύστημα μετρήσεως της δύναμης

Το σύστημα μετρήσεως της δύναμης (βλέπε σχήμα 1) είναι τοποθετημένο πάνω από το τραπέζι του δειγματος. Το σώμα μετρήσεως της δύναμης δεν πρέπει να υπερβαίνει το $\pm 10^{-6}$ N, που αντιστοιχεί σε ένα όριο σφάλματος $\pm 0,1$ mg σε μια μέτρηση μάζας. Στις περισσότερο περιπτώσεις, η κλίμακα μετρήσεως των μετρητών τάσεως που κυκλοφορούν στο εμπόριο βαθμολογείται σε mN/m, έτσι ώστε η επιφανειακή τάση να μπορεί να μετρηθεί απευθείας σε mN/m, με μια ακρίβεια 0,1 mN/m.

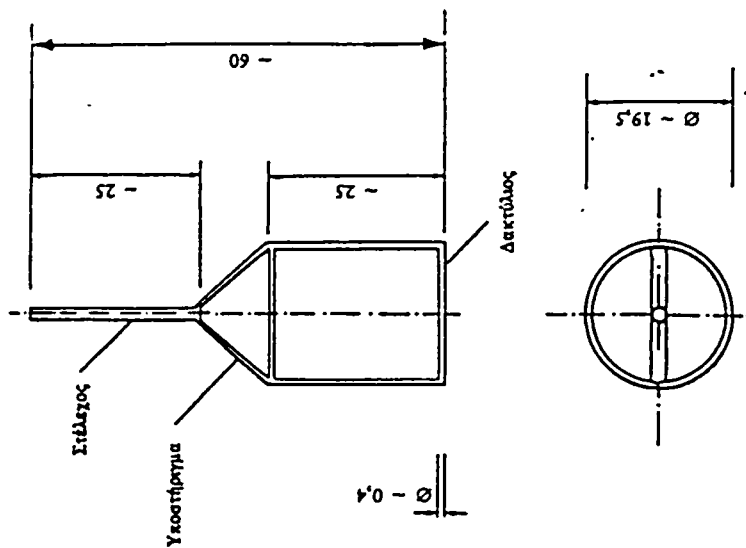
1.6.4.1.3. Σώμα μετρήσεως (δακτύλος)

Ο δακτύλος αποτελείται συνήθως από ένα σώμα από κράμα λευκόχρυσου-ιριδίου πάχους 0,4 mm κέραιου και μήκους περιφέρειας 60 mm. Ο σφαιρικός δακτύλος κρέμαται οριζόντια από ένα μεταλλικό στέλεχος και από ένα συμπύκνω υποστήριγμα για να αποκαθίσταται η σύνδεση με το σύστημα μετρήσεως της δύναμης (βλέπε σχήμα).

Σχήμα

Σώμα μετρήσεως

(Όλες οι διαστάσεις εκφραζόμενες σε mm)



1.6.4.1.4. Δοχείο μετρήσεως

Το δοχείο μετρήσεως που κεράζεται το δάκτυλο το οποίο πρόκειται να μετρηθεί θα είναι ένα γυάλινο δοχείο με ελεγχόμενη θερμοκρασία. Θα σταθεσιαστεί έτσι ώστε κατά τη διάρκεια της μετρήσεως η θερμοκρασία του προς έλεγχο υγρού διαλυματος και η αέρια φάση πάνω από την επιφάνειά του να παραμένουν σταθερές και το δάκτυλο να μη μπορεί να εξαρτηθεί. Κυλινδρικά γυάλινα δοχεία που έχουν εσωτερική διάμετρο όχι μικρότερη των 45 mm είναι αποδεκτά.

1.6.4.2. Προετοιμασία της συσκευής

1.6.4.2.1. Καθαρισμός

Τα γυάλινα δοχεία πρέπει να καθαρίζονται προσεκτικά. Εάν είναι ανάγκη θα πλύνονται με ζεστό χρωμικό οξύ και μετά με ευφορικό οξύ (83-98 % κατά βάρος H_2PO_4), θα ξεπλύνονται πλήρως με τριχομένο νερό και τελικά θα πλύνονται με διπλά απεσταγμένο νερό μέχρι ουδέτερης αντίδρασης, στη συνέχεια θα ξηραίνονται ή θα ξεπλύνονται με μέρος από το υγρό που πρόκειται να μετρηθεί.

Ο δακτύλιος θα ξεπλύνεται πλήρως με νερό για την απομάκρυνση κάθε ουσίας διαλυτής στο νερό, θα βυθίζεται για λίγο σε χρωμικό οξύ, θα πλύνεται με διπλά απεσταγμένο νερό μέχρι ουδέτερης αντίδρασης και τελικά θα θερμαίνεται σύντομα πάνω από φλόγα μεθάνουλης.

Σημείωση

Οι τυγόν ουσίες που δεν διαλύονται ή δεν καταστρέφονται με χρωμικό ή ευφορικό οξύ, όπως οι αλικόνες, θα πρέπει να απομακρύνονται με τη βοήθεια ενός κατάλληλου οργανικού διαλύτη.

1.6.4.2.2. Βαθμονόμηση της συσκευής

Η επαλήθευση της συσκευής συνίσταται στην επαλήθευση του μηδενικού σημείου ρυθμιζόντας το έτσι ώστε η ένδειξη του οργάνου να επιτρέπει αξιόπιστο προσδιορισμό σε mN/m .

Συνεργολόγηση:

Η συσκευή οριζοντιώνεται, π.χ. με τη βοήθεια μιας στάθμης ονοικονέματος στη βάση του μετρητή της τάσεως, ρυθμιζόντας τις βίδες οριζοντιώσεως στη βάση.

Ρύθμιση του μηδενικού σημείου:

Μετά τη συνεργολόγηση του δακτυλίου στη συσκευή και πριν αυτή να βυθιστεί στο υγρό, θα ρυθμιστεί η ένδειξη του μετρητή της τάσεως στο μηδέν και θα ελεγχθεί ότι ο δακτύλιος είναι παράλληλος προς την επιφάνεια του υγρού. Για το σκοπό αυτό, η υγρή επιφάνεια μπορεί να χρησιμοποιείται σαν καθρέφτης.

Βαθμονόμησης:

Ο έλεγχος βαθμονόμησης μπορεί να γίνει με μία από τις δύο παρακάτω μεθόδους:

α) χρησιμοποιήση μιας μάζας: μέθοδος που χρησιμοποιεί ικτικές γνωστής μάζας μεταξύ 0,1 g και 1,0 g που τοποθετούνται πάνω στο δακτύλιο. Ο παράγον βαθμονόμησης Φ_0 , με τον οποίο πρέπει να πολλαπλασιάζονται όλες οι αναγνώσεις του οργάνου, θα καθορίζεται σύμφωνα με την εξίσωση (1):

$$\Phi_0 = \frac{g}{\sigma_0} \quad (1)$$

$$\sigma_0 = \frac{m \times g}{2b} \quad (mN/m),$$

m = μάζα του ικτικού (g),

g = επιτάχυνση βαρύτητας ($981 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-2}$ στην επιφάνεια της θάλασσας),

b = μέση περιφέρεια του δακτυλίου (cm),

σ_0 = ανηγμένη του μετρητή τάσεως μετά την τοποθέτηση του ικτικού πάνω στο δακτύλιο (mN/m).

β) χρησιμοποιήση νερού: μέθοδος που χρησιμοποιεί καθαρό νερό, του οποίου η επιφανειακή τάση π.χ. στους 23°C είναι ίση με $72,3 \text{ mN/m}$. Αυτή η μέθοδος εκτελείται πιο γρήγορα από τη βαθμονόμηση βάρους, αλλά υπάρχει κίνδυνος να αλλοιωθεί η επιφανειακή τάση του νερού από ίχνη επιφανειακά ενεργών ουσιών.

Ο παράγον βαθμονόμησης Φ_0 , με τον οποίο πρέπει να πολλαπλασιάζονται όλες οι ενδείξεις του οργάνου, πρέπει να προσδιορίζεται σύμφωνα με την εξίσωση (2):

$$\Phi_0 = \frac{\sigma_2}{\sigma_1} \quad (2)$$

όπου:

σ_0 = τιμή αναφερόμενη στη βιβλιογραφία για την επιφανειακή τάση του νερού (mN/m),

σ = μετρήσιμη τιμή της επιφανειακής τάσεως του νερού (mN/m),

και οι δύο στην ίδια θερμοκρασία.

Παρασκευή των δειγμάτων

Θα παρασκευάζονται οδοντικά διαλύματα των ουσιών που πρόκειται να εξεταστούν, χρησιμοποιώντας τις απαιτούμενες συγκεντρώσεις στο νερό και δε θα πρέπει να περιέχουν αδιάλυτες ουσίες.

Το διάλυμα πρέπει να διατηρείται σε σταθερή θερμοκρασία ($\pm 0,5^\circ \text{C}$). Εάν η επιφανειακή τάση ενός διαλύματος εντός του δοχείου μετρήσεως μεταβάλλεται με το χρόνο, πρέπει να εκτελούνται μερικές μετρήσεις σε διάφορους χρόνους και να χαρασσεται μια καμπύλη της επιφανειακής τάσεως σαν συνάρτηση του χρόνου. Όταν δεν παρατηρείται περαιτέρω μεταβολή, έχει επιτευχθεί μια κατάσταση ισορροπίας.

Σκόνη ή αέρια επιμόλυνση από άλλες ουσίες επηρεάζει τη μέτρηση. Γι' αυτό η εργασία θα πρέπει να γίνεται σ' αυτή την περίπτωση κάτω από προστατευτικό κάλυμμα.

1.6.5. Συνθήκες ελέγχου

Η μέτρηση θα εκτελείται στους 20°C περίπου και θα ελεγχεται εντός $\pm 0,5^\circ \text{C}$.

1.6.6. Εκτέλεση του ελέγχου

Τα διαλύματα που πρόκειται να μετρηθούν φέρονται στο προσεκτικά καθαρισμένο δοχείο μετρήσεως, προσέχοντας να αποφευχθεί τυχόν αφρισμός, και μετά το δοχείο μετρήσεως τοποθετείται στο τραπέζι της συσκευής. Το άνω μέρος του τραπεζιού με το δοχείο μετρήσεως ανωμένεται μέχρις ότου ο δακτύλιος να βυθιστεί κάτω από την επιφάνεια του διαλύματος που πρόκειται να μετρηθεί. Μετά χαμηλώνεται βαθμιαία και ομαλά (με μια ταχύτητα περίπου $0,5 \text{ cm/min}$) για να αποσπαστεί ο δακτύλιος από την επιφάνεια μέρους όπου επιτυγχέται η μέγιστη δύναμη. Η υγρή σφαιρίδα που είναι προσκολλημένη στο δακτύλιο δεν πρέπει να αποχωριστεί από το δακτύλιο. Μετά το τέλος των μετρήσεων, ο δακτύλιος βυθίζεται πάλι κάτω από την επιφάνεια και οι μετρήσεις θα επαναλαμβάνονται μέχρις ότου επιτευχθεί μια σταθερή τιμή επιφανειακής τάσεως. Ο χρόνος από τη μεταφορά του διαλύματος στο δοχείο μετρήσεως καταγράφεται για κάθε προσδιορισμό. Οι αναγνώσεις λαμβάνονται στη μέγιστη δύναμη που απαιτείται προσεκτικού να αποσπαστεί ο δακτύλιος από την υγρή επιφάνεια.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Προκειμένου να υπολογιστεί η επιφανειακή τάση, η τιμή αναγνώσεως, σε mN/m στη συσκευή, θα πολλαπλασιάζεται πρώτα με τον παράγον βαθμονόμησης Φ_0 ή Φ_0 (που εξαρτάται από τη μέθοδο βαθμονόμησης που έχει χρησιμοποιηθεί). Αυτό θα δώσει μια τιμή που ισχύει μόνο κατά προσέγγιση και γι' αυτό απαιτείται διόρθωση.

Οι Harlins και Jordan (3) έχουν εμπειρικά καθορίσει παράγοντες διορθώσεως για τις τιμές της επιφανειακής τάσεως που μετράται με τη μέθοδο του δακτυλίου και που εξαρτώνται από τις διαστάσεις του δακτυλίου, την πυκνότητα του υγρού και την επιφανειακή του τάση.

Εκείτο είναι κοινωσιτικό να προσδιορίζεται ο συντελεστής διορθώσεως από τους πίνακες των Harlins (3).

Εναλλακτικά, χωρίς την προϋπόθεση βαθμονόμησης, η εμφανιστική τάση μπορεί να υπολογιστεί σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$\sigma = \frac{f \times F}{4 \pi R}$$

όπου:

F = η δύναμη που μετράται με δυναμόμετρο στο σημείο που θραύεται η μεμβράνη.

R = η ακτίνα του δακτύλου,

f = ο συντελεστής διορθώσεως (1).

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Η έκθεση αυτή πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τουλάχιστον τις ακόλουθες πληροφορίες:

- τη χρησιμοποιηθείσα μέθοδο: την εναρμονισμένη με τον ISO ή τον ΟΟΣΑ μέθοδο μετρήσεως της τάσεως με δακτύλιο,
- τον τύπο του χρησιμοποιηθέντος νερού ή διαλύματος,
- την ακριβή προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ζίνες προσμίξεις),
- τα αποτελέσματα μετρήσεως: εμφανιστική τάση (ανάγνωση) που να περιλαμβάνει τις ξεχωριστές αναγνώσεις και τον αριθμητικό τους μέσο όρο, όσο και τη διορθωμένη μέση τιμή (λαμβάνοντας υπόψη τον παράγοντα της συσκευής και τον πίνακα διορθώσεως),
- τη συγκέντρωση του διαλύματος,
- τη θερμοκρασία του ελέγχου,
- την καλαιπότητα του χρησιμοποιηθέντος διαλύματος, ιδιαίτερα το χρόνο μεταξύ παρασκευής και μετρήσεως του διαλύματος,
- περιγραφή της εξεργήσεως από το χρόνο της εμφανιστικής τάσεως μετά από τη μεταφορά του διαλύματος στο δοχείο μετρήσεως,
- κάθε πληροφορία και παρατηρήσεις σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να αναφέρονται, ειδικότερα οι σχετικές με τις ζίνες προσμίξεις και τη φυσική κατάσταση της ουσίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 115 — Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Pure and Applied Chemistry, Vol. 48, 1976, p. 511.
- (3) Harkins W. D., Jordan H. F., J. Amer. Chem. Soc. Vol. 52, 1930, p. 1751.

Α. 6. ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΝΕΡΟ

ΜΕΘΟΔΟΣ

Οι περιγραφόμενες μέθοδοι βασίζονται στην καταβύθιξη δοκιμασία του ΟΟΣΑ (1).

Εισαγωγή

Είναι χρήσιμο να εκάθρη προκαταρκτική πληροφορία για το συντακτικό τύπο, την τάση στρώμα, τη

Jordan για κάθε ξεχωριστή μέτρηση, προκειμένου να υπολογιστεί η εμφανιστική τάση στα υδατικά διαλύματα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η απλοποιημένη μέθοδος αναγνώσεως των διορθωμένων τιμών της εμφανιστικής τάσεως ακριβώς από τον πίνακα που ακολουθεί. (Για αναγνώσεις που περιλαμβάνονται μεταξύ των τιμών του πίνακα θα χρησιμοποιείται η μέθοδος υπολογισμού ενδιάμεσων τιμών).

ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΤΑΣΕΩΣ

Μόνο για υδατικά διαλύματα, $\rho = 1 \text{ g/cm}^3$

R = 9,55 mm (μέσος όρος ακτίνας δακτύλου),
r = 0,185 mm (ακτίνα του στρώματος του δακτύλου).

Παραμοιική τιμή (mN/m)	Διορθωμένη τιμή (mN/m)	
	Βάρος βαθμονομήσεως (βλ.ε σημείο 1.6.4.2.2 (e))	Νερό βαθμονομήσεως (βλ.ε σημείο 1.6.4.2.2 (β))
20	16,9	18,1
22	18,7	20,1
24	20,6	22,1
26	22,4	24,1
28	24,3	26,1
30	26,2	28,1
32	28,1	30,1
34	29,9	32,1
36	31,8	34,1
38	33,7	36,1
40	35,6	38,2
42	37,6	40,3
44	39,5	42,3
46	41,4	44,4
48	43,4	46,5
50	45,3	48,6
52	47,3	50,7
54	49,3	52,8
56	51,2	54,9
58	53,2	57,0
60	55,2	59,1
62	57,2	61,3
64	59,2	63,4
66	61,2	65,5
68	63,2	67,7
70	65,2	69,9
72	67,2	72,0
74	69,2	—
76	71,2	—
78	73,2	—

Ο πίνακας αυτός έγινε με βάση τη διάφραση των Harkins-Jordan και είναι παρόμοιος με εκείνον του DIN Standard (DIN 53914) για το νερό και τα υδατικά διαλύματα (κυκνότητα $\rho = 1 \text{ g/cm}^3$) και ισχύει για δακτύλιο του μικρού που να έχει διαστάσεις R = 9,55 mm (μέση ακτίνα δακτύλου) και r = 0,185 mm (ακτίνα του στρώματος του δακτύλου). Ο πίνακας παρέχει τις διορθωμένες τιμές για τις μετρήσεις της εμφανιστικής τάσεως που λαμβάνονται μετά από τη βαθμονόμηση με βάση τη βαθμονόμηση με νερό.

Για τη μέθοδο εκλόσεως στήλης μπορεί να ληφθεί < 30 %. Για τη μέθοδο φιάλης θα μπορούσε να παρατηρηθεί < 15 %.

1.5.2. *Ευαισθησία*

Αυτή εξαρτάται από τη μέθοδο αναλύσεως, αλλά μπορεί να επιτευχθούν προσδιορισμοί συγκεντρώσεως μάζας της τάξεως τουλάχιστον των 10⁻⁶ g/l.

1.6. *Περιγραφή της μεθόδου*

1.6.1. *Συνθήκες ελέγχου*

Η δοκιμασία διεξάγεται κατά προτίμηση σε 20 °C ± 0,5 °C. Εάν υποψιάζεσθε μια εξάρτηση της διαλυτότητας από τη θερμοκρασία (> 3 %/°C), θα ήταν δυνατόν να χρησιμοποιηθούν επίσης δύο άλλες θερμοκρασίες, τουλάχιστον 10 °C πάνω και κάτω από τη θερμοκρασία που είχε επιλεγεί αρχικά. Σ' αυτή την περίπτωση ο έλεγχος της θερμοκρασίας θα ήταν ± 0,1 °C. Η θερμοκρασία που έχει επιλεγεί θα μπορούσε να διατηρείται σταθερή σε όλα τα σχετικά μέρη της συσκευασίας.

Προκαταρκτική δοκιμασία

Σε 0,1 g του δείγματος κερικού (οι στερεές ουσίες πρέπει να κομποποιούνται) προστίθενται, σε έναν στρογγυλικό κώνωρο με γυάλινο πόμολο, αιχμηρόμενοι όγκοι αεραταγμένου νερού σε θερμοκρασία δοματίου, σύμφωνα με το σχήμα του παρακάτω πίνακα.

0,1 g διαλυτά σε «x» ml νερού	0,1	0,5	1	2	10	100	> 100
Κατά προσέγγιση διαλυτότητα (g/l)	> 1 000	1 000—200	200—100	100—50	50—10	10—1	< 1

Μετά από κάθε πρόσθεση της ποσότητας νερού που ενδείκνυται, το μείγμα ανακινείται δυνατά για 10 λεπτά και ελέγχεται οπτικά για τυχόν αδιάλυτα μέρη του δείγματος. Εάν μετά από την προσθήκη 10 ml νερού, το δείγμα ή μέρος από αυτό παραμείνει αδιάλυτο, το περιεχόμενο του στρογγυλικού κώνωρου μεταφέρεται σε έναν όγκομετρικό κώνωρο των 100 ml, ο οποίος γεμίζεται με νερό μέχρι τα 100 ml και ανακινείται. Σε μικρότερες διαλυτότητες, ο χρόνος που απαιτείται για να διαλυθεί μια ουσία μπορεί να ανακινείται. Σε μικρότερες διαλυτότητες, ο χρόνος θα ήταν δυνατόν να επιτρεφόνται. Η κατά προσέγγιση διαλυτότητα δίνεται στον πίνακα κάτω από τον όγκο του προστιθέμενου νερού, με τον οποίο το δείγμα διαλύεται πλήρως. Εάν η ουσία είναι ακόμα φαινομενικά αδιάλυτη, θα μπορούσε να επιτηρηθεί περαιτέρω αραίωση για να επιβεβαιωθεί ποια μέθοδος διαλυτότητας θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί, η έκλυση στήλης ή η μέθοδος της φιάλης.

Μέθοδος εκλόσεως στήλης

Υαλικό κληρώσεως, διαλυτής και υγρό εκλούσεως

Το υαλικό κληρώσεως για τη μέθοδο εκλόσεως στήλης θα πρέπει να είναι αδρανές. Πιθανά υλικά, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν, είναι γυάλινα σφαιρίδια και σίλικα. Ένας κατάλληλος επιτικός διαλύτης (αναλυτικής καθαρότητας) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη μεταφορά της ουσίας που πρόκειται να δοκιμασθεί στο υαλικό κληρώσεως. Διπλά αεραταγμένο νερό από γυάλινη ή πλαστική συσκευή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν υγρό εκλόσεως ή σαν διαλύτης.

Σημείωση

Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται νερό αερατά από ενταλλάτη οργανικών υγρών.

σταθερά διαστάσεως και την υδρόλυση (σαν συνάρτηση του pH) της ουσίας, για την εκτέλεση του ελέγχου αυτού.

Δεν υπάρχει ενιαία μέθοδος που να καλύπτει όλη την περιοχή των διαλυτοτήτων στο νερό.

Η μέθοδος δεν εφαρμόζεται σε κτηνικές ουσίες.

Οι δύο μέθοδοι δοκιμασίας που περιγράφονται παρακάτω καλύπτουν όλη την περιοχή διαλυτοτήτων:

- μία που εφαρμόζεται στις βασικά καθαρές ουσίες με χαμηλή διαλυτότητα (< 10⁻² g/l) και που είναι σταθερές στο νερό, η οποία αναφέρεται σαν «μέθοδος εκλόσεως στήλης»,
- η άλλη, που εφαρμόζεται στις βασικά καθαρές ουσίες με υψηλότερες διαλυτότητες (> 10⁻² g/l) και που είναι σταθερές στο νερό, η οποία αναφέρεται σαν «μέθοδος φιάλης».

Η διαλυτότητα στο νερό της ελεγχόμενης ουσίας μπορεί να εκπραεστίει σημαντικά από την παρουσία ξένων προσμείξεων.

1.2. *Όμοιοι και μονάδες*

Η διαλυτότητα στο νερό μιας ουσίας ορίζεται σαν η συγκέντρωση της μάζας κορεσμού της ουσίας στο νερό σε μια δεδομένη θερμοκρασία. Η διαλυτότητα στο νερό ορίζεται σε μονάδες μάζας ανά όγκο του διαλύματος. Η μονάδα SI είναι kg/m³ (g/l μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθούν).

1.3. *Ουσίες αναφοράς*

Οι ουσίες αναφοράς δεν χρειάζεται να χρησιμοποιούνται σε όλες τις περιπτώσεις όταν ερευνάται μια νέα ουσία. Θα μπορούσε προαιρετικά να χρησιμοποιούν από καιρού σε καιρό για τον έλεγχο εκτέλεσεως της μεθόδου, και για να προσφέρουν τη δυνατότητα συγκρίσεως των αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται μια άλλη μέθοδος.

1.4. *Αρχή της μεθόδου*

Η κατά προσέγγιση ποσότητα του δείγματος και ο αναγκαίος χρόνος για να επιτευχθεί η συγκέντρωση της μάζας κορεσμού θα μπορούσε να προσδιορισθεί σε μια απλή προκαταρκτική δοκιμασία.

1.4.1. *Μέθοδος στήλης εκλόσεως*

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην έκλυση της ελεγχόμενης ουσίας με νερό από μια μικροστήλη η οποία γεμίζεται με ένα αδρανές υαλικό κληρώσεως, όπως υάλινα σφαιρίδια, σίλικα βελ ή άμμο και μια περίσσεια από την ελεγχόμενη ουσία. Η διαλυτότητα στο νερό προσδιορίζεται όταν η συγκέντρωση της μάζας του εκλούσεως είναι σταθερή. Αυτό φαίνεται από μια οριζόντια συγκέντρωση σαν συνάρτηση του χρόνου.

1.4.2. *Μέθοδος φιάλης*

Σ' αυτή τη μέθοδο, η ουσία (οι στερεές πρέπει να κομποποιούνται) διαλύεται στο νερό σε μια θερμοκρασία λίγο ανώτερη από τη θερμοκρασία του ελέγχου. Όταν ο κορεσμός έχει πραγματοποιηθεί, το μείγμα φέρεται και διατηρείται στη θερμοκρασία της δοκιμασίας, ανεδιώνας όσο είναι αναγκαίο για να επιτευχθεί η ισορροπία (2). Ακολούθως, προσδιορίζεται η συγκέντρωση της μάζας της ουσίας στο υδατικό διάλυμα, το οποίο δεν πρέπει να περιέχει αδιάλυτα σωματίδια, με μια κατάλληλη αναλυτική μέθοδο.

1.5. *Κριτήρια ποιότητας*

1.5.1. *Επαναληψιμότητα*

1.6.3.2.

Φόρτιση του υλικού κληρώσεως

Περίπου 600 mg του υλικού κληρώσεως ζυγίζεται και μεταφέρεται σε μια φιάλη με στρωγγλό πυθμένα των 50 ml.

Μια κατάλληλη, ζυγαρέσια, κοοδότητα της υπό εξέταση ουσίας διαλύεται στο διαλύτη που έχει επιλεγεί. Μια ορισμένη ποσότητα του διαλύματος της υπό εξέταση ουσίας προστίθεται στο υλικό κληρώσεως. Ο διαλύτης πρέπει να εξετασθεί πλήρως, π.χ. σε ομακωτή υπό κενό. Διαφορετικά, ο κορεσμός με νερό του υλικού κληρώσεως δεν επιτυγχάνεται λόγω φαινομένων κατανομής στην επιφάνεια του υλικού κληρώσεως.

Η φόρτιση του υλικού κληρώσεως μπορεί να προκαλέσει προβλήματα (οραφιλμένα αποτελέσματα) εάν η ελεγχόμενη ουσία εναντιοτίθεται σαν έλαιο ή σαν διαφορετική κρυσταλλική φάση. Το πρόβλημα θα ληφθεί να εξεταστεί κεραματικά.

Το φορτισμένο υλικό κληρώσεως αφήνεται να εμποτισθεί για δύο περίπου ώρες σε 5 ml νερό και μετά το σώμα μεταφέρεται στη μικροσύλη. Εναλλακτικά, ξηρό φορτισμένο υλικό κληρώσεως μεταφέρεται στη μικροσύλη, η οποία έχει γεμίσει με νερό, και αφήνεται να ισορροπήσει για δύο ώρες περίπου.

Πορεία του ελέγχου:

Η έκλυση της ουσίας από το υλικό κληρώσεως μπορεί να διεγερθεί με δύο διαφορετικούς τρόπους:

— αντίλη ανακυκλώσεως (βλέπε σχήμα 1):

— δοχείο αντισταθμισίας (βλέπε σχήμα 4),

1.6.3.3. Μέθοδος εκλούσεως στήλης με αντίλη ανακυκλώσεως

Συσκευή:

Μια σχηματική διάταξη ενός τυπικού συστήματος παρουσιάζεται στο σχήμα 1. Μια κατάλληλη μικροσύλη εικονίζεται στο σχήμα 2, αν και κάθε μέγεθος είναι αποδεκτό, αρκεί να κληροί τα κριτήρια αναπαραγωγιμότητας και εισαγωγίας. Η στήλη θα φέρει στο πάνω μέρος ένα χώρο εισαγωγής που θα έχει όγκο τουλάχιστον πέντε φορές τον βασικό όγκο της στήλης νερού και, επιπλέον, τουλάχιστον πέντε φορές τον όγκο του δείγματος. Εναλλακτικά, το μέγεθος μπορεί να μειωθεί, εάν χρησιμοποιείται συμπληρωματικός διαλύτης π.χ. να είναι μια περισταλτική αντίλη (πρέπει να ληφθεί φροντίδα ώστε να μη απομακρυνθεί μαζί με τις ξένες προμιξέρες.

Η στήλη θα συνδέεται με μια αντίλη ανακυκλώσεως ικανής να ελέγξει ροές περίπου 25 ml/ώρα. Η αντίλη συνδέεται με συνδέσμο από πολυετερφθοροαιθυλένιο ή και γυάλι. Κατά τη συνριολόγηση της στήλης και της αντίλης, θα προβλεφθεί η δυνατότητα δειγματοληψίας του εκλούσματος και της εξισορροήσεως του χώρου εισαγωγής με την ατμοσφαιρική κίση. Το υλικό της στήλης υποβάσσεται με ένα μικρό βόσμο (5 mm) από υαλοβάμβακα, το οποίο χρησιμοποιείται, επίσης, για τη διήθηση των αωματιδίων. Η αντίλη ανακυκλώσεως μπορεί π.χ. να είναι μια περισταλτική αντίλη (πρέπει να ληφθεί φροντίδα ώστε να μη συμβεί μόλυνση ή προσρόφηση με το υλικό του σωλήνα) ή μια αντίλη μεμβράνης.

Πορεία μετρήσεως:

Η ροή διά μέσου της στήλης αρχίζει. Συντάσσεται να χρησιμοποιείται μια ταχύτητα ροής περίπου 25 ml/ώρα (περίπου 10 φορές ο βασικός όγκος της στήλης ανά ώρα, για τη στήλη που περιγράφεται). Οι πρώτοι κλάσεις βασικού όγκου (κατ' ελάχιστο) απορρίπτονται για να απομακρυνθούν οι υδατοδιαλυτές ξένες προμιξέρες. Μετά απ' αυτό, η αντίλη ανακυκλώσεως τίθεται σε λειτουργία μέχρι να αποκατασταθεί ισορροπία, όπως καθορίζεται από πέντε διαδοχικά δείγματα των οποίων οι συγκεντρώσεις δεν διαφέρουν πάνω από ± 30 % κατά τυχαίο τρόπο. Τα δείγματα αυτά θα χωρίζονται μεταξύ τους με χρονικά διαστήματα που θα αντιστοιχούν με το κέραςμα τουλάχιστον δέκα βασικών όγκων του υγρού εκλούσεως.

1.6.3.4. Μέθοδος εκλούσεως στήλης με δοχείο σταθμισίας

Συσκευή (βλέπε σχήματα 4 και 3):

Δοχείο σταθμισίας: Η σύνθεση με το δοχείο σταθμισίας γίνεται με τη χρησιμοποίηση ενός γυάλινου κομμομένου συνδέσμου ο οποίος συνδέεται με διαβρωσικές PTFE. Συντάσσεται η χρησιμοποίηση μιας ταχύτητας ροής περίπου 25 ml/ώρα. Θα συλλέγονται διαδοχικά κλάσματα εκλούσεως και θα αναλύονται με τη μέθοδο που έχει επιλεγεί.

Πορεία μετρήσεως:

Προκειμένου να κρυσφοριστεί η διαλυτότητα στο νερό, χρησιμοποιούνται κλάσματα από τη μέση περιοχή του εκλούσματος, όπου οι συγκεντρώσεις είναι σταθερές (± 30 %) για τουλάχιστον πέντε διαδοχικά κλάσματα.

Ένα δεύτερο κέραςμα εκτελείται στο ήμισυ της ταχύτητας ροής του πρώτου. Εάν τα αποτελέσματα των δύο κέραςμάτων συμφωνούν, η δοκιμασία είναι ικανοποιητική. Εάν υπάρχει μεγαλύτερη φαινομενική διαλυτότητα με τη χαμηλότερη ταχύτητα ροής, τότε η διχοτόμηση της ταχύτητας ροής πρέπει να συνεχιστεί, μέχρις ότου δύο διαδοχικά κέραςματα δώσουν την ίδια διαλυτότητα.

Και στις δύο περιπτώσεις (χρησιμοποιώντας μια αντίλη ανακυκλώσεως ή ένα δοχείο σταθμισίας) τα κλάσματα θα πρέπει να ελεγχονται για την παρουσία κολοειδούς ουσίας με εξέταση του φαινομένου Tyndall (διάχυση του φωτός). Η παρουσία τέτοιων αωματιδίων ακυρώνει τα αποτελέσματα και η δοκιμασία θα πρέπει να επαναλαμβάνεται, εκκαθαίνοντας τη διηθητική ικανότητα της στήλης. Το pH κάθε δείγματος θα πρέπει να καταγράφεται. Ένα δεύτερο κέραςμα θα πρέπει να εκτελείται στην ίδια θερμοκρασία.

1.6.4. Μέθοδος φιάλης

Συσκευή

Για τη μέθοδο φιάλης απαιτείται το παρακάτω υλικό:

- κανονικός εξελεσμός εργαστηρίου σε γυάλινα σκεύη και σε όργανα,
- κατάλληλος μηχανισμός για την ανατάραξη των διαλυμάτων κάτω από ελεγχόμενες σταθερές θερμοκρασίες,
- μια φυγόκεντρος (κατά προτίμηση θερμοστατούμενη), εάν κρίνεται αναγκαίο με γυαλιώματα, και
- εξελεσμός για αναλυτικό προσδιορισμό.

1.6.4.2.

Πορεία μετρήσεως

Η αναγκαία ποσότητα υλικού, για να κορεστεί ο επιθυμητός όγκος νερού, εκτιμάται από την προκαταρκτική δοκιμασία. Ο όγκος του ακαιτούμενου νερού θα εξαρτάται από την αναλυτική μέθοδο και από την περιοχή διαλυτότητας. Ζυγίζεται περίπου πέντε φορές η ποσότητα του υλικού που έχει καθορισθεί παραπάνω, σε κάθε ένα από τα τρία γυάλινα δοχεία με γυάλινα κώματα (π.χ. σωλήνες φυγόκεντρος, φιάλες). Προστίθεται σε κάθε δοχείο ο όγκος νερού που έχει επιλεγεί και τα δοχεία κλείνονται γερά. Τα κλάσματα αναταράσσονται μετά στους 30 °C. (Θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ένας μηχανισμός ανατάραξης ή αναδύσεως ικανός να λειτουργεί σε σταθερή θερμοκρασία, π.χ. μηχανικός αναδευτήρας σε ένα θερμοστατικό ελεγχόμενο υδρόλουτρο). Μετά από μία ημέρα το ένα από τα δοχεία απομακρύνεται και ισορροπείται ξανά για 24 ώρες στη θερμοκρασία του ελέγχου με ευκαιριακή ανάδευση. Τα περιεχόμενα του δοχείου φυγοκεντρούνται μετά στη θερμοκρασία του ελέγχου και η συμπύκνωση της ουσίας στην καθαρή υδατική φάση προσδιορίζεται με μια κατάλληλη αναλυτική μέθοδο. Οι άλλες δύο φιάλες ψήφονται στην ίδια κατάσταση μετά από μια αρχική εξισορρόπηση στους 30 °C για δύο έως τρεις ημέρες, αντίστοιχα. Εάν τα αποτελέσματα της συγκέντρωσε από τα δύο τουλάχιστον τελευταία δοχεία συμφωνούν με την απαιτούμενη ανακατανομότητα, η δοκιμασία είναι ικανοποιητική. Όλη η δοκιμασία θα επαναλαμβάνεται με μεγαλύτερες χρόνους εξισορροπήσεως, εάν τα αποτελέσματα από τα δοχεία 1, 2 και 3 δείχνουν μια τέση αυχέσεως των τιμών.

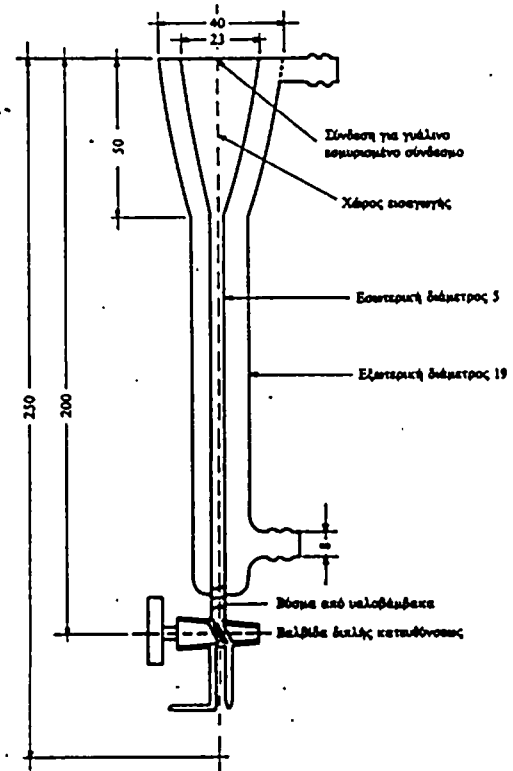
Το pH κάθε δείγματος θα πρέπει να καταγράφεται.

Ανάλυση

Μια ειδική αναλυτική μέθοδος για την ουσία προτιμάται για τους προσδιορισμούς αυτούς, αφού μικρές ποσότητες διαλυτών ξένων προσμίξεων μπορούν να προκαλέσουν μεγάλα σφάλματα στη μετρούμενη διαλυτότητα. Παραδείγματα τέτοιων μεθόδων είναι: αέρια ή υγρή χρωματογραφία, μέθοδο τιτλοδοτήσεως, φασματομετρικές μέθοδοι, βολταμετρικές μέθοδοι.

Σχίμα 2

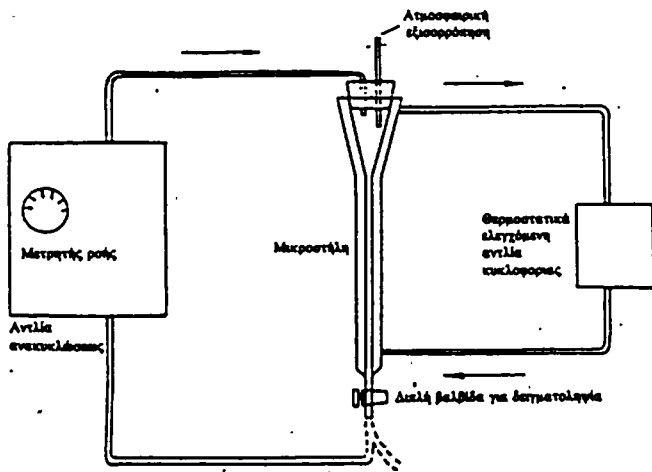
Μία τυπική μικροστίλη
(Όλες οι διαστάσεις σε mm)



Προσάρτημα

Σχίμα 1

Σχηματική διάταξη του ελέγχου



2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ
φείλιγμα, που γυήρησονται από το εμπίετο υδατοχρήσιμα.
Για κάθε κρυσθαλα θα αναλογιστεί η ήσαυτη και η ασηρήση ακογυήσιμυ κρυσταλοχρήσιμυ φηροχρήσιμυ.
- 2.1. Μέθοδος εκγύρωσής αμύγμης
- 2.2. Μέθοδος φάλλης
Τα ζερωσά ατοαλλοματα θα κρέκει να δίνονται για καθεμία από τις τρεις φάλλες και τα ατοαλλοματα εκείνα που κρήνεται ότι είναι σταθερά (εκααληπιμότητα μικρότερη του 15 %) θα κρέκει να υκολογώνται κατά μέσον όρο και να δίνονται σε μονάδες μάζας ανά όγκο διαλύματος. Αυτό μπορεί να απαιτήσεται τη μετατροπή των μονάδων μάζας σε μονάδες όγκου, χρησιμοποιώντας την πυκνότητα όταν η διαλυτότητα είναι μεγαλύτερη των 100 g/l.
3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΙΣ
- 3.1. Μέθοδος εκδόσεως στήλης
Η έκθεση κρέκει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει μια ένδειξη των αποτελεσμάτων της προκαταρκτικής δοκιμασίας και, εκαίλων, τις ακόλουθες πληροφορίες:
— ακριβή προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ξένες προσμειξείες),
— τις ατομικές συγκεντρώσεις, ταχύτητες ροής και pH κάθε δείγματος,
— τη μέση και σταθερή απόκλιση κέντε τουλάχιστον δειγμάτων από το ελικόδο κορεσμού κάθε κρυσματός,
— τον μέσο όρο δύο διαδοχικών και αποδεκτών κρυσματών,
— τη θερμοκρασία του νερού κατά τη διάρκεια της διαδικασίας κορεσμού,
— τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο αναλύσεως,
— τη φύση του χρησιμοποιούμενου υλικού κληρώσεως της στήλης,
— τη φόρση του υλικού κληρώσεως,
— τον χρησιμοποιούμενο διαλύτη,
— ενδείξεις για κάθε χημική ασάθεια της ουσίας κατά τη διάρκεια του ελέγχου και τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο, — κάθε κληροφορία σχετική με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- 3.2. Μέθοδος φάλλης
Η έκθεση κρέκει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:
— ακριβή προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ξένες προσμειξείες),
— τους εξωτερικούς αναλυτικούς προσδιορισμούς και τον μέσο όρο, όπου έχουν προδουριστεί τιμές κρυσματότητας της μιας για κάθε φάλλη,
— το pH κάθε δείγματος,
— τον μέσο όρο των τμηών για τις διάφορες φάλλες οι οποίες βρίσκονται σε συμφωνία, — τη θερμοκρασία του ελέγχου,
— τη χρησιμοποιούμενη αναλυτική μέθοδο, — ενδείξεις για κάθε χημική ασάθεια της ουσίας κατά τη διάρκεια του ελέγχου και τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο, — κάθε κληροφορία σχετική με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 105 — Decision of the Council C(81) 30 final.
(2) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 116 — Decision of the Council C(81) 30 final.

Α. 7. ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΛΙΠΟΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ

Η περιγραφόμενη μέθοδος βασίζεται στην καταγεγραμμένη δοκιμασία του ΟΟΣΑ (1).

Εισαγωγή

Είναι χρήσιμο, για την εκτέλεση της δοκιμασίας αυτής, να υπάρχει προκαταρκτική πληροφορία για το συντελεστή κατανομής, τη διαλυτότητα στο νερό, το συντακτικό τύπο και τη σταθερότητα στους 50 °C της ουσίας. Η μέθοδος είναι εφαρμόσιμη μόνο για εκείνες τις ουσίες που είναι ουσιαστικά καθαρές, οι οποίες είναι σταθερές στους 50 °C και οι οποίες δεν είναι αυθηγά κητικές κάτω από τις ίδιες συνθήκες.

Η μέθοδος δεν είναι κατάλληλη για ουσίες οι οποίες αντιδρούν με τριγλυκερίδια.

Όροι και μονάδες

Το κλάσμα μάζας μιας ουσίας, η οποία σχηματίζει μια ομοιογενή φάση με ένα υγρό λίπος (λίπιο) χωρίς να προκαλεί χημικές αντιδράσεις, ορίζεται σαν διαλυτότητα στο λίπος. Το μέγεθος αυτού του κλάσματος μάζας ονομάζεται κλάσμα μάζας κορεσμού και αυτό είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας.

Το κλάσμα μάζας κορεσμού μιας ουσίας θα δίνεται σε mg/100 g πρότυκου λίπους στους 37 °C ± 0,5 °C.

Υπάρχει η παρακάτω σχέση μεταξύ της διαλυτότητας σε g ανά 100 g διαλύματος (S') και της διαλυτότητας σε g ανά 100 g διαλύτη (S):

$$S = \frac{100 \times S'}{100 - S'}$$

Ο πολλαπλασιασμός της αξίας του S με το 1 000 είναι mg/100 g πρότυκου λίπους.

Ουσίες αναφοράς

Οι ουσίες αναφοράς δε χρειάζεται να χρησιμοποιούνται σε όλες τις περιπτώσεις που ερωτώνται μια νέα ουσία. Θα πρέπει βασικά να χρησιμοποιούνται από καιρό εις καιρό για τον έλεγχο της εκτέλεσης της μεθόδου, και για να προσφέρουν τη δυνατότητα συγκρίσεως των αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται μια άλλη μέθοδος.

Αρχή της μεθόδου

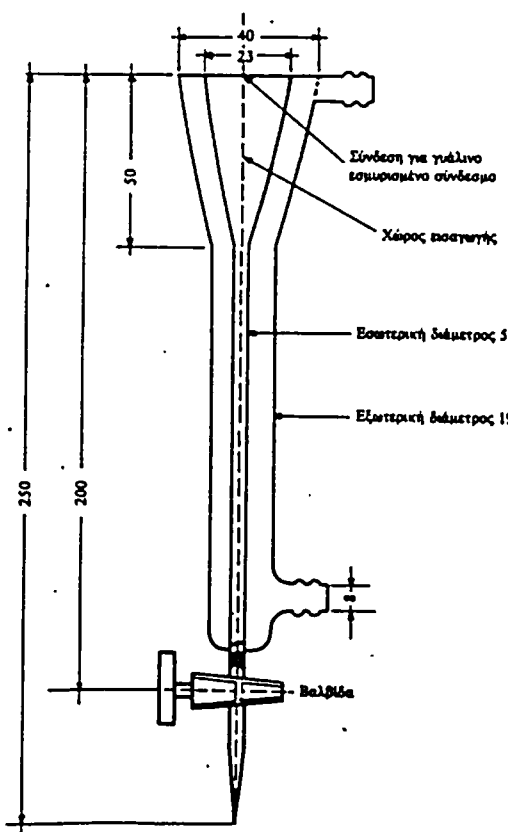
Η ουσία προστίθεται σε «πρότυπο λίπος» και αναδεύεται. Αρκετή ποσότητα της ουσίας προστίθεται ως περίσσεια ασφαλείας. Η διαλυόμενη ποσότητα της ουσίας ελέγχου προσδιορίζεται με μια κατάλληλη αναλυτική μέθοδο.

Κριτήρια ποιότητας

Ειδική εφαρμογή

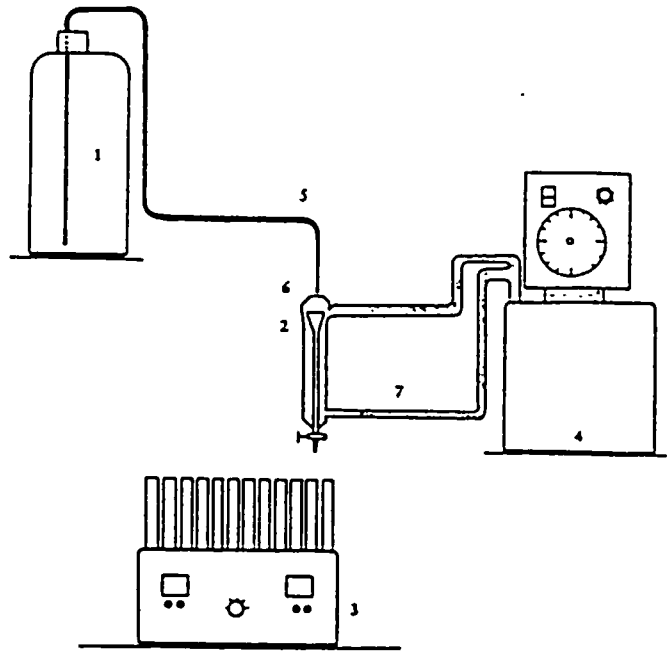
Σχήμα 3.

Μια τυπική μικροσπίλη
(Όλες οι διαστάσεις σε mm)



Σχήμα 4

Διάταξη ελέγχου για τον προσδιορισμό της διαλυτότητας στο νερό των λιγών διαλυτών, των λιγών πτητικών ουσιών



- 1 = Δοχείο στάθμησης (π.χ. χημική φιάλη 2,5 λίτρων)
- 2 = Σπύλη (βλέπε σχήμα 3)
- 3 = Κλασματικός σωλήνας
- 4 = Θερμοστάτης
- 5 = Ξελίνας από τσελόν
- 6 = Γυάλινο βάζο σφραγισμένο
- 7 = Ξελίνας νερού (μεταξύ θερμοστάτη και σπύλης, εσωτερική διάμετρος 8 mm περίπου)

Η εναεληψιμότητα της μετρήσεως είναι άγνωστη επί του παρόντος.

Τα αποτελέσματα εφεριζόντων στα πρότυκα λίπη και είναι κατάλληλα για σχετικά καθαρές ουσίες. Τα λίπη μπορούν να σχηματίζουν γαλακτώματα ή λεπτά αιωρήματα στερεών ουσιών ακόμα και στους 37 °C. Ο σχηματισμός τους θα πρέπει να αποφεύγεται επειδή επηρεάζουν τον προσδιορισμό του κλάσματος μάζας που ακολουθεί.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Προκατασκευή

1.6.1.1. Ύσκαευή

Ακαποιόνται τα ακόλουθα είδη εξοπλισμού:

- συνήθη εργαστηριακά γυάλινα είδη,
- ζυγός,
- ψυγείο με θερμοστάτη
- αναδευτήρας ο οποίος να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με ένα σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας,
- θερμοστάτης.

1.6.1.2. Πρότυκα λίπη

Η χρησιμοποιήση προστύπων λιπών είναι αναγκαία. Τα πρότυκα αυτά λίπη θα πρέπει να είναι δυνατόν να καθορίζονται εύκολα και ένα παράδειγμα ενός τέτοιου προτύπου λίπους δίνεται στο προσάρτημα.

1.6.1.3. Προκαταρκτικός έλεγχος

Θα πρέπει να εκτελεστεί ένας απλοποιημένος προκαταρκτικός έλεγχος για να προσδιορίζεται η κατά προσήγγιση ποσότητα της ουσίας που είναι αναγκαία για την αποκατάσταση του κλάσματος μάζας κορεσμού στη θερμοκρασία του ελέγχου (37 °C).

Σημείωση

Στην περίπτωση στερεών ουσιών, η ταχύτητα αποκαταστάσεως της ισορροπίας κορεσμού μπορεί να εξαρτάται σημαντικά από το μέγεθος των σωματιδίων. Γι' αυτό το λόγο, τέτοιου είδους υλικά θα πρέπει να κονοποιούνται.

1.6.1.4. Προκατασκευή της ουσίας

Οκτώ δείγματα ζυγίζονται μέσα σε φιάλες των 50 ml. Κανονικά, καθένα θα πρέπει να είναι η δαλάσια ποσότητα από αυτή που είναι αναγκαία για τον κορεσμό, όπως έχει προσδιοριστεί στην προκαταρκτική δοκιμασία.

Μετά από την προσθήκη μιας ζυγισμένης ποσότητας περίπου 25 g υδροποιημένου και αναμιχθέντος πρότυπου λίπους, οι φιάλες με προσαρμωμένους τους αναδευτήρες κλίνονται καλά με γυάλινα ελαφρώς κωνικά κάπια. Τα μισά (ομάδα I) αναδύονται στους 30 °C, και τα άλλα μισά (ομάδα II) στους 50 °C περίπου, για μία ώρα τουλάχιστον το καθένα.

1.6.2. Συνθήκες ελέγχου

Ο προσδιορισμός της διαλυτότητας στο λίπος διεξάγεται στους 37 °C ± 0,5 °C.

Πορεία μετρήσεως

Το περιζόμενο των φιαλών και στις δύο ομάδες αναδύεται στους 37 °C ± 0,5 °C μέχρι τέλει αναμιξεως.

Ο χρόνος αναδέσεως που απαιτείται για να αποκατασταθεί η ισορροπία δεν μπορεί γενικά να προλεχθεί. Στην περίπτωση υγρών ουσιών, ο κορεσμός μπορεί να επιτευχθεί μέσα σε λεπτά. Στην περίπτωση στερεών ουσιών, μπορεί να απαιτήσει ώρες. Γενικά, δεν απαιτείται ανάδευση πάνω από τρεις ώρες. Μία από το χρόνο αυτό, η ανάδευση σε δύο από τις φιάλες και των δύο ομάδων θα σταματήσει και οι δύο αυτές φιάλες θα παραμείνουν τουλάχιστον μία ώρα στους 37 °C, για να αποχωριστεί η αδιάλυτη ποσότητα της ουσίας και να σχηματιστεί ομογενής φάση. Στην περίπτωση σχηματισμού γαλακτώματος ή αιωρήματος (π.χ. φαινόμενο Tyndall), αυτό πρέπει να απομακρύνεται με μια κατάλληλη μέθοδο, όπως η θερμοστατούμενη ψυγοκέντρηση.

Η τρίτη και τέταρτη φιάλη και στις δύο ομάδες θα πρέπει να αναδύονται για τουλάχιστον 24 ώρες πριν από την παραμονή τους για μία ώρα στους 37 °C ± 0,5 °C.

Σημείωση

Εάν δεν έχει σχηματιστεί ίζημα στο βυθό (για τις στερεές ουσίες) ή εάν (για τις υγρές ουσίες) δε συμβεί διαχωρισμός φάσεων μετά από αυτή την περίοδο, ο έλεγχος πρέπει να επαναλαμβάνεται με μεγαλύτερη ποσότητα ουσίας.

1.6.4. Ανάλυση

Λαμβάνεται για ανάλυση ένα δείγμα από καθενιά κορεσμένη σε λίκος φάση. Το δείγμα ζυγίζεται και προσδιορίζεται το κλάσμα μάζας.

Μπορεί να εφαρμόζεται κάθε κατάλληλη αναλυτική μέθοδος είτε απευθείας είτε μετά από εκχύλιση με νερό ή έναν οργανικό διαλύτη είτε με οποιαδήποτε άλλη τεχνική διαχωρισμού.

Παραδείγματα τέτοιων μεθόδων είναι:

- φασματοφωτομετρία,
- αέρια ή υγρή χρωματογραφία,
- βολτεμετρία.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Εάν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα, είτε από υπο-ή υπερχορεσμό είτε από σύνομιες και μακρές χρονικές περιόδους, ο έλεγχος θα πρέπει να επαναλαμβάνεται με μακρύτερους χρόνους αναδέσεως.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

Οι ακόλουθες πληροφορίες πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνονται στην έκθεση ελέγχου:

- ακριβής προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ξένες προσμίξεις),
- ακριβής προδιαγραφή του λίπους (π.χ. περιγραφή, χαρακτηριστικά, προέλευση, σύνθεση),
- μέθοδος ανάλυσεως, αποκλίσεως και ειδικά χαρακτηριστικά.

Τα αποτελέσματα πρέπει να εκτιμώνται όπως περιγράφεται παραπάνω και αποτελούν μέρος της εκθέσεως ελέγχου. Εάν δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων τμηών που περιπαρο- υνται σε χλωστό του γραμμαρίου ανά 100 γραμμάρια, θα πρέπει να αναφέρονται οι εξαρτητές τιμές, η

μψη τιμή και η σταθερή απόκλιση. Εάν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, ακόμα και μετά την επανάληψη του ελέγχου, τότε θα πρέπει να αναφέρονται μόνο τα ξεχωριστά αποτελέσματα

— κάθε πληροφορία και παρατηρήσεις, σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, θα πρέπει να αναφέρονται.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 116 — Decision of the Council C(81) 30 final.

Προσάρτημα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΓΙΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΛΙΠΗ

Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τη σύνθεση ενός τυπικού πρότυπου λίπους.

Κατανομή λιπαρού οξέως	6	8	10	12	14	16	18	έτερα
Αριθμός ατόμων C στο τμήμα του λιπαρού οξέως	6	8	10	12	14	16	18	έτερα
Εμφάνειος GLC (%)	0,5	7,5	10,3	50,4	13,9	7,6	8,6	1

Κατανομή γλυκεριδίων	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	50
Ολικός αριθμός ατόμων C στα τμήματα των λιπαρών οξέων	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	50
Εμφάνειος GLC (%)	0,1	0,3	1,0	2,3	4,9	10,9	13,9	21,1	16,1	11,7	9,8	4,4	2,2	1,1	0,2

Καθαρότητα

- ρεκτικότητα σε μονογλυκερίδιο (ενζυματικά) $\leq 0,1 \%$
- Περεκτικότητα σε διγλυκερίδιο (ενζυματικά) $\leq 0,4 \%$
- Περεκτικότητα σε ασαπωνοζότητα $\leq 0,1 \%$
- Αριθμός Wjts $\leq 0,5$
- Αριθμός οξέως 0,02
- Περεκτικότητα σε νερό (K. Fischer) $\leq 0,1 \%$
- Διαυγές σημείο τήξεως 28,5 °C

Τυπικό φάσμα απορρόφησης (πλάτος στοίβαδας $d = 1$ cm, σύγκριση: νερό, 35 °C)

Μήκος κύματος (nm)	290	310	330	350	370	390	430	470	510
Διαπερατότητα (%)	2	15	37	64	80	88	95	97	98

Τουλάχιστον 10 % διαπερατότητα φωτός στα 303 nm

Αυτό το υποκατάστατο λίπους είναι ένα συνθετικό μέγμα κορεσμένων τριγλυκεριδίων με ένα λιπαρό οξύ και με κατανομή τριγλυκεριδίου όμοια με αυτή του λίπους του κοκκοκάρυδου.

A. 8. ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Η περιγραφόμενη μέθοδος βασίζεται στην καταβύθιση δοκιμασία του ΟΟΣΑ (1).

Εισαγωγή

Είναι χρήσιμο να υπάρχει προκαταρκτική πληροφορία για τη σταθερά διαστάσεως, τη διαλυτότητα στο νερό και την επιφανειακή τάση της ουσίας, προκειμένου να εκτελεστεί ο έλεγχος αυτός.

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται μόνο στη βασικά καθαρή ουσία που είναι διαλυτή στο νερό και στην οκτανόλη. Δεν έχει εφαρμογή για τις επιφανειακά ενεργούς ουσίες.

1.2. Ορισμοί και μονάδες

Ο συντελεστής κατανομής (P) ορίζεται σαν ο λόγος των συγκεντρώσεων ισορροπίας (c) μιας διαλυμένης ουσίας σε ένα θραυστικό σύστημα, που αποτελείται από διαλύτες οι οποίοι δεν αναμιγνύονται καθόλου.

Στην περίπτωση η-οκτανόλης και νερού

$$P_{ov} = \frac{C_{οκτανόλης}}{C_{νερού}}$$

Ο συντελεστής κατανομής (P), λοιπόν, είναι το κλάσμα των δύο συγκεντρώσεων και συνήθως δίνεται υπό τον τύπο του δεκαδικού του λογαρίθμου (log P).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Οι ουσίες αναφοράς δε χρειάζεται να χρησιμοποιούνται σε όλες τις περιπτώσεις όταν ερευνάται μία νέα ουσία. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται πρώτα για τον έλεγχο από καιρού σε καιρού της εκτέλεσής της μεθόδου και για να προσφέρουν τη δυνατότητα συγκρίσεως των αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται μία άλλη μέθοδος.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Προκειμένου να προσδιοριστεί ο συντελεστής κατανομής, πρέπει να επιτευχθεί ισορροκία μεταξύ όλων των συστατικών του συστήματος που αλληλοεκτιδρούν και πρέπει να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις των διαλυμένων ουσιών στις δύο φάσεις. Μία μελέτη της βιβλιογραφίας, σ' αυτό το θέμα δείχνει ότι υπάρχουν πολλές και διάφορες τεχνικές, οι οποίες μπορεί να χρησιμοποιηθούν για να λυθούν αυτό το πρόβλημα, π.χ. η κλίση ανάμειξη των δύο φάσεων, που ακολουθείται από το χωρισμό τους, για να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις ισορροπίας της ουσίας που εξετάζεται.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

1.5.1. Επαναληψιμότητα

Με σκοπό την εξασφάλιση της ακρίβειας του συντελεστή κατανομής, εκτελούνται διελαι προσδιορισμοί κάτω από τρεις διαφορετικές συνθήκες ελέγχου, υπό τις οποίες τόσο η ποσότητα της ουσίας που εξετάζεται όσο και ο λόγος των όγκων του διαλύτη μπορούν να διαφέρουν. Οι προσδιοριζόμενες τιμές του συντελεστή κατανομής, που εφεύρονται σαν οι κοινοί λογάριθμοί τους, θα πρέπει να εμπίπτουν σε μία περιοχή $\pm 0,3$ μονάδων log.

1.5.2. Επισιθσία

Η κριτική μετρήσεως της μεθόδου προσδιορίζεται από το όριο ανιχνεύσεως της αναλυτικής ποσότητας. Αυτό θα μπορούσε να είναι αρκετό για να επιτρέψει την επίσημη τιμών του P_{ov} μέχρι 10⁵, όταν η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας, σε καθαμία από τις φάσεις, δεν είναι μεγαλύτερη του 0,01 mol/l.

- την προκαταρκτική εκτίμηση του συντελεστή κατανομής (βλέπε ανωτέρω),
 - την ελάχιστη ποσότητα που απαιτείται από τη δοκιμαζόμενη ουσία για την αναλυτική διαδικασία, και
 - τον περιορισμό μιας μέγιστης συγκέντρωσας και στις δύο φάσεις 0,01 mol/l.
- Διεξάγονται τρεις ελέγχοι. Στον πρώτο προστίθεται η υκολογραφείσα αναλογία όγκου. Στον δεύτερο προστίθεται δύο φορές ο όγκος *n*-οκτανόλης και στον τρίτο προστίθεται ο μισός όγκος *n*-οκτανόλης.

1.6.2.3. Ελεγχόμενη ουσία

Για την ισορροπία υλικού κατά τη διάρκεια του ελέγχου, παρασκευάζεται ένα αρχικό διάλυμα σε *n*-οκτανόλη με μια συγκέντρωση μάζας μεταξύ 1 και 100 mg/ml. Η συγκέντρωση μάζας του διαλύματος αυτού θα πρέπει να προσδιορίζεται επακριβώς πριν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής. Το διάλυμα αυτό θα πρέπει να φυλάσσεται κάτω από σταθερές συνθήκες.

1.6.3. Συνθήκες ελέγχου

Η θερμοκρασία του ελέγχου θα πρέπει να διατηρείται σταθερή ($\pm 1^\circ\text{C}$) και να ευρίσκεται στην περιοχή από 20 μέχρι 25 $^\circ\text{C}$.

1.6.4. Πορεία μετρήσεως

1.6.4.1. Αποκατάσταση της ισορροπίας κατανομής

Για καθένα από τις συνθήκες ελέγχου θα πρέπει να ετοιμάζονται διατάξι δοχεία ελέγχου που να περιέχουν τις απαιτούμενες και ακριβώς μετρήσιμες ποσότητες των δύο διαλυτών, μαζί με την αναγκαία ποσότητα του αρχικού διαλύματος.

Τα μέρη της οκτανόλης θα πρέπει να μετρούνται κατ' όγκον. Τα δοχεία του ελέγχου θα πρέπει είτε να τοποθετούνται σε ένα κατάλληλο τράκτρο είτε να ταράσσονται με το χέρι. Μία μίξουρα που συνιστάται είναι να περιστρέφεται ο σωλήνας ψυχοκεντρικής γρήγορα κατά 180° περί τον οριζόντιο άξονα, έτσι ώστε κάθε περιδεμένος αέρας να ανέρχεται διά μέσου των δύο φάσεων.

1.6.4.2. Χωρισμός φάσεων

Προκειμένου να χωριστούν οι φάσεις θα πρέπει να γίνει ψυχοκέντρωση του μίγματος. Αυτό θα μπορούσε να γίνει σε μια ψυχοκέντρο εργαστηρίου, που να διατηρείται στη θερμοκρασία του δοματίου, ή, εάν χρησιμοποιείται μια ψυχοκέντρος όχι ελεγχόμενης θερμοκρασίας, οι σωλήνες ψυχοκεντρικής θα πρέπει να ζεσταίνονται στη θερμοκρασία του ελέγχου για μία ώρα τουλάχιστον πριν από την ανάλυση.

1.6.5. Ανάλυση

Για τον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής είναι αναγκαίο να προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας και στις δύο φάσεις. Αυτό μπορεί να γίνει λαμβάνοντας ένα μέρος από καθένα από τις δύο φάσεις του κάθε σωλήνα για καθένα συνθήκη ελέγχου και κόνιαντας ανάλογη σ' αυτή με τη διαδικασία που έχει επιλεγεί. Η ολική ποσότητα της ουσίας που ευρίσκεται και στις δύο φάσεις θα πρέπει να υκολογείται και να συγκρίνεται με την ποσότητα της ουσίας που είχε εισαχθεί αρχικά.

Η υδατική φάση θα πρέπει να δειγματοληφτεί με μια διαδικασία η οποία να ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο να περιέλθει ίχνη οκτανόλης. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια γυάλινη σύριγγα με μια αποσώματη βελόνα για τη δειγματοληψία της υδατικής φάσεως. Η σύριγγα θα πρέπει αρχικά να γυμνάζεται με αέρα. Ο αέρας θα πρέπει να εκδύεται σταγ., ενώ θα βυθίζεται η βελόνα στη στήλη οκτανόλης. Κατάλληλος όγκος υδατικής φάσεως εισάγεται στη σύριγγα. Η σύριγγα αποσώματη γρήγορα από το διάλυμα και η βελόνα αποσπάται. Τα περιεχόμενα της σύριγγας μπορούν τότε να χρησιμοποιηθούν σαν το υδατικό δείγμα. Η συγκέντρωση στις δύο χωριστές φάσεις θα πρέπει να προσδιορίζεται κατά πρότυπη με μία

1.5.3. Ειδική εφαρμογή

Ο νόμος κατανομής του Νεπαι εφαρμόζεται μόνο σε σταθερή θερμοκρασία, πίεση και pH για αραιά διαλύματα. Εφαρμόζεται αυστηρά για μια καθαρή ουσία, διασπαρμένη μεταξύ δύο καθαρών διαλυτών. Εάν συμβούν μερικές διαφορετικές διαλύσεις της ουσίας συγγράφως σε μία ή και στις δύο φάσεις, αυτό μπορεί να ελλοιώσει τα αποτελέσματα.

Κατά παρέκκλιση από το νόμο κατανομής του Νεπαι, συμβαίνει διάσταση ή συσσωμάτωση των διαλυμένων μορφών. Τέτοιες αποκλίσεις καταδεικνύονται από το γεγονός ότι ο συντελεστής κατανομής καταλήγει να εξαρτάται από τη συγκέντρωση του διαλύματος.

Εξαιτίας της κολλητικής ισορροπίας που περικλείει αυτή η μέθοδος ελέγχου, δε θα έπρεπε να εφαρμόζεται σε ιοντικές ενώσεις χωρίς να γίνεται διόρθωση. (Θα πρέπει να γίνεται χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων αντί του νερού για τέτοιες ουσίες).

1.6. Πιπρωτική της μέτρησης

1.6.1. Προκαταρκτική εκτίμηση του συντελεστή κατανομής

Η τιμή του συντελεστή κατανομής μπορεί να εκτιμηθεί είτε με τον τρόπο του απλού υκολογισμού (2) είτε με τη χρήση των διαλυτοτήτων της ελεγχόμενης ουσίας στους καθαρούς διαλύτες (1).

Γ' αυτό,

$$P_{\text{υκολογισμός}} = \frac{\text{κορεσμός ελαστοπλά}}{\text{κορεσμός } C_{\text{αφού}}}$$

Εναλλακτικά, μπορεί να προσδιορισθεί χονδρικά με την εκτέλεση ενός απλοποιημένου προκαταρκτικού ελέγχου.

1.6.2. Προπαρασκευή

n-οκτανόλη: Ο προσδιορισμός του συντελεστή κατανομής διεξάγεται με αντιδραστήρια υψηλού βαθμού καθαρότητας.

Νερό: πρέπει να χρησιμοποιείται απεσταγμένο ή διπλά απεσταγμένο νερό από γυάλινη ή πλαστική συσκευή.

Σημείωση:

Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται νερό που λαμβάνεται απευθείας από ιοντοαλλαγή.

1.6.2.1. Προκορεσμός των διαλυτών

Πριν από τον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής, οι φάσεις του συστήματος των διαλυτών κορύνονται αμοιβαία με ανατάραξη στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Για να γίνει αυτό, είναι πρακτικό δύο μεγάλες φιάλες αποθηκεύσεως με υψηλό βαθμό αναλυτικής καθαρότητας *n*-οκτανόλη ή νερό, η κάθε μία με αρκετή ποσότητα από τον άλλο διαλύτη, να αναταράσσονται για 24 ώρες με ένα μηχανικό τράκτρο και μετά να αφήνονται σε ηρεμία για αρκετό χρόνο, μέχρι να χωριστούν οι φάσεις και να εισαχθεί μία κατάσταση κορεσμού.

1.6.2.2. Προπαρασκευή για τον έλεγχο

Ο συνολικός όγκος του βραχυκού συστήματος θα πρέπει να γυμνάζεται από το δοχείο ελέγχου. Αυτό θα βοηθήσει στο να προλαμβάνεται απέχθεια του υλικού που να οφείλεται σε κτητικότητα. Η αναλογία όγκου και οι ποσότητες της ουσίας που χρησιμοποιούνται καθορίζονται από τα κατωτέρω:

Α. 9. ΣΗΜΕΙΟ ΑΝΑΦΛΕΞΕΩΣ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Είναι χρήσιμο να έχουμε προκαταρκτική πληροφορία για την αναφλεξιμότητα της ουσίας, προκειμένου να εκτελέσουμε τον έλεγχο αυτό. Η μέθοδος ελέγχου είναι εφαρμοσμένη για τις υγρές ουσίες, στη μορφή που κυκλοφορούν, των οποίων οι ατμοί μπορούν να αναφεθούν με πηγές αναφλέξεως. Οι περιγραφόμενες μέθοδοι ελέγχου σ' αυτό το κείμενο είναι αξιόπιστες μόνο για τις περιπτώσεις των σημείων αναφλέξεως οι οποίες καθορίζονται σε ξεχωριστές μεθόδους.

1.2. Ορισμοί και μονάδες

Το σημείο αναφλέξεως είναι η χαμηλότερη θερμοκρασία, διορθωμένη σε μια πίεση 101,325 kPa, στην οποία το ελεγχόμενο υγρό, σε κλειστό δοχείο ελέγχου, εκκίετα ατμούς, κάτω από τις συνθήκες που έχουν καθοριστεί στη μέθοδο ελέγχου, σε τέτοια ποσότητα ώστε να καρφάται στο δοχείο ελέγχου ένα αναφλέξιμο μείγμα ατμών/αέρα.

Μονάδες: °C

$t = T - 273,15$

όπου t σε °C και T σε K.

1.3. Ουσίες αναφορές

Δε χρειάζεται να χρησιμοποιηθούν ουσίες αναφορές σε όλες τις περιπτώσεις όταν ερωτώνται μια νέα ουσία. Θα πρέπει πρωταρχικά να χρησιμοποιούν από καιρού σε καιρό για τη βαθμύληση της μεθόδου, και για να προσφέρουν μια ευκαρια σύγκριση των αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται μια άλλη μέθοδος.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η ουσία τοποθετείται σε ένα δοχείο ελέγχου το οποίο θερμαίνεται προοδευτικά μέχρις ότου οι ατμοί φθάσουν σε μια αρκετά μεγάλη συγκέντρωση στον αέρα για να παραγάγουν ένα εψωλεκτο μείγμα, το οποίο να μπορεί να αναφλεγεί.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

1.5.1. Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα κοιτάζει σύμφωνα με την περιοχή του σημείου αναφλέξεως και τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο ελέγχου, μέγιστο ± 2 °C.

1.5.2. Ευσταθία

Η ευσταθία εξαρτάται από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο ελέγχου.

1.5.3. Ειδική εφαρμογή

* Η ειδική εφαρμογή μερικών μεθόδων ελέγχου περιορίζεται σε μερικές περιπτώσεις σημείων αναφλέξεως και υπόκειται σε δεδομένα σχετικά με την ουσία (π.χ. υψηλό ιξώδες).

ειδική για την ουσία μέθοδο. Παραδείγματα φυσικοχημικών προσδιορισμών, που μπορεί να είναι κατάλληλα, είναι:

- φωτομετρικές μέθοδοι,
- αέρια χρωματογραφία,
- υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Εάν ο μετρητής P_{ov} είναι μεγαλύτερος του 10^4 , συνιστάται να συγκρίνονται τα αποτελέσματα με μία τιμή P_{ov} εξ' υπολογισμού, όπως π.χ. με εκείνη που λαμβάνεται με τη μέθοδο που δίδεται στη βιβλιογραφία (3).

Η αξιοπιστία των τιμών του P που προσδιορίθηκαν μπορεί να ελεγχθεί με τη σύγκριση των μέσων τιμών των διαπλών προσδιορισμών με τη συνολική μέση τιμή.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Στην έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες:

- ακριβής προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ξένες προσμίξεις),
- θερμοκρασία προσδιορισμού,
- δεδομένα της αναλυτικής πορείας που χρησιμοποιήθηκαν στον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων,
- οι μετρήσεις συγκεντρώσεως και στις δύο φάσεις για κάθε προσδιορισμό (αυτό σημαίνει ότι θα αναφερθεί ένα σύνολο δώδεκα συγκεντρώσεων),
- το βάρος της ελεγχόμενης ουσίας, ο όγκος κάθε φάσεως που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε δοχείο του ελέγχου και η υπολογισθείσα συνολική ποσότητα της ελεγχόμενης ουσίας που είναι παρούσα σε κάθε μία φάση μετά την ισορρόπηση,
- θα πρέπει να αναφέρονται οι υπολογισθείσες τιμές του συντελεστή κατανομής (P) και η μέση τιμή για κάθε δέσμη συνθηκών ελέγχου, όπως και η μέση τιμή για όλους τους προσδιορισμούς. Εάν υπάρχει ένας υπαίτινος εξαρτήσεως του συντελεστή κατανομής από τη συγκέντρωση, αυτό θα πρέπει να σημειωθεί στην έκθεση.
- θα πρέπει να αναφέρεται η σταθερή απόκλιση των ατομικών τιμών P από τη μέση τιμή,
- η μέση τιμή P από όλους τους προσδιορισμούς θα πρέπει, επίσης, να εκφράζεται σαν ο δεκαδικός της λογάριθμος,
- ο θεωρητικά υπολογισθείς P_{ov} όταν αυτή η τιμή έχει προσδιοριθεί ή όταν η μετρηθείσα τιμή είναι $> 10^4$,
- το pH του νερού που χρησιμοποιήθηκε και της υδατικής φάσεως κατά τη διάρκεια του περιβάλλοντος,
- κάθε πληροφορία και παρατηρήσεις σχετικά με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 107 — Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 107, ref. (2) — Decision of the Council C(81) 30 final.
- (3) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 107, ref. (10) — Decision of the Council C(81) 30 final.

- 1.6. Περύτρεψη της μεθόδου
- 1.6.1. Προετοιμασίες
- Δείγμα της ελεγχόμενης ουσίας τοποθετείται σε μία συσκευή ελέγχου σύμφωνα με το σημείο 1.6.3.1 ή/και με το σημείο 1.6.3.2.
- 1.6.2. Συνθήκες ελέγχου
- Η συσκευή τοποθετείται, κατά προτίμηση, μακριά από ρεύματα αέρα.
- 1.6.3. Εκτέλεση του ελέγχου
- 1.6.3.1. Μέθοδος ισορροπίας
- Βλέπε πρότυπα ISO 1516, ISO 3680, ISO 1523, και ISO 3679.
- 1.6.3.2. Μέθοδος μη ισορροπίας
- Συσκευή Abel:
- Βλέπε πρότυπα BS 2000, μέρος 170, NF M07-011 και NF T66-009
- Συσκευή Abel-Pensky:
- Βλέπε πρότυπα (EN 57), DIN 51755 μέρος 1 (για θερμοκρασίες από 5° έως 65 °C), DIN 51755 μέρος 2 (για θερμοκρασία κάτω των 5 °C) και NF M07-036.
- Συσκευή Tag:
- Βλέπε πρότυπα ASTM D 56 και ISO 2719.
- Συσκευή Pensky — Martens:
- Βλέπε πρότυπα ISO 2719, (EN 11), DIN 51758, ASTM 8013, ASTM D 93, BS 2000-34 και NF M07-019.
- Παρατηρήσεις
- Όταν το σημείο αναφλέξεως, που προσδιορίζεται με μία μέθοδο μη ισορροπίας στο σημείο 1.6.3.2 ευρεθεί να είναι:
- $0 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $21 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $55 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$,
- θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με μία μέθοδο ισορροπίας, με τη χρησιμοποίηση της ίδιας συσκευής.
- Μόνο οι μέθοδοι οι οποίες μπορούν να δώσουν τη θερμοκρασία του σημείου αναφλέξεως μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μια γνωστοποίηση.
- Για τον προσδιορισμό του σημείου αναφλέξεως υγρών υφλών υγρών (βασικά, κόκκινα και κεφάλαια) που περιέχουν διαλύτες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο συσκευές και μέθοδοι ελέγχου κατάλληλες για τον προσδιορισμό του σημείου αναφλέξεως υγρών υφλών υγρών. Βλέπε πρότυπα ISO 3679, ISO 3680, ISO 1523 και DIN 5213, μέρος 1.
2. ΔΕΛΟΜΕΝΑ
3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ
- 1.6. Περύτρεψη της μεθόδου
- 1.6.1. Προετοιμασίες
- Δείγμα της ελεγχόμενης ουσίας τοποθετείται σε μία συσκευή ελέγχου σύμφωνα με το σημείο 1.6.3.1 ή/και με το σημείο 1.6.3.2.
- 1.6.2. Συνθήκες ελέγχου
- Η συσκευή τοποθετείται, κατά προτίμηση, μακριά από ρεύματα αέρα.
- 1.6.3. Εκτέλεση του ελέγχου
- 1.6.3.1. Μέθοδος ισορροπίας
- Βλέπε πρότυπα ISO 1516, ISO 3680, ISO 1523, και ISO 3679.
- 1.6.3.2. Μέθοδος μη ισορροπίας
- Συσκευή Abel:
- Βλέπε πρότυπα BS 2000, μέρος 170, NF M07-011 και NF T66-009
- Συσκευή Abel-Pensky:
- Βλέπε πρότυπα (EN 57), DIN 51755 μέρος 1 (για θερμοκρασίες από 5° έως 65 °C), DIN 51755 μέρος 2 (για θερμοκρασία κάτω των 5 °C) και NF M07-036.
- Συσκευή Tag:
- Βλέπε πρότυπα ASTM D 56 και ISO 2719.
- Συσκευή Pensky — Martens:
- Βλέπε πρότυπα ISO 2719, (EN 11), DIN 51758, ASTM 8013, ASTM D 93, BS 2000-34 και NF M07-019.
- Παρατηρήσεις
- Όταν το σημείο αναφλέξεως, που προσδιορίζεται με μία μέθοδο μη ισορροπίας στο σημείο 1.6.3.2 ευρεθεί να είναι:
- $0 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $21 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $55 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$,
- θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με μία μέθοδο ισορροπίας, με τη χρησιμοποίηση της ίδιας συσκευής.
- Μόνο οι μέθοδοι οι οποίες μπορούν να δώσουν τη θερμοκρασία του σημείου αναφλέξεως μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μια γνωστοποίηση.
- Για τον προσδιορισμό του σημείου αναφλέξεως υγρών υφλών υγρών (βασικά, κόκκινα και κεφάλαια) που περιέχουν διαλύτες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο συσκευές και μέθοδοι ελέγχου κατάλληλες για τον προσδιορισμό του σημείου αναφλέξεως υγρών υφλών υγρών. Βλέπε πρότυπα ISO 3679, ISO 3680, ISO 1523 και DIN 5213, μέρος 1.
2. ΔΕΛΟΜΕΝΑ
3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
- Καμία.
- A. 10. ΑΝΑΦΛΕΞΙΜΟΤΗΤΑ (ΣΤΕΡΕΑ)
1. ΜΕΘΟΔΟΣ
- 1.1. Εισαγωγή
- Είναι χρήσιμο να υπάρχει προκαταρκτική πληροφορία για τις δυναμικές εκρηκτικές ιδιότητες της ουσίας, πριν από την εκτέλεση του ελέγχου αυτού.
- Η μέθοδος αυτή θα μπορούσε να εφαρμοστεί μόνο για τις ουσίες με μορφή σκόνης, κόκκων και κόκκων.
- Για να μην περιληφθούν όλες οι ουσίες που μπορούν να αναφλεγούν, αλλά μόνον εκείνες που μπορούν να καούν γρήγορα ή εκείνες των οποίων η συμπεριφορά στο κάψιμο είναι κατά κάποιο τρόπο ιδιαίτερα επικίνδυνη, θεωρούνται ότι είναι λίαν αναφλέξιμες μόνον οι ουσίες των οποίων η ταχύτητα καύσεως υπερβαίνει μια κάποια περιωριστική τιμή. Επιπλέον, οι μεταλλικές σκόνης, οι οποίες μπορούν να πυρακτωθούν, θα πρέπει επίσης να θεωρούνται ότι είναι λίαν αναφλέξιμες, εάν η πυράκτωση εκτείνεται σ' όλο το δείγμα. Τέτοια πυράκτωση και οι σχετικές διακολλές στο σβήσιμο μιας φωτιάς είναι ο κύριος λόγος για το ότι οι μεταλλικές σκόνης είναι ιδιαίτερα επικίνδυνες. Κανονικοί παράγοντες αποσβέσεως, όπως το διοξείδιο του άνθρακα ή/και το νερό, μπορούν να αυξήσουν σημαντικά τον κίνδυνο.
- Ορισμοί και μονάδες
- Χρόνος καύσεως εκπερασμένος σε δευτερόλεπτα.
- Ουσίες αναφοράς
- Δεν έχουν προσδιοριστεί.
- Αρχή της μεθόδου
- Η ουσία στην εμπορική της μορφή μορφοκοιτάει σε στήλη 250 mm μήκους. Τότε γίνεται προαπόβαση ενσώσεως του δείγματος υπό τις συνθήκες που καθορίζονται στο σημείο 1.6.3 και μετράται ο χρόνος καύσεως.
- Κριτήρια ποιότητας
- Περύτρεψη της μεθόδου

1.6.1. Προετοιμασία

Στην περίπτωση ουσιών με μορφή σκόνης ή κόκκων, το προϊόν, στην εμπορική του μορφή, χύνεται χαλαρά σ' ένα καλούδι. Το καλούδι είναι κατασκευασμένο από μέταλλο, έχει μήκος 250 mm και τμήμα τριγωνικής τομής εσωτερικού ύψους 10 mm και εσωτερικού πλάτους 20 mm. Σε αμφότερες τις πλευρές του καλούδιου, στην κατά μήκος διάβρωση, συνδέονται δύο μεταλλικά φύλλα σαν πλευρικά όρια, τα οποία προβάλλονται 2 mm πάνω από το άνω άκρο του τριγωνικού τμήματος (βλέπε σχήμα). Το καλούδι αφήνεται μετά να πιάσει τρεις φορές από ύψος 2 cm πάνω σε μία στερεή επιφάνεια. Εάν είναι αναγκαίο, το καλούδι συμπληρώνεται με την ουσία.

Τότε τα πλευρικά όρια αφαιρούνται και η περίσσεια της ουσίας απομακρύνεται με ζύσιμο. Ένας άνωστος και όχι κορώδης δίσκος τοποθετείται στην κορυφή του καλούδιου, η ουσιακή αναστρέφεται και το καλούδι απομακρύνεται.

Οι ουσίες με μορφή πάστας απλώνονται πάνω σε μια άκαυστη επιφάνεια σε σχήμα σχοινού, μήκους 250 mm με τομή 1 cm² περίπου.

Χρησιμοποιείται οποιαδήποτε κατάλληλη πηγή εντάσεως, όπως μία μικρή φλόγα ή ένα θερμό σώμα ελάχιστης θερμοκρασίας 1000 °C για την έναυση της στήλης στο ένα άκρο.

1.6.2. Συνθήκες ελέγχου

Στην περίπτωση ουσίας ευαίσθητης στην υγρασία, ο έλεγχος θα πρέπει να διεξάγεται όσο το δυνατόν γρηγορότερα μετά την απομάκρυνσή της από το δοχείο.

1.6.3. Εκτέλεση του ελέγχου

Ανάβεται το ένα άκρο της στήλης. Όταν η στήλη έχει καεί σε μήκος 80 mm, μετράται η ταχύτητα καύσεως για τα επόμενα 100 mm. Ο έλεγχος εκτελείται έξι φορές, χρησιμοποιώντας κάθε φορά έναν καθαρό ψυχρό δίσκο.

2.

ΔΕΛΟΜΕΝΑ

Για την εκτίμηση, είναι αναγκαίες οι τιμές του χρόνου καύσεως που προσδιορίζονται μέσα σε έξι ελέγχους.

3.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1.

Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- την ακριβή προδιαγραφή της ουσίας (καυτότητα και ζώνες προσαμίξεως),
- περιγραφή της ουσίας που πρόκειται να ελεγχθεί και φυσική κατάσταση, συμπεριλαμβανομένης της περιεκτικότητας σε υγρασία,
- το αποτέλεσμα της μετρήσεως,
- κάθε πρόσθετη πληροφορία σχετική με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Ερμηνεία του αποτελέσματος

Ουσίες υπό μορφή σκόνης, κόκκων ή πάστας θεωρούνται ως λαν αναμείγμα, όταν ο χρόνος καύσεως σε έναν από τους έξι ελέγχους που έχουν διεξαχθεί, σύμφωνα με τη διαδικασία του ελέγχου που περιγράφεται στο σημείο 1.6, είναι μικρότερος των 45 δευτερολέπτων. Σκόνης μετάλλων ή μεταλλικά κράματα θεωρούνται ότι είναι λαν αναμείγμα, όταν μπορούν να ανώσουν και η φλόγα ή η ζώνη αντίδρασης εξαπλώνεται πάνω στο σύνολο του δείγματος.

4.

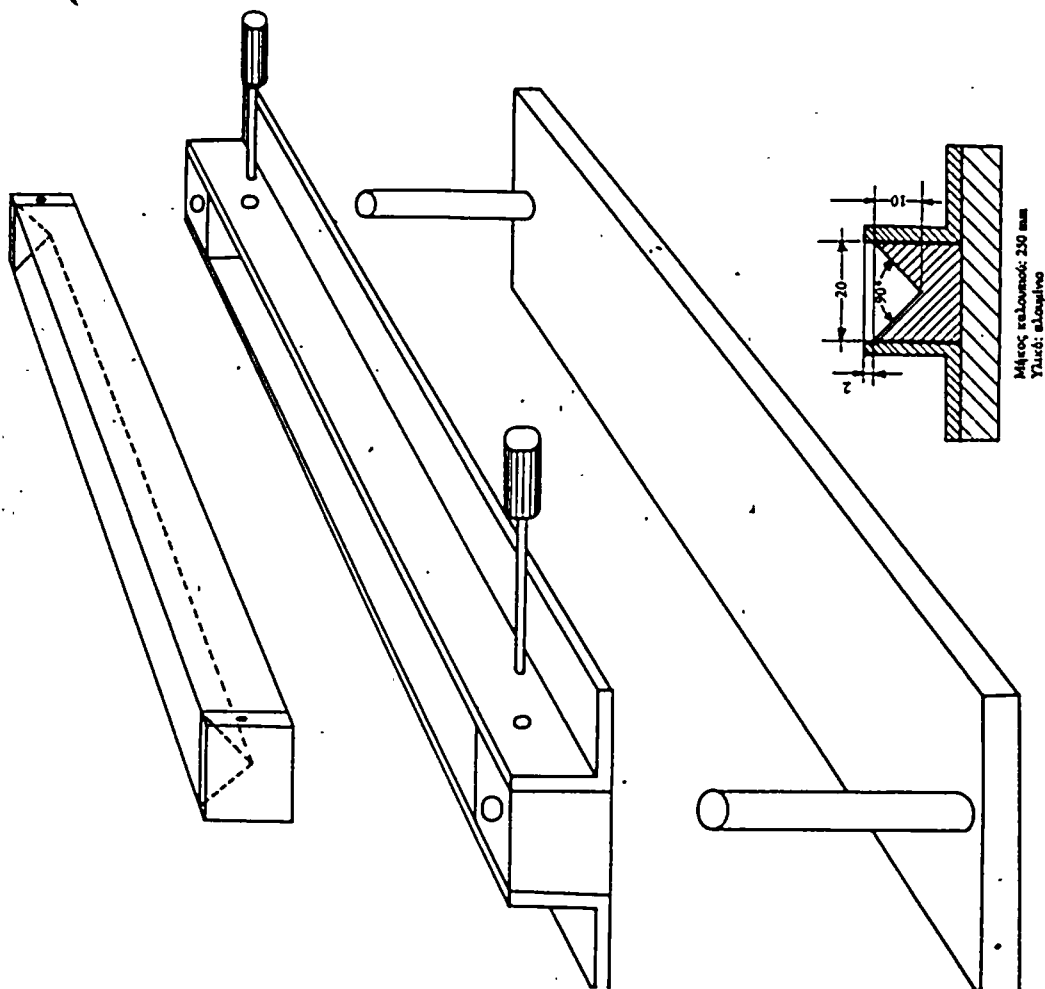
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Καμία.

Προσάρτημα

Σχήμα

Καλούδι που εφευρέθηκε για την παρασκευή της στήλης.
(Όλες οι διαστάσεις σε mm)



- 1.6.3. **Εκτέλεση του ελέγχου**
Με χρησιμοποίηση ανάλογικων αντλών εισάγεται στο γυάλινο κύλινδρο γυαστή συγκέντρωση αερίου σε αέρα. Ένας σπινθήρας περνάει διά μέσου του μέτρου του μετρήσας και παρατηρείται εάν η φλόγα αποκτάται από την πηγή ενάεσως και διαδίδεται ανεξάρτητα. Η συγκέντρωση του αερίου κολλάει στη βαθμίδα του 1 % κατ' όγκο μέτρου όπου επηρεάζεται η ένταση όπως περιγράφεται ανωτέρω.
2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**
Η πραγματοποίηση διαδόσεως της φλόγας είναι το μόνο σημαντικό πληροφοριακό δεδομένο για τον προσδιορισμό της ιδιότητας αυτής.
3. **ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ**
Η έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:
— την ακριβή προδιαγραφή της συσκευής (ταυτότητα και ζώνες προοριζόμενες),
— περιγραφή, με τις διαστάσεις της συσκευής που χρησιμοποιήθηκε,
— τη θερμοκρασία δοματίου στην οποία εκτελείται ο έλεγχος,
— τις συγκεντρώσεις που ελεγχθήκαν και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν,
— το αποτέλεσμα της δοκιμής: μη αναφλέξιμο αέριο ή λίαν αναφλέξιμο αέριο,
— στην περίπτωση συμπεράσματος «μη αναφλέξιμο», θα πρέπει να δηλώνεται ότι το πείραμα έγινε σε όλες τις συγκεντρώσεις, με αύξηση των συγκεντρώσεων ανά βαθμίδα 1 %, από 0 έως 100 %, — πρέπει να αναφέρονται όλες οι πληροφορίες και παρατηρήσεις οι σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
4. **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**
Καμία.
- Α. 12. ΑΝΑΦΛΕΞΙΜΟΤΗΤΑ (ΟΥΣΙΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΕ ΕΠΑΦΗ ΜΕ ΝΕΡΟ Ή ΥΓΡΟ ΑΕΡΑ ΕΚΠΕΜΠΟΥΝ ΛΙΑΝ ΕΥΦΛΕΚΤΑ ΑΕΡΙΑ ΣΕ ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΕΣ)**
1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**
- 1.1. **Εισαγωγή**
Αυτή η μέθοδος ελέγχου μπορεί να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να ελεγχτεί αν η αντίδραση μιας ουσίας οδηγεί στην παραγωγή μιας επικίνδυνης ποσότητας αερίου ή αερίων που πιθανώς είναι λίαν εύφλεκτα ή τοξικά.
Η μέθοδος ελέγχου μπορεί να εφαρμοστεί και σε στερεές ύλες και σε υγρές ουσίες. Δεν εφαρμόζεται για ουσίες που σε επαφή με τον αέρα αναφλέγονται αυθόρμητα.
- 1.2. **Όροι και μονάδες**
Λίαν εύφλεκτα: Είναι ουσίες και παρασκευάσματα που, σε επαφή με το νερό ή με υγρό αέρα, παράγουν εξαιρετικά εύφλεκτα αέρια σε ποσότητες επικίνδυνες, της τάξεως του 1 l/lg ή τουλάχιστον. Για το όρα αυτό η τοξικότητα του αερίου δε λαμβάνεται υπόψη.
- Α. 11. ΑΝΑΦΛΕΞΙΜΟΤΗΤΑ (ΑΕΡΙΑ)**
1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**
- 1.1. **Εισαγωγή**
Η μέθοδος αυτή επιτρέπει προσδιορισμό του κατά πόσο αέρια, αναμειγμένα με αέρα, σε θερμοκρασία δοματίου και υπό ατμοσφαιρική πίεση, έχουν μία περιοχή αναφλέξιμότητας. Μέγιστα αυξανόμενων συγκεντρώσεων του ελεγχόμενου αερίου με αέρα εκτίθενται σε ηλεκτρικό σπινθήρα και παρατηρείται εάν συμβαίνει έναυση.
- 1.2. **Όροι και μονάδες**
Η περιοχή αναφλέξιμότητας είναι η περιοχή συγκεντρώσεως μεταξύ των χαμηλότερων και των υψηλότερων ορίων εκρήξεως. Τα χαμηλότερα και τα υψηλότερα όρια εκρήξεως είναι εκείνα τα όρια συγκεντρώσεως του εύφλεκτου αερίου, σε μείγμα με αέρα, στα οποία δεν συμβαίνει διάδοση της φλόγας.
- 1.3. **Ουσία αναφοράς**
Δεν έχει προσδιοριστεί.
- 1.4. **Λογική της μεθόδου**
Η συγκέντρωση αερίου στον αέρα αυξάνεται βαθμιαία και το μείγμα, σε κάθε στάδιο, εκτίθεται σε ηλεκτρικό σπινθήρα.
- 1.5. **Κριτήρια ποιότητας**
Δεν έχουν διατυπωθεί.
- 1.6. **Περιγραφή της μεθόδου**
- 1.6.1. **Συσκευή**
Το δοχείο ελέγχου είναι ένας όρθιος γυάλινος κύλινδρος, εσωτερικής διαμέτρου 50 mm το ελάχιστο και ύψους 300 mm το ελάχιστο. Τα ηλεκτρόδια ενάεσως τορξίζονται με μία απόσταση 3 έως 5 mm και τοποθετούνται 60 mm πάνω από το βυθό του κυλίνδρου. Ο κύλινδρος προσαρμόζεται με ένα άνοιγμα ασφαλείας της πίεσεως. Η συσκευή πρέπει να θωρακιστεί, ώστε να περιοριστεί κάθε κίνδυνος από έκρηξη.
Χρησιμοποιείται σαν πηγή ενάεσως ένας διαρκής επαγωγικός σπινθήρας, διαρκείας 0,5 δευτερολέπτων, ο σκοός προκαλείται από μετασχηματιστή υψηλής τάσεως με έξοδο τάσεως 10 έως 15 kV (μήγιστο ισχύος εισαγωγής: 300 W).
- 1.6.2. **Συνθήκες ελέγχου**
Ο έλεγχος πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δοματίου.

- 1.3. Αρχή της μεθόδου
 Η ουσία ελέγχεται σύμφωνα με την ακόλουθη σταδιακή διαδικασία' αν σε κάποιο στάδιο συμβεί ανάφλεξη δε χρειάζεται περαιτέρω έλεγχο.
- 1.3.1. Στάδιο 1
 Η ελεγχόμενη ουσία τοποθετείται σε δοχείο που περιέχει απεσταγμένο νερό 20 °C και σημειώνεται αν το παραγόμενο αέριο αναφλέγεται ή όχι.
- 1.3.2. Στάδιο 2
 Η ελεγχόμενη ουσία τοποθετείται πάνω σε διηθητικό χαρτί που επικάλει στην επιφάνεια δοχείου το οποίο περιέχει απεσταγμένο νερό 20 °C και σημειώνεται αν το παραγόμενο αέριο αναφλέγεται ή όχι. Το διηθητικό χαρτί είναι απλώς για να κρατήσει την ουσία σε μια θέση, πράγμα που αυξάνει τις πιθανότητες για ανάφλεξη.
- 1.3.3. Στάδιο 3
 Η ελεγχόμενη ουσία διαμορφώνεται σε σωρό ύψους περίπου 2 cm και διαμέτρου 3 cm. Στο σωρό προσθέτονται λίγες σταγόνες νερό και σημειώνεται αν το παραγόμενο αέριο αναφλέγεται ή όχι.
- 1.3.4. Στάδιο 4
 Η ελεγχόμενη ουσία ανακατεύεται με απεσταγμένο νερό 20 °C και μετρείται η παραγωγή αερίου για περίοδο 7 ωρών ανά διαστήματα 1 ώρας. Αν ο ρυθμός παραγωγής του αερίου μετά το εκτάωρο είναι σταθερός ή αυξάνεται, η περίοδος μετρήσεων θα έπρεπε να εκτεταθεί σε ένα μέγιστο χρόνο 5 ημερών. Ο έλεγχος πρέπει να διακοπεί αν η παραγωγή αερίου υπερβεί το 1 l/kg·h.
- 1.4. Ουσία αναφοράς
 Δεν έχει προσδιοριστεί.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας
 Δεν έχουν δηλωθεί.
- 1.6. Περιγραφή των μεθόδων
- 1.6.1. Στάδιο 1
 1.6.1.1. Συνθήκες ελέγχου
 Η ελεγχόμενη ουσία χρησιμοποιείται στη μορφή που κυκλοφορεί και ο έλεγχος εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου (γύρω στους 20 °C).
- 1.6.1.2. Εκτέλεση ελέγχου
 Μικρή ποσότητα της ελεγχόμενης ουσίας (διαμέτρου περίπου 2 mm) τοποθετείται σε δοχείο που περιέχει απεσταγμένο νερό. Σημειώνεται : i) αν παράγεται κανένα αέριο και ii) αν συμβεί ανάφλεξη του αερίου. Αν το αέριο αναφλέγεται, δε χρειάζεται περαιτέρω έλεγχος της ουσίας, δεδομένου ότι η ουσία θεωρείται επικίνδυνη.
- 1.6.2. Στάδιο 2
 1.6.2.1. Συσκευή
 Ένα διηθητικό χαρτί επικάλει επίκεδο στην επιφάνεια απεσταγμένου ύδατος σε ομοιόμορφο κατάλληλο δοχείο, π.χ. ένα κρυσταλλωτήριο εξαιτίας διαμέτρου 100 mm.
- 1.6.2.2. Συνθήκες ελέγχου
 Η ελεγχόμενη ουσία χρησιμοποιείται στη μορφή που διατίθεται και ο έλεγχος εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου (γύρω στους 20 °C).
- 1.6.2.3. Εκτέλεση ελέγχου
 Μικρή ποσότητα της ελεγχόμενης ουσίας (διαμέτρου περίπου 2 mm) τοποθετείται στο κέντρο του διηθητικού χαρτί. Σημειώνεται : i) αν παράγεται κανένα αέριο και ii) αν συμβεί ανάφλεξη του αερίου. Αν το αέριο αναφλέγεται, δε χρειάζεται περαιτέρω έλεγχος της ουσίας, δεδομένου ότι η ουσία θεωρείται επικίνδυνη.
- 1.6.3. Στάδιο 3
 1.6.3.1. Συνθήκες ελέγχου
 Η ελεγχόμενη ουσία χρησιμοποιείται στη μορφή που κυκλοφορεί και ο έλεγχος εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου.
- 1.6.3.2. Εκτέλεση ελέγχου
 Η ελεγχόμενη ουσία γίνεται μία σωρός ύψους περίπου 3 cm και διαμέτρου 3 cm με κοίλωμα στην κορυφή. Προσθόνεται στο κοίλωμα μερικές σταγόνες νερού και σημειώνεται : i) αν παράγεται κανένα αέριο και ii) αν συμβεί ανάφλεξη του αερίου. Αν το αέριο αναφλέγεται, δε χρειάζεται περαιτέρω έλεγχος της ουσίας, δεδομένου ότι η ουσία θεωρείται επικίνδυνη.
- 1.6.4. Στάδιο 4

1.6.4.1. Συσκευή

Η συσκευή τοποθετείται όπως φαίνεται στο σχήμα (βλ.εε προσάρτημα).

1.6.4.2.

Συνθήκες ελέγχου

Επιθεωρείται το δοχείο της ελεγχόμενης ουσίας για σκόνη μεγέθους σωματιδίων < 500 μm. Αν η σκόνη αποτελεί το περισσότερο από 1 % w/w του συνόλου ή αν το δείγμα είναι εύφλεκτο, θα έπρεπε το σύνολο της ουσίας να αλεσθεί σε σκόνη πριν από τον έλεγχο, ούτως ώστε να επιτευχθεί μέγιστη του μεγέθους των σωματιδίων κατά τη φάση και χρήση. Αλλιώς, η ουσία πρέπει να χρησιμοποιηθεί στην εμπορεύσιμη μορφή. Ο έλεγχος εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου (20 °C) και ατμοσφαιρική πίεση.

1.6.4.3.

Εκτέλεση ελέγχου

Στα σταγονομετρικό γωνί της συσκευής τοποθετείται νερό και στην κωνική φάλη αρκετή ουσία για να παράγει μεταξύ 100 cm³ και 250 cm³ αερίου (πάντως όχι περισσότερο από 25 β). Ο όγκος του αερίου που παράγεται μπορεί να μετρηθεί με οποιοδήποτε κατάλληλο μέσο. Ανοίγεται η σφράγιση του σταγονομετρικού δοχείου για να περάσει το νερό μέσα στην κωνική φάλη και αρχίζει να μετράει ένα χρονόμετρο. Σημειώνεται ο χρόνος για όλο το παραγόμενο αέριο και, αν είναι δυνατό, καθιερώνεται και ενδιάμεσες αναγνώσεις. Ο έλεγχος θα έπρεπε να γίνεται εις τριπλούν.

Αν η χημική ταυτότητα του αερίου δεν είναι γνωστή, το αέριο πρέπει να αναλυθεί. Αν το αέριο περιέχει λιαν εύφλεκτα συστατικά, και είναι άγνωστο αν όλο το μέγιστο είναι λιαν εύφλεκτο, πρέπει να παρασκευαστεί ένα μέγμα της ίδιας σύνθεσης και να ελεγχθεί σύμφωνα με τη μέθοδο ελέγχου (Α. 1).

2.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Μία ανέφελη ή παραγωγή λιαν εύφλεκτου αερίου πάνω από 1 l/kg·h στις τρεις δοκιμές είναι αρκετή για να θεωρηθεί επικίνδυνη μία χημική ουσία (1.6.1, 1.6.2 και 1.6.3).

3.

ΣΥΝΤΑΣΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

Η έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

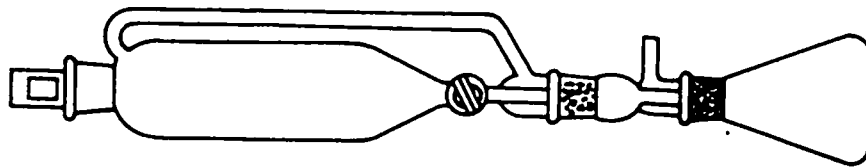
- την αερίνη προέλευση και περιγραφή της ουσίας όπως περιλήφθη (π.χ. χρώμα, μέγεθος σωματιδίων και φυσική κατάσταση),
- οποιαδήποτε παρασκευαστική της ελεγχόμενης ουσίας,
- τα αποτελέσματα του ελέγχου,
- τη χημική ταυτότητα του παραγόμενου αερίου,
- την ταχύτητα εκδόσεως αερίου (1.6.4),
- οποιαδήποτε συμπληρωματικές παρατηρήσεις σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) ISO 1773.
- (2) OECD, Paris, Preliminary Test Guideline for the Determination of Substances which give off Highly Inflammable Gases in Dangerous Amounts on Contact with Water A 80/28 — Final Report of the OECD chemical testing programme.
- (3) UN doc. No ST/SG/AC10/1 rev. 1.

Προσάρτημα

Σχήμα
Συσκευή



Α. 13. ΑΝΑΦΛΕΞΙΜΟΤΗΤΑ (ΣΤΕΡΕΑ ΚΑΙ ΥΓΡΑ)

ΜΕΘΟΔΟΣ

Εισαγωγή

Προκαταρκτικές πληροφορίες για την αυτοαναφλεξιμότητα μιας ουσίας είναι χρήσιμες. Η διαδικασία του ελέγχου εφαρμόζεται σε στερεές και υγρές ουσίες όπως κυκλοφορούν, που μπορεί να αναφλεγούν αυθόρμητα σε μικρές ποσότητες, σε μικρό διάστημα αέριου έμβυον σ'εκαθή με τον αέρα, σε θερμοκρασία δωματίου.

2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**
Για την αξιολόγηση χρησιμοποιούνται τα αποτελέσματα έξι ελέγχων.
3. **ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ**
Η έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:
— περιγραφή της ελεγχόμενης ουσίας,
— τα αποτελέσματα του ελέγχου.
4. **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**
(1) OECD, Paris, Preliminary Test Guideline for the Determination of Pyrophoric Behaviour of Solids and Liquids. A 80/23 — Final report of the OECD chemical testing programme.
- A. 14. ΕΚΡΗΚΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ**
1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**
- 1.1. **Εισαγωγή**
Η μέθοδος παρέχει ένα σχήμα ελέγχου, για να προσδιοριστεί αν — ή δεν — μια στερεή, μια υγρή ή μια κολλώδη ουσία, ή ένα παρασκεύασμα αντιπροσωπεύει έναν κίνδυνο έκρηξης όταν υποβάλλεται στην επίδραση μιας φλόγας (θερμική ευαισθησία), ή σύγκρουσης, ή τριβής (ευαισθησία σε μηχανική δέγερση).
Η μέθοδος περιλαμβάνει τρία μέρη:
α) έναν έλεγχο θερμικής ευαισθησίας,
β) έναν έλεγχο μηχανικής ευαισθησίας όσον αφορά το κτύπημα,
γ) έναν έλεγχο μηχανικής ευαισθησίας όσον αφορά την τριβή.
Η μέθοδος παρέχει δεδομένα για την εκτίμηση της πιθανότητας έναρξης εκρήξεων μέσω ορισμένων κοινών διεγέρσεων. Η μέθοδος δεν τείνει να εξακριβώσει αν η ουσία ή το παρασκεύασμα είναι ικανό να εκραγεί κάτω από κάποιες συνθήκες, ούτε και τείνει να προσοφθαλμίσει την έκταση στην οποία αρχική ακούσθηση μπορεί πιθανόν να κολλοκλασαστεί και να προκαλέσει έκρηξη όλου του δείγματος.
Η μέθοδος είναι κατάλληλη προκειμένου να προσδιοριστεί αν μια ουσία ή ένα παρασκεύασμα αντιπροσωπεύει έναν κίνδυνο έκρηξης (θερμική και μηχανική ευαισθησία, κάτω από τις ιδιαιτερές συνθήκες που καθορίζονται στην οδηγία).
- Οι έλεγχοι είναι ανεξάρτητοι όταν η υπέρθεση θερμοδυναμική κληροφόρηση [θεριότητα σχηματισμού, θεριότητα ακούσθησης, ακούσια ορισμένων ενεργών οξείδων (1) στο συντακτικό τύπο] αποδεικνύει, πέρα από κάθε λογική αμφιβολία, ότι η ουσία ή το παρασκεύασμα είναι εντελώς ασυμβατό, να σχηματίσουν αέρια και να ελαφροποιούν θεριότητα με μεγάλη ταχύτητα (π.χ. το υλικό δεν αντιπροσωπεύει ακούσθησης κίνδυνο έκρηξης). Αναγνωρίζεται ότι η μέθοδος δεν είναι καθοριστική. Περιλαμβάνει έναν αριθμό επιπλέον τύπων ειδικών συσκευών που χρησιμοποιούνται ευρύτατα διεθνώς και που δίνουν συνήθως σημαντικά αποτελέσματα.
- 1.2. **Ορισμοί και μονάδες**
Υγρά και στερεά θεωρούνται λίαν εύφλεκτα αν αναφλεγούν τουλάχιστον μία φορά μέσα σε έξι ελέγχους υπό τις συνθήκες που περιγράφονται στο σημείο 1.6.
- 1.3. **Ουσίες αναφοράς**
Δεν έχουν προσδιοριστεί.
- 1.4. **Αρχή της μεθόδου**
Η ουσία φέρεται σε επαφή με τον αέρα στη θερμοκρασία των 25 ± 10 °C για διάρκεια 5 λεπτών. Αν συμβεί ανάφλεξη, η ουσία θεωρείται λίαν εύφλεκτη.
- 1.5. **Κριτήρια ποιότητας**
Εξαναλημιότητα: δεδομένης της σημασίας για την ασφάλεια, και ένα μόνο θετικό αποτέλεσμα μέσα σε έξι ελέγχους είναι αρκετό να θεωρηθεί η ουσία λίαν εύφλεκτη.
- 1.6. **Περιγραφή της μεθόδου**
- 1.6.1. **Συσκευή**
Μία κάτω πορσελάνης διαμέτρου περίπου 10 cm γεμίζεται με τη διατόμηση σ' ένα ύψος περίπου 5 mm, σε θερμοκρασία δωματίου.
Σημείωση
Η τη διατόμηση, ή οποιαδήποτε άλλη παρόμοια αδρανής ουσία που μπορεί να ληφθεί, γενικά πρέπει να θεωρείται αντιπροσωπευτική του εδάφους στο οποίο μπορεί να χυθεί η ελεγχόμενη ουσία, σε περίπτωση ατυχήματος.
- 1.6.2. **Εκτέλεση ελέγχου**
α) **Στερεά με μορφή σκόνης**
1 έως 2 cm³ της ελεγχόμενης ουσίας χύνονται από ύψος 1 m περίπου πάνω σε μια άκαυστη επιφάνεια και παρατηρείται αν η ουσία αναφλέγεται κατά την απόχωση ή μέσα σε 5 λεπτά μετά την απόχωση.
β) **Υγρά**
Περίπου 5 cm³ του ελεγχόμενου υγρού χύνονται μέσα σε μια προετοιμασμένη κάτω πορσελάνης και παρατηρείται αν η ουσία αναφλέγεται μέσα σε 5 λεπτά.

Δεν δηλώνεται.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Συνακμυή

1.6.1.1. Θερμική ευαισθησία (αποτελεσμα φλόγας)

Ο χαλύβδινος σωλήνας είναι κατασκευασμένος από χαλύβδινο έλασμα (βλέπε προσάρτημα 1) με τη διαδικασία της έλασης. Έχει εσωτερική διάμετρο 24 mm, μήκος 75 mm και πάχος τοιχώματος 0,5 mm. Στο ανοιχτό άκρο, ο σωλήνας εφοδιάζεται με μια κυκλική πλάκα με στόμιο, από υλικό που αντέχει σε πίεση και έχει μια κεντρική τρύπα. Η πλάκα αυτή στερεώνεται καλά στο σωλήνα με δύο βιδωτά σπείγματα (ένα καζιμάδι και το κάλυμμά του). Η κυκλική πλάκα (βλέπε σχήμα 1) έχει πάχος 6 mm και είναι φτιαγμένη από χάλυβα χρωμίου ανθεκτικού σε θερμότητα (βλέπε προσάρτημα).

Μια σειρά από πλάκες με ανοήματα διαφορετικών διαμέτρων (1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 ... mm) είναι στη διάθεση του παραματιστή, για να προσδιορίσει το βαθμό κινδύνου έκρηξης που αντιπροσωπεύει η ουσία ή το παρασκεύασμα. Το καζιμάδι και το κάλυμμά του (βλέπε σχήμα 1) συντάσσεται από χάλυβα χρωμίου-μαγγάνου (βλέπε προσάρτημα) που δεν κάνει σκινήθρα μέχρι τους 800 °C. Οι χαλύβδινοι σωλήνες χρησιμοποιούνται για ένα μόνο πείραμα.

Μηχανική ευαισθησία (κτύπημα)

Μια τυπική οσσεκή βάρους που πέφτει αποτελείται βασικά από τεμάχιο φαιού τυμένου χάλυβα με βάση και αμόνι, στήλη, οδηγούς, βάρους που πέφτει και ένα μηχανισμό που το ελευθερώνει. Ο χαλύβδινος κορμός 230 mm (βάθος) x 250 mm (πλάτος) x 200 mm (ύψος) με τη χυμνή βάση 450 mm (βάθος) x 450 (πλάτος) x 60 mm (ύψος) φέρουν το χαλύβδινο αμόνι, διάμετρος 100 mm x 70 mm, που είναι βιδωμένο από πάνω.

Πίσω από το χαλύβδινο τεμάχιο βιδώνεται το στήριγμα και σ' αυτό η στήλη, πάνω στην οποία στερεώνεται ο σωλήνας από ελατό χάλυβα, χωρίς συρραφή, με εξωτερική διάμετρο 90 mm και εσωτερική 70 mm. Τέσσερις βίδες, που σπирίζονται σε ένα στερεό σιμεντάρι τεμάχιο 60 cm x 60 cm x 60 cm, κρατούν το σφύρι που πέφτει με τέτοιο τρόπο ώστε οι γραμμές να είναι απολύτως κατακόρυφες και το βάρος που πέφτει να οδηγείται εύκολα. Το βάρος του σφυριού πρέπει να είναι 10 kg. Το βάρος αποτελείται από σιμεντάρι χάλυβα. Πρέπει να έχει επιφάνεια κρούσης από βαμμένο χάλυβα HRC 60 έως 63 και ελάχιστη διάμετρο 25 mm. Τα κερφάλια πρέπει να γίνουν με ύψος πτώσης 0,4 mm. Το δείγμα που θα ελεγχθεί τοποθετείται σε ένα καλούδι που αποτελείται από δύο ομοιογενικούς χαλύβδινους κύλινδρους, ο ένας εκάτω στον άλλο, και έναν κοίλο χαλύβδινο κύλινδρο σαν οδηγό. Οι συμπλεγείς χαλύβδινοι κύλινδροι πρέπει να έχουν διάμετρο 10 (- 0,003, - 0,005) mm και ύψος 10 mm και επιβραμμένες επιφάνειες, κυρτωμένα άκρα (ακτίνα καμυλωμάτος 0,5 mm) και σκληρότητα HRC 58 έως 65. Ο κοίλος κύλινδρος πρέπει να έχει εξωτερική διάμετρο 16 mm, ένα σπιδρωμένο διάτρημα 10 (+ 0,005, + 0,010) mm και ύψος 13 mm. Αν σιμβελ έκρηξη, οι χαλύβδινοι κύλινδροι και ο κοίλος κύλινδρος δε χρησιμοποιούνται για άλλα πειράματα. Το καλούδι αναρτάται σε ένα ενδιάμεσο αμόνι, διάμετρο 26 mm και ύψους 26 mm, φτιαγμένο από χάλυβα και κεντρωμένο από έναν κεντρικό δακτύλιο τοποθετησώς για την απομάκρυνση των καπνών της έκρηξης.

Μηχανική ευαισθησία (τρίβη)

Η οσσεκή τριβής αποτελείται από μια βασική πλάκα από χυτό χάλυβα, πάνω στην οποία αναρτάται η οσσεκή τριβής, που αποτελείται από πλάσσο πορσελάνης και κινητές πλάκες πορσελάνης. Η πλάκα πορσελάνης σπριζείται σε έναν ολισθηρό υποδοχά που κινείται μεταξύ δύο γραμμών. Ο υποδοχάς κινείται μέσω μιας ράβδου κινήσας, μιας έκκεντρης τροχαλίας και με μετάδοση ταχύτητας από έναν ηλεκτρικό κινητήρα με τέτοιο τρόπο ώστε οι πλάκες πορσελάνης κινούνται κάτω από τον πορσελάνιο πλάσσο με διεύθυνση εμπρός και πίσω κατά 10 mm. Ο πορσελάνινος πλάσσος φοριζεται με 360 Newtons περίπου.

1.6.1.3.

Το άτομο που εκτελεί τον έλεγχο μπορεί να επιλέξει τη χρήση εναλλακτικών συσκευών στις τρεις ειδικές μεθόδους, με την προϋπόθεση ότι αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί επιστημονικά και ότι η οσσεκή είναι διαθέσιμη ανεπιφύλακτα. Στις περιπτώσεις αυτές, πρέπει να προσδιοριστεί η συσχέτιση των αποτελεσμάτων με εκείνα που θα προέκυπταν από τη χρήση των ειδικών συσκευών.

1.2. Όργανοι και μονάδες

Σαν εκκριτικές καθορίζονται:

Ουσίες και παρασκευάσματα που μπορεί να εκραγούν υπό την επίδραση φλόγας ή που είναι περισσότερο ευαίσθητα σε κτυπήματα ή τρίβη από το δινιτροβενζόλιο.

1.3. Ουσία αναφοράς

Το μετα-δινιτροβενζόλιο, συνθετικό κρυσταλλικό προϊόν, για τη μέθοδο τριβής και κτυπήματος.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Ένας προκαταρκτικός έλεγχος απαιτείται για να καθοριστεί ασφαλείς συνθήκες για την εκτέλεση των τριών ελέγχων ευαισθησίας:

1.4.1. Προκαταρκτικός βασικός έλεγχος

Πολύ μικρά δείγματα (περίπου 10 mg) της ουσίας ή του παρασκευάσματος υποβάλλονται σε θερμότητα χωρίς περιορισμούς σε φλόγα Bunsen, σε σύγκρουση με οποιδήποτε κατάλληλη μορφή οσσεκής και σε τρίβη, χρησιμοποιώντας σφύρι και αμόνι ή οποιδήποτε μορφή μηχανικής τριβής. Ο αντικειμενικός σκοπός είναι να εξακριβωθεί αν η ουσία είναι τόσο ευαίσθητη και εκρηκτική έτσι που οι περιγραφόμενοι έλεγχοι ευαισθησίας θα έπρεπε να εκτελεστούν με ειδικές, προφυλάξεις προς αποφυγή τραυματισμού του παραματιστή.

1.4.2. Θερμική ευαισθησία

Η μέθοδος περιλαμβάνει θερμότητα της ουσίας ή του παρασκευάσματος σε ένα χαλύβδινο σωλήνα, με περιορισμούς διαφόρου βαθμού που επιτυγχάνονται αν χρησιμοποιηθούν πλάκες με στόμιο διαφορετικής διαμέτρου, για να προσδιοριστεί αν η ουσία ή το παρασκεύασμα μπορεί να εκραγεί κάτω από συνθήκες θερμικής πίεσης.

1.4.3. Μηχανική ευαισθησία (κτύπημα)

Στη μέθοδο αυτή η ουσία, ή το παρασκεύασμα, υποβάλλεται σε κτύπημα ενός σφυριού που πέφτει πάνω σε χαλύβδινο αμόνι.

1.4.4. Μηχανική ευαισθησία (τρίβη)

Στη μέθοδο αυτή η ουσία, ή το παρασκεύασμα, υποβάλλεται σε τρίβη ανάμεσα σε πρότυπες επιφάνειες, υπό καθορισμένες συνθήκες φορτίου και σχετικής κίνησης.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

- 1.6.3.1. **Θερμική ευαισθησία (αποτελεσμα φλόγας)**
- Για τη θέρμανση χρησιμοποιείται προπάνιο προερχόμενο από βιομηχανικούς κυλινδρικούς εφοδιασμένους με ρυθμιστή πίεσης (500 mbars), μέσω μετρητή και διαμορφωμένο στους τέσσερις λόγγους με σωλήματα. Οι τέσσερις λόγγοι δακτύλου 3,2 λίτρα προπάνιου το λεπτό. Εάν χρησιμοποιηθούν διαφορετικά αέρια θέρμανσης, πρέπει να γίνει επιλογή κατάλληλων λίτρων, κατανώσεως αερίων και εισαγωγής αέρα, έτσι ώστε για συγκρίσιμες μετρήσεις με αδρανείς ουσίες (άμμο, διφουλική φθαλέδη) η σημειωθούν παρόμοιες καμπύλες θερμοκρασίας/χρόνου όπως και με τη θέρμανση με προπάνιο.
- Οι λόγγοι είναι τοκοθετημένοι γύρω από το θαλαμίσκο ελέγχου, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.
- Οι λόγγοι τακτοποιούνται έτσι που η κορυφή του εσωτερικού μύλε κώνου της φλόγας σχεδόν να αγγίζει το σωλήνα. Ο έλεγχος πρέπει να γίνει σε ένα χαλύβδινο θαλαμίσκο με διαστάσεις που δίνονται στο σχήμα 2.
- Οι διαστάσεις των καυστήρων προπάνιου περιέχονται στο σχήμα 3 (α, β).
- Οι διαστάσεις των καυστήρων προπάνιου περιέχονται στο σχήμα 3 (α, β). Απαιτούνται δύο σαφείς των τριών ελέγχων, με χρησιμοποίηση στην πρώτη σειρά πλάκας με στόμιο, με διάτρημα διαμέτρου 2 mm και στη δεύτερη, διαμέτρου μεγαλύτερης των 2 mm (π.χ. 6 mm).
- Αν συμβεί έκρηξη στην πρώτη σειρά (διάτρημα 2 mm), είναι περιττό να συνεχιστεί ο έλεγχος στην επόμενη σειρά. Αν δεν συμβεί έκρηξη μέσα σε 5 λεπτά, το πείραμα σταματά.
- Μηχανική ευαισθησία (κτύπημα)**
- Στη συνθετική κρούση που καθορίστηκε πραγματοποιούνται έξι έλεγχοι, ρίχνοντας το βάρος των 10 kg από ύψος 0,4 m. Σε άλλες συνθήκες, το δείγμα συγκρίνεται με m-δινιτροβενζόλιο, χρησιμοποιώντας την καθορισμένη διαδικασία (τεχνική του επάνω και κάτω κλπ.).
- Μηχανική ευαισθησία (τραβή)**
- Ο πάσσαλος πορσελάνης τοποθετείται κάτω από την ελεγχόμενη ουσία και προστίθεται το βάρος. Κατά την εκτέλεση του ελέγχου, τα σημεία του σκόγγου της πορσελάνινης πλάκας πρέπει να είναι εγκάρσια προς τη διεύθυνση της κίνησης. Χρησιμοποιείται προσοχή ώστε ο πάσσαλος να ακουμπά επάνω στο δείγμα, να υπάρχει αρκετή ουσία κάτω από τον πάσσαλο και, ακόμη, η πλάκα κάτω από τον πάσσαλο να κινείται οριζόντια. Η πλάκα πορσελάνης πρέπει να κινείται κάτω από τον πάσσαλο καλυπτομενικά, καλύπτοντας απόσταση 10 mm σε κάθε κατεύθυνση σε χρόνο 0,44 δευτερόλεπτα. Κάθε μέρος της επιφάνειας πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο για έναν έλεγχο.
2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**
- 2.1. **Επεξεργασία των αποτελεσμάτων**
- Ο έλεγχος μπορεί να διακοπεί ομέσως μόλις προκύψει ένα θετικό αποτέλεσμα σε ένα πείραμα.
- 2.2. **Αξιολόγηση**
- Οι πλάκες πορσελάνης είναι φτιαγμένες από λευκή συνθετική πορσελάνη και έχουν διαστάσεις 25 mm (μήκος) x 25 mm (πλάτος) x 5 mm (ύψος). Οι δύο επιφάνειες τριβής των πλακών γίνονται τραχιές (βάθος ανωμαλιών 9 μm έως 32 μm) πριν από την πύρωση, πράγμα που επιτυγχάνεται με τρίψιμο με ένα σφουγγάρι.
- Ο κυλινδρικός πορσελάνινος πάσσαλος είναι, επίσης, φτιαγμένος από λευκή συνθετική πορσελάνη. Έχει μήκος 15 mm, διάμετρο 10 mm, και είναι τραχός κατά τη σφαιρική επιφάνεια με ακτίνα καμπυλότητας 10 mm.
- 1.6.2. **Συνθήκες ελέγχου**
- 1.6.2.1. **Θερμική ευαισθησία (αποτελεσμα φλόγας)**
- Η ουσία, στη φυσική μορφή που κυκλοφορεί, τοποθετείται μέσα στο σωλήνα μέχρι ύψους 60 mm σε τρεις ίσες δόσεις. Κάθε δόση γίνεται προσεκτικά συμπαγής μετά από κάθε προσθήκη, με εφαρμογή δύναμης περίπου 80 Newton στην επιφάνεια της, χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο ξύλινο έμβολο κατά τη μικρότερο από το σωλήνα. Σε περίπτωση ζελατινώδους ουσίας, χρειάζεται προσοχή για την αποφυγή φουσκώσεων αέρα κατά το γέμισμα.
- 1.6.2.2. **Μηχανική ευαισθησία (κτύπημα)**
- Η ουσία ελέγχεται σε ξηρή κατάσταση. Το δείγμα πρέπει να έχει όγκο 40 mm³ ή έναν όγκο κατάλληλο για την ορισμένη ουσική. Για στερεές ουσίες, με εξαίρεση τις κολλώδεις, εφαρμόζονται τα εξής:
- α) ουσίες σε μορφή σκόνης, κοσκινίζονται (μέγεθος κόσκινου 0,5 mm) ή, τι έχει περάσει από το κόσκινο χρησιμοποιείται για τον έλεγχο
- β) ουσίες που συμπεκνώθηκαν με πίεση ή ζύση ή άλλον τρόπο, αλέθονται και κοσκινίζονται το κλάσμα του κοσκινίσματος από 0,5 έως 1 mm χρησιμοποιείται για τον έλεγχο.
- Για υγρές ουσίες, ο άνω χαλύβδινος κυλινδρικός πείραμα προς τα κάτω μέχρι να έχει απόσταση 1 mm από τον κάτω κύλινδρο και κρατείται σ' αυτή τη θέση.
- 1.6.2.3. **Μηχανική ευαισθησία (τραβή)**
- Η ουσία ελέγχεται σε ξηρή κατάσταση. Το δείγμα πρέπει να έχει όγκο 10 mm³. Για στερεές ουσίες, με εξαίρεση τις κολλώδεις, εφαρμόζονται τα εξής:
- α) ουσίες σε μορφή σκόνης, κοσκινίζονται (μέγεθος κόσκινου 0,5 mm) ή, τι έχει περάσει από το κόσκινο χρησιμοποιείται για τον έλεγχο
- β) ουσίες που συμπεκνώθηκαν με πίεση, ζύση ή άλλον τρόπο, αλέθονται και κοσκινίζονται το κλάσμα του κοσκινίσματος διαμέτρου < 0,5 mm χρησιμοποιείται για τον έλεγχο.
- 1.6.3. **Εκτέλεση ελέγχου**

Κατά κανόνα, μια ουσία ή παρασκευάσμα θεωρείται ότι παρουσιάζει κίνδυνο έκρηξης, κατά την έννοια της οδηγίας, αν:

- α) συμβεί έκρηξη (α.χ. ο σωλήνας σκάσει σε τρία ή περισσότερα θραύσματα) σ' ένα από τον καθορισμένο αριθμό περιπτώσεων για τη θερμοκή ευαισθησία ή
- β) μια έκρηξη (ξέσπασμα σε φλόγα είναι ισοδύναμο με έκρηξη) συμβαίνει σ' έναν τουλάχιστον στους έξι ελέγχους με την καθορισμένη συσκευή κρούσεως ή το δείγμα είναι πιο ευαίσθητο από το π-δινιτροβενζόλιο σε έναν εναλλακτικό έλεγχο κρούσεως ή
- γ) μια έκρηξη (τριγύρος ή ξέσπασμα σε φλόγα είναι ισοδύναμο με έκρηξη) συμβαίνει σε ένα τουλάχιστον στα έξι περάσματα με την καθορισμένη συσκευή τριβής, ήτοι το δείγμα είναι πιο ευαίσθητο από το π-δινιτροβενζόλιο σε έναν εναλλακτικό έλεγχο τριβής.

3.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1.

Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου θα έπρεπε να περιλαμβάνει τις εξής πληροφορίες:

- ταυτότητα, σύνθεση, καθαρότητα, περιεχόμενη υγρασία κ.λπ. της ελεγχόμενης ουσίας ή του παρασκευάσματος,
- τη φυσική μορφή του δείγματος και αν το δείγμα έχει κοκκινιστεί ή όχι,
- παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια του ελέγχου (τύπος αντιδράσεως, σπινθήρες, φλόγα, έκρηξη, αριθμός θραυσμάτων κ.λπ.),
- αποτελέσματα κάθε ελέγχου,
- αν έλα χρησιμοποιηθεί εναλλακτική συσκευή, επιστημονική αιτιολόγηση, καθώς και αποδείξεις συσχέτισης μεταξύ των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από την καθορισμένη συσκευή και εκείνων που ελήφθησαν με ισοδύναμη συσκευή,
- οποιαδήποτε χρήσιμα σφάλμα όπως αναφορά σε έλεγχο με παρόμοιες ουσίες, πράγμα που μπορεί να σχετίζεται με μια κατάλληλη ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Ερμηνεία και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Η έλεγχση των αποτελεσμάτων θα έπρεπε να αναφέρει και τα αποτελέσματα εκείνα που θεωρούνται ψεύδη, ανώμαλα ή μη αντιπροσωπευτικά. Αν κανένα από τα αποτελέσματα θα έπρεπε να απορριφθεί, θα έπρεπε να δοθεί μια εξήγηση γ' αυτό, καθώς και τα αποτελέσματα από οποιονδήποτε εναλλακτικό ή συμπληρωματικό έλεγχο.

Μερικές φορές τα αποτελέσματα μπορεί να είναι λανθασμένα, πράγμα που σχετίζεται με τη φυσική μορφή ή την κτητική φύση της ουσίας ή του παρασκευάσματος κατά τη διάρκεια του ελέγχου. Σε τέτοιες περιπτώσεις, θα ήταν χρήσιμο να γνωρίζουμε τι είδους αποτελέσματα θα έπαιρνε κανείς όταν η ουσία, ή το παρασκευάσμα, είναι στη μορφή υπό την οκτάη κυκλοφορεί στην αγορά. Εναλλακτικός έλεγχος πιθανόν να μπορεί να δώσει τέτοια πληροφορία. Ένα ανώμαλο αποτέλεσμα, εφόσον μπορεί να εξηγηθεί μ' αυτό τον τρόπο, πρέπει να γίνει αποδεκτό σαν φαινομενική αξία και να χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση της ουσίας ή του παρασκευάσματος, ανάλογα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) Bretbeck L., Handbook of Reactive Chemical Hazards, London, Butterworths, 1979, pp. 60-63.
- (2) Koenen H., K. H. Ide, Über die Prüfung explosiver Stoffe, I. Ermittlung der Reibempfindlichkeit; Explosive Stoffe 3 (1955), S. 58-65 und 89-93.
- (3) Koenen H., K. H. Ide, Über die Prüfung explosiver Stoffe, III. Ermittlung der Empfindlichkeit explosiver Stoffe gegen thermische Beanspruchung in einer Erhitzungskammer mit verschiedenen definierten Öffnungen (Stahlhosenverfahren); Explosive Stoffe, vol. 4, 1956, pp. 119-125, 143-148.
- (4) Koenen H., K. H. Ide, Haupt W., Über die Prüfung Explosiver Stoffe, IV. Ermittlung der Schlagempfindlichkeit explosiver Stoffe von fester, flüssiger und gelatinöser Beschaffenheit; Explosive Stoffe, vol. 6, 1958, pp. 178-189, 202-214 und 223-235.
- (5) ONU, 1980, December, United Nations Committee of Experts on the Transport of Dangerous Goods (document ST/SO/AC.10/5/Add. 3, Table 4.3).

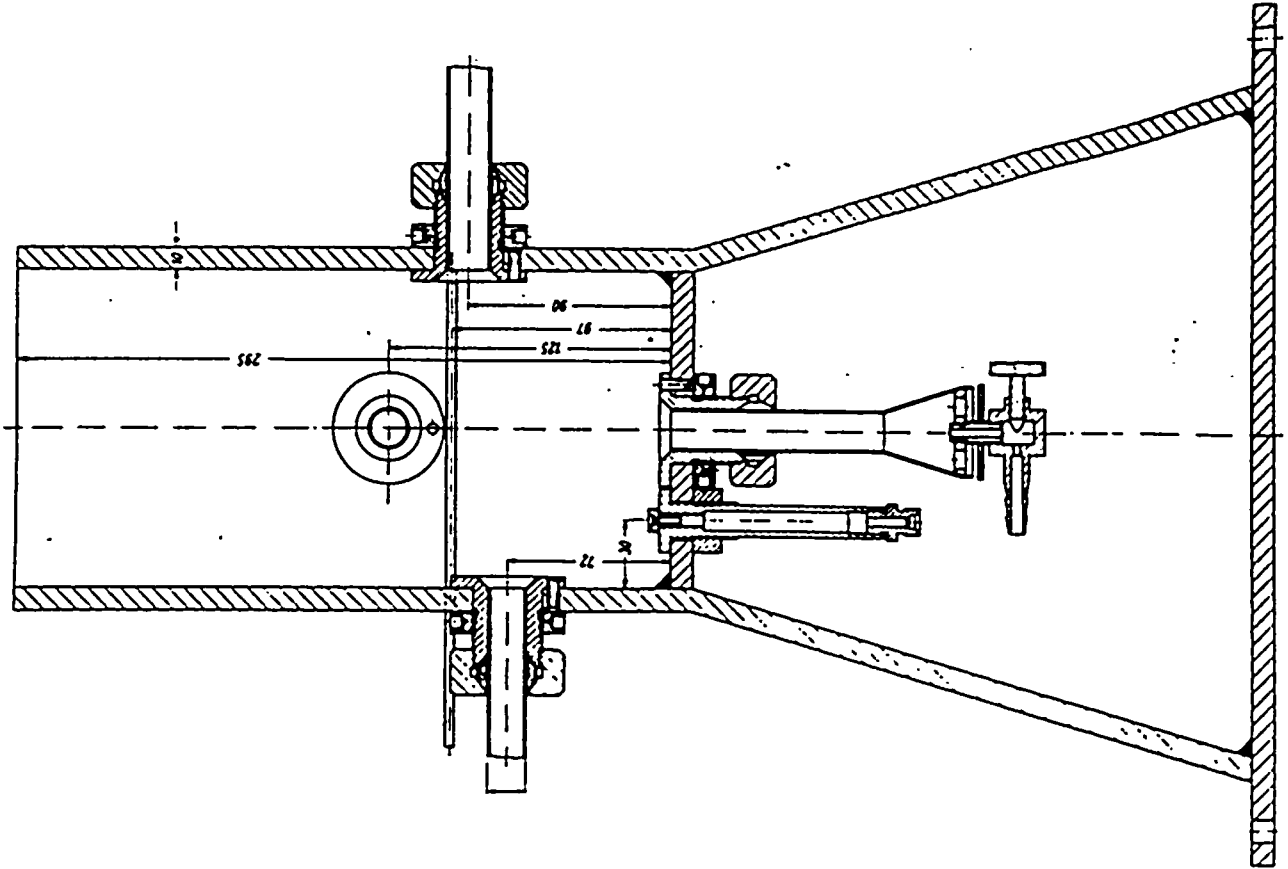
Πρόσκληση

Παράδειγμα προδιαγραφών υλικού

- (1) Προδιαγραφές υλικού Νο 1.0336.505 g, σύμφωνα με το ΔΙΝ 1623 φύλλο 1.
- (2) Προδιαγραφές υλικού Νο 1.4873, σύμφωνα με το φύλλο «Stahl-Eisen-Werkstoffe» 490-52.
- (3) Προδιαγραφές υλικού Νο 1.3817, σύμφωνα με το φύλλο «Stahl-Eisen-Werkstoffe» 490-52.

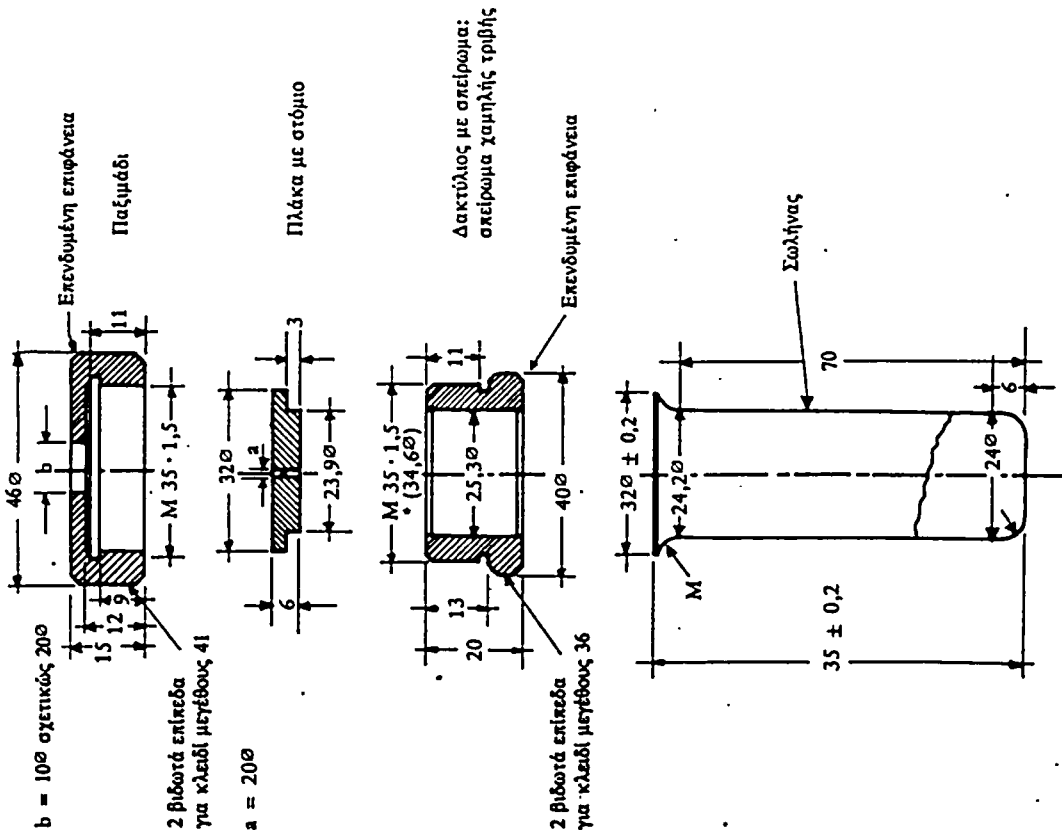
Σχήμα 2

(Διαστάσεις σε mm)



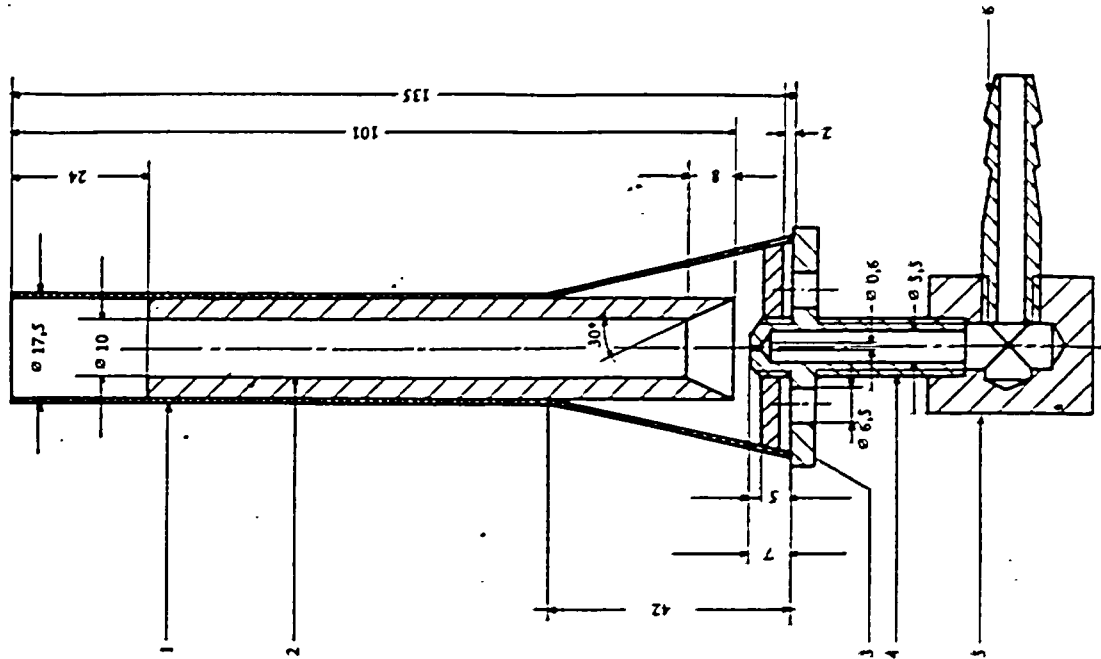
Σχήμα 1

(Διαστάσεις σε mm)



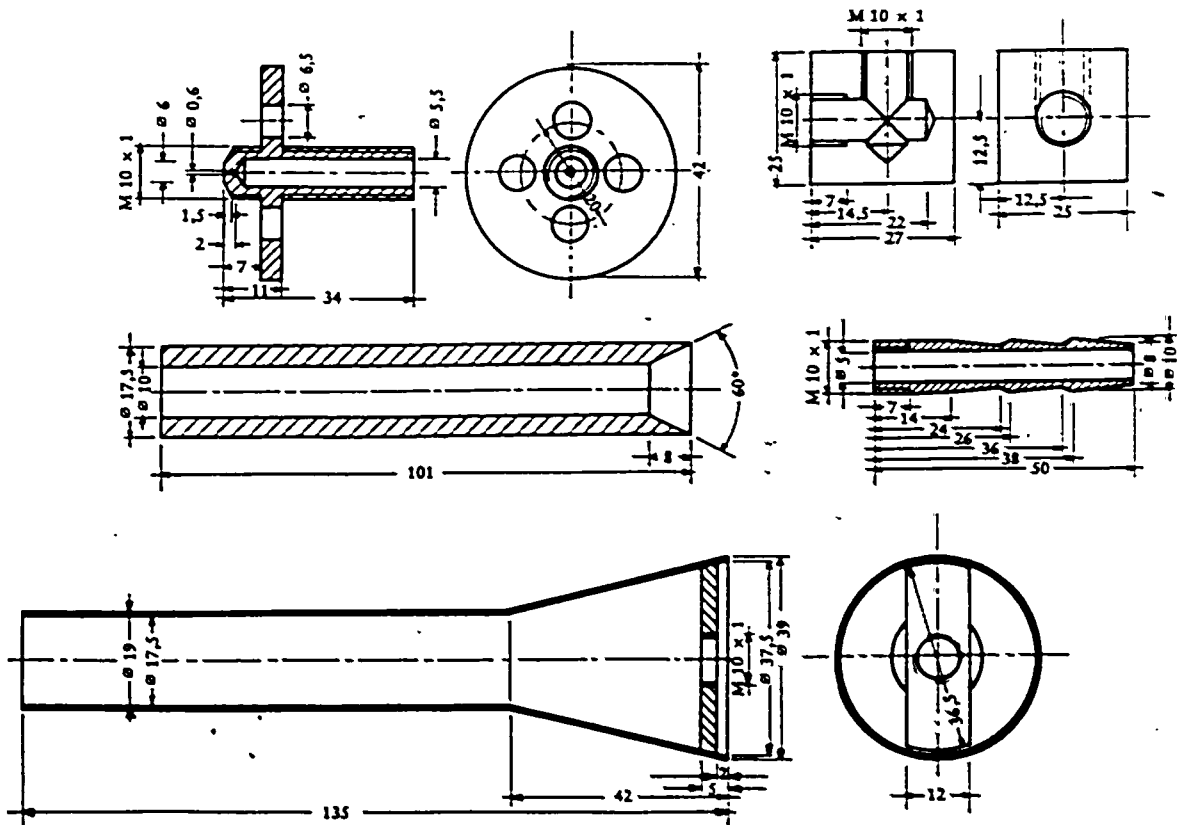
Σχήμα 3β

Υλικό: φερίαλκος
(Διαστάσεις σε mm)



Σχήμα 3α

Υλικό: φερίαλκος
(Διαστάσεις σε mm)



Δείγμα της ελεγχόμενης ουσίας δοκιμάζεται σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στο σημείο 1.6.3.

1.6.3. *Εκτίμηση του ελέγχου*

Βλέπε IEC 79-4, DIN 51794, ASTM-E 659-78 και BS 4056.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Αναγράφεται η θερμοκρασία του ελέγχου, η ατμοσφαιρική πίεση, η κορότητα του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε, η καθορισμένη μέχρι να γίνει η ανάφλεξη.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Η έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουφες πληροφορίες:

- την ακριβή προδιαγραφή της ουσίας (ταυτότητα και ζίνες προσμίξεις),
- την κορότητα του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε και την ατμοσφαιρική πίεση,
- τα αποτελέσματα των μετρήσεων (θερμοκρασία ελέγχου, αποτελέσματα που αφορούν την ανάφλεξη, αντίστοιχες καθυστερήσεις),
- όλες τις συμπληρωματικές παρατηρήσεις τις σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Καμία.

A. 16. ΑΥΤΟΑΝΑΦΛΕΙΣΙΜΟΤΗΤΑ (ΣΤΕΡΕΑ — ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΑΥΤΟΑΝΑΦΛΕΙΣΕΩΣ)

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Εκρηκτικές ουσίες και ουσίες που αναφλέγονται αυθόρμητα σε επαφή με τον αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος δε θα έπρεπε να υποβάλλονται σ' αυτόν τον έλεγχο.

Ο σκοπός αυτού του ελέγχου είναι να χορηγήσει προκαταρκτικές πληροφορίες στην αυτοαναφλεξιμότητα των στερεών ουσιών σε αυξημένες θερμοκρασίες.

Αν η θερμότητα που ανακτιύσσεται είτε από την αντίδραση της ουσίας με οξυγόνο είτε από την εξωθερμική αποσύνθεση δε διαχέεται αρκετά γρήγορα στο περιβάλλον, συμβαίνει αυτοθέρμανση που οδηγεί δε αυτοανάφλεξη. Αυτοανάφλεξη, συνεπώς, συμβαίνει όταν η ταχύτητα παραγωγής θερμότητας υπερβαίνει την ταχύτητα διαχύσεως της θερμότητας.

Η εκτίμηση του ελέγχου είναι χρήση σαν μια προκαταρκτική πληροφορία για τις στερεές ουσίες. Μετά από την κολλητική φύση της αναφλέξεως και καίσεως των στερεών, ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας αυτοαναφλέξεως, κατά τη μέθοδο αυτή, δε έπρεπε να χρησιμοποιείται μόνο για συγκριτικούς σκοπούς.

A. 15. ΑΥΤΟΑΝΑΦΛΕΙΣΙΜΟΤΗΤΑ (ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΑΥΤΟΑΝΑΦΛΕΙΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΗΘΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ ΚΑΙ ΑΕΡΙΩΝ)

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Είναι χρήσιμη η ύπαρξη προκαταρκτικής πληροφορίας για την αυτοαναφλεξιμότητα μιας ουσίας. Η διαδικασία του ελέγχου εφαρμόζεται σε αέρια και πτητικές υγρές ουσίες όπως κυκλοφορούν, που οι ίδιες ή οι αιτιοί τους μπορεί να αναφλεγούν με την παρουσία αέρα, από μία θερμή επιφάνεια. Η θερμοκρασία αυτοαναφλέξεως μπορεί να μειωθεί σημαντικά με την παρουσία καταλυτικά δράντων ξένων προσμιξών.

1.2. Ορισμοί και μονάδες

Ο βαθμός της αυτοαναφλεξιμότητας εκφράζεται σαν θερμοκρασία αυτοανάφλεξεως. Η θερμοκρασία αυτοανάφλεξεως είναι η χαμηλότερη θερμοκρασία στην οποία η ελεγχόμενη ουσία, σε μέγιστο με αέρα και κάτω από τις συνθήκες που καθορίζονται σ' αυτή τη μέθοδο ελέγχου, θα αναφλεγεί.

1.3. Ουσίες αναφοράς

Δεν έχουν προσδιοριστεί.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η αυτοαναφλεξιμότητα των αερίων και ατμών προσδιορίζεται με τη χρήση της συσκευής που περιγράφεται στο IEC 79-4.

1.5. Εργάσιμα ποσότητες

Η εναλλαξιμότητα ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή θερμοκρασιών της αυτοαναφλεξιμότητας και τη μέθοδο ελέγχου που χρησιμοποιείται· μέγιστη $\pm 5^\circ\text{C}$.

Η ευαισθησία εξαρτάται από τη μέθοδο ελέγχου που χρησιμοποιείται.

Η ειδική εφαρμογή, επίσης, εξαρτάται από τη μέθοδο ελέγχου που χρησιμοποιείται.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Συσκευή

Η συσκευή περιγράφεται στη μέθοδο που αναφέρεται στο σημείο 1.6.3.

1.6.2. Συνθήκες ελέγχου

- 1.2. Ορισμοί και μονάδες
 Η θερμοκρασία αυτοαναφλέξεως, όπως λαμβάνεται κατά τη μέθοδο αυτή, είναι η χαμηλότερη θερμοκρασία περιβάλλοντος σε °C στην οποία ένας ορισμένος όγκος μιας ουσίας αυτοαναφλέγεται υπό συνθήκες καθορισμένες.
- 1.3. Ουσία αναφοράς
 Ουδέμια.
- 1.4. Αρχή της μεθόδου
 Ορισμένος όγκος της ελεγχόμενης ουσίας τοποθετείται σε φούρνο σε θερμοκρασία δωματίου· καταγράφεται η καμψή μεταβολή της θερμοκρασίας στο κέντρο του δείγματος σαν συνάρτηση του χρόνου, ενώ η θερμοκρασία του φούρνου ανέρχεται στους 400 °C με ρυθμό 0,5 °C/min. Η θερμοκρασία του φούρνου στην οποία η θερμοκρασία του δείγματος πλησιάζει τους 400 °C με αυτοανάφλεξη καλείται, για τους σκοπούς αυτού του ελέγχου, θερμοκρασία αυτοαναφλέξεως.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας
 Ουδέν.
- 1.6. Περιγραφή της μεθόδου
- 1.6.1. Συσκευή
- 1.6.1.1. Φούρνος
 Ένας εργαστηριακός φούρνος (όγκου περίπου 2 l) με πρόγραμμα θερμοκρασίας, εφοδιασμένος με κυκλοφορία αέρα και διέξοδο εκρήξεως. Πρέπει να εξασφαλιστεί ότι τα σκουαδίστικα αέρια της αποου-
 θέσεως δεν έρχονται σε επαφή με τα ηλεκτρικά θερμαντικά σώματα, προς αποφυγή πιθανού κινδύνου εκρήξεως.
- 1.6.1.2. Κύβος από συρμάντινο πλέγμα
 Ένα κομμάτι από χαλύβδινο συρμάντινο πλέγμα, με ανοίγματα 0,045 mm, κόβεται σύμφωνα με το υπόδειγμα του σχήματος 1 (βλέπε προσάρτημα). Το πλέγμα θα διαλωθεί και θα στερεωθεί με τη βοήθεια σώματος σε σχήμα κύβου ανοκτού προς τα πάνω.
- 1.6.1.3. Θερμοστοιχεία

Κατάλληλα θερμοστοιχεία.

Καταγραφέας

Οκιοσδίστικα καταγραφέας δύο καναλιών βαθμονομημένες από 0 ° έως 600 °C ή αντίστοιχη τάση.

Συνθήκες ελέγχου

Οι ουσίες ελέγχονται στη μορφή που κυκλοφορούν.

Εκτίμηση του ελέγχου

Ο κύβος γεμίζεται με την ελεγχόμενη ουσία, κρούεται μαλακά και συμπληρώνεται με περαιτέρω προσθήκη ουσίας, μέχρι να γεμισθεί τελείως. Τότε το δείγμα αναρτάται στο κέντρο του φούρνου σε θερμοκρασία δωματίου. Το ένα θερμοστοιχείο τοποθετείται στο κέντρο του κύβου και το άλλο μεταξύ του κύβου και του τοιχώματος του φούρνου για να καταγράψει τη θερμοκρασία του φούρνου.

Οι θερμοκρασίες του φούρνου και του δείγματος καταγράφονται συνεχώς, ενώ η θερμοκρασία του φούρνου αυξάνεται μέχρι τους 400 °C ή μέχρι τη θερμοκρασία τήξεως του στερεού αν αυτή είναι χαμηλότερη, με ρυθμό 0,5 °C/min.

Όταν η ουσία αναφλέγει, το θερμοστοιχείο του δείγματος θα δείξει μία κοιλύ αόξια άνοδο της θερμοκρασίας πάνω από τη θερμοκρασία του φούρνου.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η θερμοκρασία του φούρνου στην οποία το δείγμα πλησιάζει τη θερμοκρασία των 400 °C με αυτοανά-
 φλεξη είναι σχετική για την αξιολόγηση (βλέπε σχήμα 2 στο προσάρτημα).

3. ΕΚΘΕΣΗ

Η έκθεση πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- περιγραφή της ελεγχόμενης ουσίας,
- τα αποτελέσματα της μετρήσεως, συμπεριλαμβανομένης της καμψής θερμοκρασίας/χρόνου,
- όλες τις συμπληρωματικές παρατηρήσεις που είναι σχετικές με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Κομία.

Α. 17. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ

1.

Εισαγωγή

1.1.

Είναι χρήσιμο να υπάρχουν προκαταρκτικές πληροφορίες για τη δυναμικότητα εκρηκτικών ιδιοτήτων και τοξικότητας της ουσίας πριν πραγματοποιηθεί αυτός ο έλεγχος. Ο έλεγχος αυτός δεν εφαρμόζεται σε υγρά και αέρια, εκρηκτικές ή λιαν εύφλεκτες ουσίες, οργανικά υπεροξείδια ή καύσιμες ουσίες με τάση να τήκονται κάτω από τις συνθήκες του ελέγχου. Αυτός ο έλεγχος είναι ανεφάρμοστος όταν η εξέταση του συντακτικού τύπου της ουσίας επιβεβαιώνει, πέρα από κάθε δικαιολογημένη αμφιβολία, ότι η ουσία, ή παρασκεύασμα αυτής, είναι ανίκανη να αντιδράσει εξώθερμα με ένα καθορισμένο υλικό. Για να προσδιοριστεί εάν πρέπει να ληφθούν ειδικές προφυλάξεις, θα πρέπει να εκτελεστεί ένας προκαταρκτικός έλεγχος.

Ορισμοί και μονάδες

1.2.

Χρόνος καύσης: ο χρόνος αντίδρασης σε δευτερόλεπτα, ο απαιτούμενος για να διαδοθεί η ζώνη αντίδρασης κατά μήκος μιας στήλης, σύμφωνα με τη διαδικασία του σημείου 1.6.

Ταχύτητα καύσης: εκφραζόμενη σε mm/s.

Μέγιστη ταχύτητα καύσης: η υψηλότερη τιμή από τις ταχύτητες καύσης που λαμβάνονται με μέγιστα που περιέχουν 10 % έως 90 % κατά βάρος οξειδωτικό.

Ουσίες αναφοράς

1.3.

Το νιτρικό βόριο (ποιότητας ανάλυσης) χρησιμοποιείται σαν ουσία αναφοράς για τον έλεγχο και τον προκαταρκτικό έλεγχο.

Στον προκαταρκτικό έλεγχο μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθεί το διχρωμικό κάλιο.

Ειδικές προφυλάξεις πρέπει να ληφθούν όταν χειρίζεσαστε διχρωμικό κάλιο.

Το μέγμα αναφοράς είναι εκείνο το μέγμα νιτρικού βορίου με σκόνη κινταρίνης, παρασκευασμένο σύμφωνα με το σημείο 1.6, που έχει τη μέγιστη ταχύτητα καύσης (συνήθως μέγμα με 60 % κατά βάρος νιτρικό βόριο).

Αρχή της μεθόδου

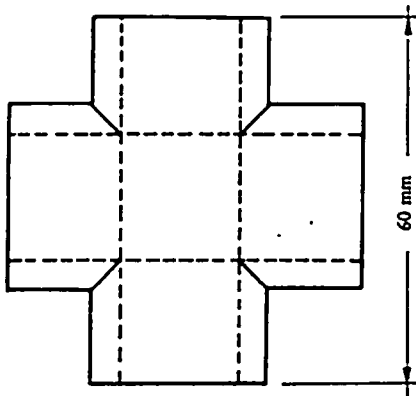
1.4.

Έως προκαταρκτικός έλεγχος διεξάγεται για λόγους ασφαλείας. Ο έλεγχος θα είναι επαρκής όταν ο προκαταρκτικός έλεγχος δείχνα καθαρά ότι η ελεγχόμενη ουσία, ή παρασκεύασμα αυτής, έχει οξείδωτικές ιδιότητες. Όταν δεν είναι αυτή η περίπτωση, η ουσία ή το παρασκεύασμα αυτής θα υποβληθούν σε περαιτέρω έλεγχο. Κατά τον περαιτέρω έλεγχο, η ελεγχόμενη ουσία και μια καθορισμένη καθαρή ουσία ανακτώνται υπό διάφορες αναλογίες. Κάθε μέγμα μορφώνεται σε στήλη και η στήλη ανάβεται στη μια άκρη. Η μέγιστη προσδιοριζόμενη ταχύτητα καύσης συγκρίνεται με τη μέγιστη ταχύτητα καύσης του μείγματος αναφοράς.

Προσάρτημα

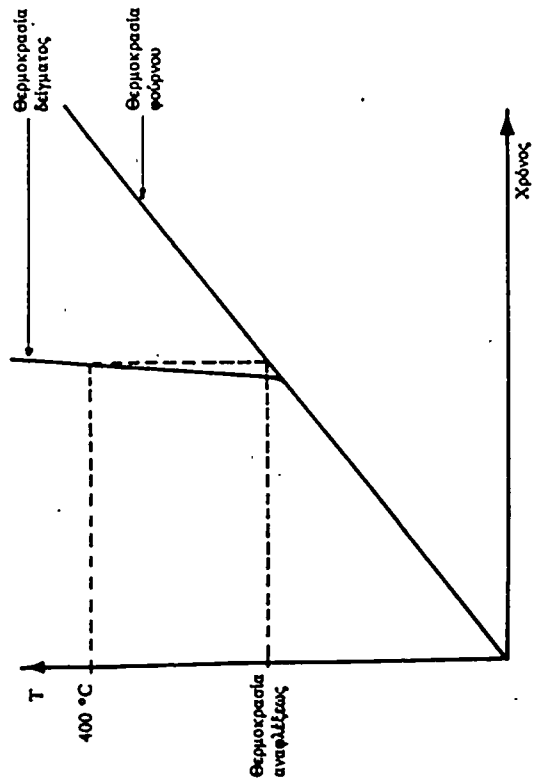
Σχήμα 1

Υπόδειγμα κύβου ελέγχου 20 mm

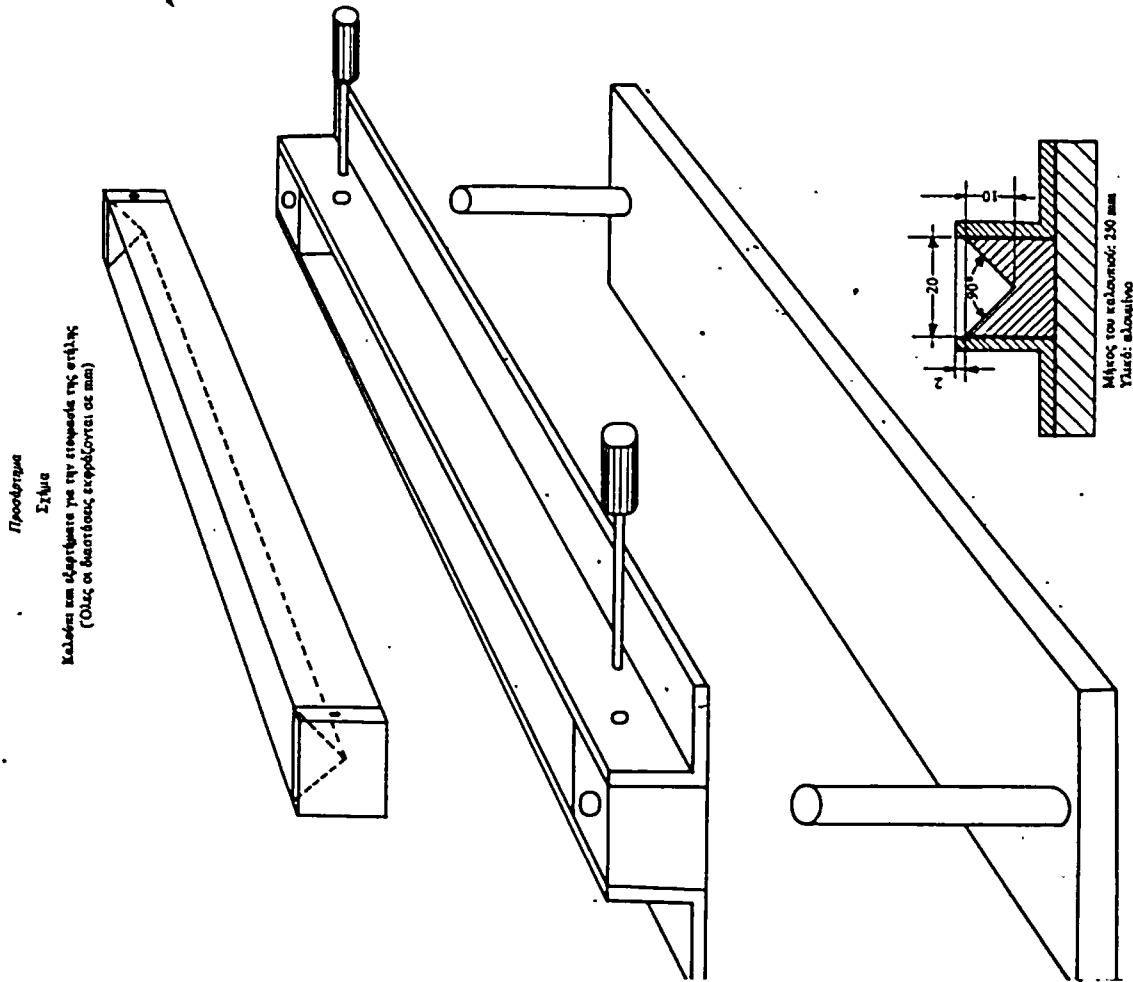


Σχήμα 2

Τυπική καμπύλη θερμοκρασίας/χρόνου



- 1.5. **Κριτήρια ποιότητας**
Εάν είναι απαραίτητο, κάθε μέθοδος άλεσης και ανάμιξης θεωρείται κατάλληλη, εφόσον η διαφορά στη μέγιστη ταχύτητα κούσης στους έξι διαφορετικούς έλεγχους δε διαφέρει από τη μέση αριθμητική τιμή περισσότερο από 10 %.
- 1.6. **Περιγραφή της μεθόδου**
- 1.6.1. **Προκαταρκτικός έλεγχος**
Η ουσία, ευρισκόμενη στην εμπορική της μορφή, ξηραίνεται. Η ξηραμένη ουσία ανακατεύεται με ξηρή κутταρίνη με αναλογία, κατά βάρος, 2 μέρη της ελεγχόμενης ουσίας προς 1 μέρος της κутταρίνης και σχηματίζεται με το μέγιστο μισή κωνική στήλη διαμέτρου βάσης 3,5 cm και ύψους 2,5 cm χρησιμοποιώντας ένα κωνικό σκέυος χωρίς σμίκρυνση (π.χ. μια εργαστηριακή χοάνη με το ένα άκρο της βουλωμένο).
Η στήλη τοποθετείται επάνω σε μια δροσερή, αδιαπεράσιμη, μη σγύρμη επιφάνεια υπεράνω της πηγής ανάφλεξης, η οποία αποτελείται από ένα αδρανές μεταλλικό σύρμα, από πλατίνα ή νικέλιο (το οποίο μπορεί να θερμανθεί ηλεκτρικά μέχρι 1 000 °C περίπου), τοποθετημένη περίπου 1 mm επάνω από την επιφάνεια έλεγχου και η οποία καλύπτει τη βάση της κωνικού σχήματος στήλης. Ο έλεγχος πρέπει να διεξαχθεί εντός ατμοσφαιρικού εστίας, όπως στο σημείο 1.6.3.
- Η πηγή ανάφλεξης ανάβεται και τίθεται σε συνεχή λειτουργία. Η ισχύς και η διάρκεια της αντίδρασης παρατηρούνται και σημειώνονται.
- Εάν η αντίδραση είναι ισχυρή, η ουσία, ή το παρασκεύασμα αυτής, θεωρείται σαν οξειδωτική.
Σε κάθε περίπτωση που το αποτέλεσμα αφήνει κάποια αμφιβολία, τότε είναι απαραίτητο να συμπληρωθεί ο πλήρης έλεγχος που περιγράφεται παρακάτω.
- 1.6.2. **Προτοιμασία**
- 1.6.2.1. **Ελεγχόμενη ουσία**
Το ελεγχόμενο δείγμα μετατρέπεται σε σωματίδια μεγέθους μικρότερου των 0,125 mm, χρησιμοποιώντας την ακόλουθη διαδικασία:
Κοσκινίζεται η ελεγχόμενη ουσία στην εμπορική της μορφή.
Κονοκομείται το εναπομείναν κλάσμα, και η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρις ότου να περάσει από το κόσκινο όλη η ποσότητα της ουσίας.
Κάθε μέθοδος κονοκομησης και κοσκινίσματος που ικανοποιεί τα ποσοτικά κριτήρια μπορεί να χρησιμοποιηθεί.
Πριν από την παρασκευή του μείγματος, η ουσία ξηραίνεται στους 105 °C μέχρι σταθερού βάρους.
Αν η θερμοκρασία εσθονέψης της ελεγχόμενης ουσίας είναι μικρότερη από 105 °C, η ουσία πρέπει να ξηραθεί σε κατάλληλη χαμηλότερη θερμοκρασία.
- 1.6.2.2. **Καύσιμη ουσία**
Σαν καύσιμη ουσία χρησιμοποιείται σκόνη κутταρίνης. Η κутταρίνη πρέπει να είναι του τύπου που χρησιμοποιείται για χρωματογραφία λεπτής στρώδας ή χρωματογραφία στήλης.
Έχει αποδειχθεί ότι είναι κατάλληλος ο τύπος με μήκη ινών που σε ποσοστό πάνω από 85 % κυμαίνονται μεταξύ 0,020 mm και 0,075 mm.
Η σκόνη κутταρίνης περνάει από κόσκινο με διάμετρο οσών 0,125 mm.
- Πριν από την παρασκευή του μείγματος, η σκόνη κутταρίνης πρέπει να ξηραθεί στους 105 °C μέχρι σταθερού βάρους.
- 1.6.2.3. **Μείγμα**
Παρασκευάζονται μείγματα οξειδωτικού/κутταρίνης που περιέχουν 10 έως 90 % κατά βάρος οξειδωτικό με αυξανόμενο προοδευτικά ποσοστό κατά 10 %. Στις οριακές περιπτώσεις πρέπει να χρησιμοποιούνται ενδιάμεσα μείγματα οξειδωτικού/κутταρίνης, ώστε να προσδιορίζεται ακριβέστερα η μέγιστη ταχύτητα κούσης.
- Σημείωση:**
Τα μείγματα οξειδωτικών με κутταρίνη πρέπει να ελεγχίζονται σαν δυνάμεινα να εκραγούν και να χερρίζονται με τη δέουσα προσοχή.
- Η στήλη μορφώνεται με τη βοήθεια ενός καλουπιού. Το καλούκι είναι κατασκευασμένο από μέταλλο, έχει μήκος 230 mm και τριγωνική διατομή με εσωτερικό ύψος 10 mm και εσωτερικό πλάτος 20 mm. Στα δύο κλάγια του καλουπιού και στην κατά μήκος διεύθυνση τοποθετούνται δύο μεταλλικά φύλλα, σαν πλευρικές έδρες, που φέρνουν 2 mm ψηλότερα από την άνω ακμή της τριγωνικής διατομής (σχήμα).
Η κατασκευή αυτή γεμίζεται χαλαρά με μείγμα, σε μικρή ποσότητα. Αφήνεται το καλούκι να κλείσει για 2 cm σε μια στερεή επιφάνεια και η απομένουσα ποσότητα της ουσίας αποχύνεται με ένα φύλλο που μετακινείται λοξά. Αφαιρούνται ύστερα οι πλευρικές έδρες και η σκόνη που μένει λειώνεται με τη βοήθεια κυλίνδρου. Τώρα, τοποθετείται στην κορυφή του καλουπιού μια πλάκα που δεν καίγεται, αναστρέφεται η συσκευή και αφαιρείται το καλούκι.
- 1.6.2.4. **Πηγή ανάφλεξης**
Σαν πηγή ανάφλεξης χρησιμοποιείται η φλόγα ενός λόγνου ή ένα σύρμα λευκοχρόσου που θερμαίνεται ηλεκτρικά στους 1 000 °C περίπου.
Εκτέλεση του έλεγχου
Η στήλη τοποθετείται στο ρεύμα μιας ατμοσφαιρικού εστίας. Η ταχύτητα του αέρα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να μη διαφεύγουν ατμοί μέσα στο εργατήριο και, επίσης, δεν πρέπει να μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια του έλεγχου. Ένα κάλυμμα, προστατευτικό για τα ρέματα, πρέπει να υπάρχει γύρω από τη συσκευή.
Λόγω της υγροσκοπικότητας της κутταρίνης και των ελεγχόμενων ουσιών, ο έλεγχος πρέπει να διεξάγεται όσο το δυνατό γρηγορότερα.
Ανάβεται η μια άκρη της στήλης φέροντας σε επαφή τη φλόγα ή το πυρακτωμένο σύρμα λευκοχρόσου.
Μετρείται ο χρόνος αντίδρασης μήκους 200 mm, αφού η ζώνη αντίδρασης έχει διαδοθεί σε αρχική απόσταση 30 mm.
- Ο έλεγχος εκτελείται με την ουσία αναφοράς. Μετά ο έλεγχος διεξάγεται τουλάχιστον μία φορά για κάθε μείγμα της ελεγχόμενης ουσίας με την κутταρίνη.



Εάν η μέγιστη ταχύτητα καύσης είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη της ουσίας αναφοράς, ο έλεγχος μπορεί να τερματιστεί, διαφορετικά για τα τρία μέγιστα που καθήγγαν τις τρεις υψηλότερες ταχύτητες καύσης ο έλεγχος πρέπει να επαναληφθεί ξένη φορά.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Πα λόγους ασφαλείας, η μέγιστη ταχύτητα καύσης — και όχι η μέση τιμή — πρέπει να θεωρείται σαν χαρακτηριστική των οξειδωτικών ιδιοτήτων της ελεγχόμενης ουσίας. Η υψηλότερη τιμή ταχύτητας καύσης, σε μια σειρά έξι ελεγχών ενός δεδομένου μέγιστος, είναι εκείνη που πρέπει να αξιολογηθεί.

Χαράσσεται καμκώλη της υψηλότερης τιμής ταχύτητας καύσης κάθε μέγιστος ως προς το ποσοστό του οξειδωτικού.

Από την καμκώλη λαμβάνεται η μέγιστη ταχύτητα καύσης.

Οι έξι μετρήσιμες τιμές ταχύτητας καύσης, οι οποίες λαμβάνονται από μια σειρά μετρήσεων με το μέγιστο που έχει τη μέγιστη ταχύτητα καύσης, δεν πρέπει να διαφέρουν από τη μέση αριθμητική τιμή περισσότερο από 10 %, διαφορετικά οι μέθοδοι άλλεσης και ανάμειξης πρέπει να βελτιωθούν.

Συγκρίνεται η μέγιστη ταχύτητα καύσης που μετρήθηκε με τη μέγιστη ταχύτητα καύσης του μέγιστος αναφοράς (βλ.τε σημείο 1.3).

3. ΕΚΘΕΣΗ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει, εάν είναι δυνατόν, τις ακόλουθες πληροφορίες:

- περιγραφή της ελεγχόμενης ουσίας,
- κάθε εξέταση του ελεγχόμενου δείγματος (π.χ. κομποποίηση, ξήρανση, κ.λπ.),
- τα αποτελέσματα των μετρήσεων,
- τον τρόπο αντίδρασης (π.χ. εμφανειακή καύση, καύση μέσα στη μάζα, κληροφορίες σχετικές με τα προϊόντα καύσης, κ.λπ.),
- κάθε πρόσθετη παρατήρηση που είναι απαραίτητη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, συμπεριλαμβανομένης της περιγραφής της ισχύος (ανάφλεξη, σκινθρισμό, καπνό, σπρή καύση, κ.λπ.).

Και κατά προσέγγιση, τη διάρκεια του προκαταρκτικού ελέγχου ασφαλείας για την ελεγχόμενη και την ουσία αναφοράς.

3.2.

Εμφάνιση των αποτελεσμάτων

Μια ουσία πρέπει να θεωρείται σαν οξειδωτική ουσία όταν:

- α) στον προκαταρκτικό έλεγχο η αντίδραση είναι ισχυρή
- β) η μέγιστη ταχύτητα καύσης των ελεγχόμενων μεγεμάτων είναι μεγαλύτερη ή ίση προς τη μέγιστη ταχύτητα καύσης του μέγιστος αναφοράς κυτταρίνης και νιτρικού βαρίου.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Καμία.

ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗ (συμπεριλαμβανόμενου του ελέγχου διαλογής της καρκινογένεσης)

Για την προκαταρκτική εκτίμηση της μεταλλαξογόνου δράσεως μιας ουσίας, είναι αναγκαία η απόκτηση πληροφοριών για δύο κατηγορίες τελικών στόχων, δηλαδή τη μετάλλαξη γόνων και τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Αυτοί οι δύο τελικοί στόχοι αξιολογούνται με τις ακόλουθες δοκιμασίες:

- i) δοκιμασίες για την παραγωγή γονιδιακών μεταλλάξεων (μεταλλάξεις σημείων) σε προκαρκινικά κύτταρα, όπως η *Salmonella typhimurium*. Δοκιμασίες με την *Escherichia coli* είναι, επίσης, επιτρεπτές. Η εκλογή ανάμεσα στους δύο αυτούς περιφερειακούς οργανισμούς μπορεί να καθοριστεί από τη φύση της ελεγχόμενης χημικής ουσίας
- ii) δοκιμασίες για την παραγωγή χρωμοσωμικών ανωαλιών σε κύτταρα θηλαστικών αναπτυσθάντα *in vitro*. Διαδικασία *in vivo* (όπως αυτή του μικροκυρήνα ή της αναλώσεως της μεταφάσεως στα κύτταρα του μυελού των οστών) είναι επίσης επιτρεπτή.

Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Η τοξικολογία είναι μια αναπτυσσόμενη περιφερειακή επιστήμη. Υπάρχει άφθονη βιβλιογραφία για κάθε θέμα. Σχετικές πληροφορίες μπορούν να βρεθούν στις καταλυνηθικές δοκιμασίες του ΟΟΣΑ.

Προβλεπόμενες παρατηρήσεις

Περιποίηση ζώων

Για τις δοκιμασίες τοξικότητας, ο αυστηρός έλεγχος των συνθηκών του περιβάλλοντος και οι κατάλληλες τεχνικές για την περιποίηση των ζώων είναι ουσιώδεις.

i) Συνθήκες εγκλωβισμού

Οι συνθήκες περιβάλλοντος στους θαλάμους των πειραματοζώων πρέπει να είναι οι κατάλληλες για το κάθε είδος πειραματοζώου. Για τα τρωκτικά, η κατάλληλη θερμοκρασία είναι 22 °C (± 3 °C) με σχετική υγρασία 30—70 %. Για τα κουνέλια και τα ινδικά χοιρίδια, η θερμοκρασία πρέπει να είναι 20 °C (± 3°C) με σχετική υγρασία 30—70 %.

Μερικές περιφερειακές τεχνικές είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην επίδραση της θερμοκρασίας και, σ' αυτές τις περιπτώσεις, η περιγραφή της περιφερειακής μεθόδου πρέπει να περιλαμβάνει και λεπτομέρειες για τις κατάλληλες συνθήκες. Σε όλες τις έρευνες για τις τοξικές επιδράσεις, η θερμοκρασία και η υγρασία πρέπει να παρακολουθούνται, να καταγράφονται και να περιλαμβάνονται στη σύνταξη της τελικής εκθέσεως της μελέτης.

Όταν ο φωτισμός είναι τεχνητός, η φωτοπερίοδος πρέπει να αποτελείται από 12 ώρες φωτός και 12 ώρες σκότους. Λεπτομέρειες για τον προγραμματισμό της φωτοπεριόδου πρέπει να καταγράφονται και να περιλαμβάνονται στη σύνταξη της τελικής εκθέσεως της μελέτης.

Στις εκθέσεις πειραματοζώων στα ζώα, είναι σημαντικό να αναφέρεται ο τύπος των χρησιμοποιούμενων κλωβών και οι ερωτήσεις των ζώων ανά κλωβό, τόσο κατά την περίοδο εκθέσεως στη χημική ουσία όσο και κατά την περίοδο των παρατηρήσεων.

ii) Συνθήκες διατροφής

Τα σιτηρέσια πρέπει να ανταποκρίνονται σε όλες τις τροφικές απαιτήσεις του χρησιμοποιούμενου πειραματοζώου. Όταν οι ουσίες χορηγούνται στα ζώα μαζί με την τροφή τους, η θρεπτική αξία του σιτηρέσιου μπορεί και να ελαττωθεί λόγω αλληλεπιδράσεων μεταξύ της ουσίας και των συστατικών της τροφής.

Η δυνατότητα μιας τέτοιας αντίδρασης πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν γίνεται ερμηνεία των αποτελεσμάτων του πειράματος.

Τροφικές μολυσματικές ουσίες που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν την τοξικότητα δεν πρέπει να περιλαμβάνονται στο σιτηρέσιο σε ικανές συγκεντρώσεις.

ΜΕΡΟΣ Β: ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ: ΜΕΡΟΣ Β

Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Βλέπε γενική εισαγωγή.

Β. ΟΡΙΣΜΟΙ

- i) Η *οξεία τοξικότητα* περιλαμβάνει τις δυσμενείς επιδράσεις που εμφανίζονται μέσα σε δεδομένο χρονικό διάστημα (συνήθως 14 ημέρες) μετά από τη χορήγηση μιας και μόνο δόσεως μιας ουσίας.
- ii) Η *LD₅₀* (μείση θανατηφόρος δόση) είναι η στατιστικά υπολογισμένη μία και μοναδική δόση μιας ουσίας η οποία αναμένεται να προκαλέσει το θάνατο σε 50 % των δηλητηριασμένων ζώων. Η τιμή της LD₅₀ εκφράζεται με το βάρος της ελεγχόμενης ουσίας προς τη μονάδα βάρους του πειραματοζώου (mg/kg).
- iii) Η *LC₅₀* (μείση θανατηφόρος συγκέντρωση) είναι η στατιστικά υπολογισμένη συγκέντρωση μιας ουσίας η οποία αναμένεται να προκαλέσει το θάνατο, κατά την έκθεση ή μέσα σε προκαθορισμένο χρόνο μετά την έκθεση, σε 50 % των ζώων που εκτίθηκαν σ' αυτή για ένα ορισμένο χρονικό διάστημα. Η τιμή της LC₅₀ εκφράζεται με το βάρος της ελεγχόμενης ουσίας ανά σταθερό όγκο αέρα (mg/l).
- iv) Το *επίπεδο μη τοξικών επιδράσεων* είναι η μέγιστη δόση ή το μέγιστο επίπεδο εκθέσεως που χρησιμοποιούνται σε μία δοκιμασία και δεν προκαλούν κανένα εμφανές τοξικό φαινόμενο.
- v) Η *υπερξία/υποξία* τοξικότητα περιλαμβάνει τις δυσμενείς επιδράσεις που εμφανίζονται στα πειραματοζώα σαν αποτέλεσμα των επανειλημμένων ημερήσιων χορηγήσεων μιας χημικής ουσίας ή εκθέσεων σ' αυτή για ένα βραχύ χρονικό διάστημα, μέρος της αναμενόμενης διάρκειας ζωής τους.
- vi) Η *μέγιστη ανεκτή δόση* (ΜΑΔ) είναι το υψηλότερο επίπεδο δόσεων που προκαλεί τοξικά συμπτώματα χωρίς όμως σοβαρές επιδράσεις για την επιβίωση των ζώων, επιφώση σχετικά με τη δοκιμασία π.χ. σε μελέτες καρκινογένεσης, επιδράσεως που την προκαλούν άλλες από οδήματα.
- vii) *Δερματική ερεθιστικότητα* είναι η δημιουργία αντισηπτικών φλογώσεων στο δέρμα ύστερα από την εφαρμογή μιας ελεγχόμενης ουσίας.
- viii) *Ερεθιστικότητα οφθαλμού* είναι η δημιουργία αντισηπτικών μεταβολών στον οφθαλμό ύστερα από την εφαρμογή μιας ελεγχόμενης ουσίας στην εσωτερική επιφάνεια του οφθαλμού.
- ix) *Επισθητικότητα δέρματος* (αλλεργική δερματίτις επαφής) είναι μία δερματική αντίδραση σε μία ουσία ενεργόφιμη ανοσοαλογικά.

Γ. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Υπάρχουν όρια για τη δυνατότητα ακριβούς εκτίμησης των αποτελεσμάτων δοκιμών στα πειραματοζώα και *in vitro*, στον άνθρωπο, και αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν γίνεται η αξιολόγηση και η ερμηνεία των δοκιμών.

Εφόσον υπάρχουν δεδομένα για τον άνθρωπο, αυτά θεωρούνται πιο σχετικά με τον προσδιορισμό των δυναμικών επιδράσεων των χημικών ουσιών σε πληθυσμό ανθρώπων.

- 1.6.2.1.** Πειραματόζωα
- Εφόσον δεν υπάρχουν αντενδείξεις, ο εκίμυς είναι το προτιμώμενο είδος.
- Πρέπει να χρησιμοποιούνται οι συνήθεις εργαστηριακές φυλές. Για κάθε φύλο, το εύρος της διαφοράς βάρους των χρησιμοποιούμενων ζώων σε μια δοκιμασία δεν πρέπει να υπερβίνει το $\pm 20\%$ της κανονικής μέσης τιμής.
- 1.6.2.2.** Αριθμός και φύλο
- Χρησιμοποιούνται 10 τουλάχιστον τρωκτικά (5 θηλυκά και 5 αρσενικά) για κάθε επίπεδο δόσεως. Τα θηλυκά πρέπει να είναι άτοκα και να μη βριακονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης.
- 1.6.2.3.** Εκίκεδα δόσεων
- Οι δόσεις πρέπει να είναι αρκετές σε αριθμό, τουλάχιστον τρεις, και κατάλληλα καταμετρημένες έτσι ώστε να δημιουργούνται κερματικές ομάδες με εύρος τοξικών επιδράσεων και ποσοστών θνησιμότητας. Τα δεδομένα πρέπει να είναι αρκετά για την κατασκευή της καμπύλης τοξικότητας και εφόσον είναι δυνατόν, τον προσδιορισμό της LD₅₀.
- 1.6.2.4.** Οριακή δοκιμασία
- Για τις περισσότερες περιπτώσεις, μπορεί να γίνει μια ικανοποιητική εκτίμηση της οξείας από στόματος δυναμικής τοξικής ενέργειας μιας, αν μετά τη χορήγηση μιας δόσεως 5 000 mg/kg δεν παρατηρήσει μέσα σε 14 ημέρες θνησιμότητα (σε ομάδα 5 ζώων από κάθε φύλο) που να μπορεί να αποδοθεί στην ουσία.
- 1.6.2.5.** Περίοδος παρατηρήσεων
- Η περίοδος παρατηρήσεων πρέπει να είναι τουλάχιστον 14 ημέρες. Εντούτοις, η διάρκεια των παρατηρήσεων δεν πρέπει να είναι αυστηρά καθορισμένη. Αυτή θα προσδιορίζεται από τις τοξικές αντιδράσεις, την ταχύτητα εμφάνισής τους και τη διάρκεια του χρόνου που απαιτείται για την ανάρρωση. Έτσι η περίοδος μπορεί να επεκταθεί, αν αυτό κριθεί αναγκαίο. Ο χρόνος εμφάνισης και εξασφάλισης των τοξικών συμπτωμάτων και ο χρόνος θανάτου είναι σημαντικοί, κυρίως όταν παρατηρείται μια τάση για καθυστερημένη θνησιμότητα.
- 1.6.3.** Διαδικασία
- Τα ζώα πρέπει να υποβάλλονται σε νηστεία πριν από τη χορήγηση της ουσίας. Ο εκίμυς πρέπει να μίξει χωρίς τροφή όλη τη νύκτα. Για ζώα με υψηλότερο μεταβολισμό, συνιστάται μικρότερη περίοδος νηστείας. Για χορήγηση νερού δεν υπάρχει περιορισμός. Την εκόμενη ημέρα τα ζώα πρέπει να ζυγίζονται και να τους χορηγείται η ελεγχόμενη ουσία, σε μια δόση ανά ομάδα, με ατομική καθετήραση. Αν η χορήγηση μιας μόνο δόσεως δεν είναι δυνατή, η δόση μπορεί να χορηγείται σε μικρότερα κλάσματα, σε μια περίοδο που δεν υπερβαίνει τις 24 ώρες. Μετά τη χορήγηση της ουσίας, δεν πρέπει να χορηγείται τροφή για άλλες 3 — 4 ώρες. Όταν μια δόση χορηγείται κατά κλάσματα μέσα σε μια χρονική περίοδο, ίσως χρειασθεί η χορήγηση τροφής και νερού και αυτό θα εξαρτηθεί από τη διάρκεια χορήγησης της χημικής ουσίας. Μετά τη χορήγηση της ουσίας, γίνονται παρατηρήσεις που θα πρέπει να καταγράφονται αυστηρωτικά και ατομικά για κάθε ζώο. Κατά τη διάρκεια της πρώτης ημέρας, οι παρατηρήσεις πρέπει να γίνονται συχνά. Πρέπει να γίνεται μία προσεκτική κλινική εξέταση, τουλάχιστον μια φορά κάθε εργάσιμη ημέρα, άλλες παρατηρήσεις πρέπει να γίνονται καθημερινά και να λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα για την εξάλειψη των εξασθενημένων ή ετοιμοθανάτων ζώων. Οι παρατηρήσεις πρέπει να απομνησθών η κατάσταση των εξασθενημένων ή ετοιμοθανάτων ζώων. Οι παρατηρήσεις πρέπει να περιλαμβάνουν τις αλλαγές στο δέρμα και στο τρίχωμα, στα μάτια και στους βλεννογόνους, όπως επίσης και τις αλλαγές του αναπνευστικού, κυκλοφορικού, αυτόνομου και κεντρικού νευρικού συστήματος, της συμπεριφορικής δραστηριότητας και του τρόπου συμπεριφοράς. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στις παρατηρήσεις τρόμου, σπασμών, σελάρρους, διάρροιας, λήθαργου, ύπνου και κόπιατος. Ο χρόνος θανάτου πρέπει να καταγράφεται όσο το δυνατόν ακριβέστερα.

B. 1. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΣΤΟΜΑΤΟΣ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος B (σημείο Α).

1.2. Ορισμοί

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος B (σημείο Β).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Ουδαμία.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται από το στόμα, με οισοφαγική καθετήραση, σε διαβραμιαμένες δόσεις στις διάφορες ομάδες κερματιοζώων, μία δόση ανά ομάδα. Στη συνέχεια, γίνονται παρατηρήσεις για τοξικές επιδράσεις και θανάτους. Τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια του περιόριστου νεκροτομούνται, όπως και αυτά που εκζούν, στο τέλος του περιόριστου. Η μέθοδος αυτή είναι για προκαταρκτικές μελέτες σε είδη τρωκτικών.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Ουδέν.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Προτοιμασίες

Τα ζώα κρατούνται, για τουλάχιστον 5 ημέρες πριν από την έναρξη του περιόριστου, στις περιματικές συνθήκες εγκλεισμού και διατροφής. Πριν από τη δοκιμή, νεσρά, υγιή, ενήλικα ζώα λαμβάνονται με τυπαιοποίηση και κατατάσσονται σε κερματικές ομάδες. Η ελεγχόμενη ουσία, όταν χρειάζεται, διαλύεται ή γίνεται αιώρημα σε κατάλληλο φορέα. Συνιστάται, εφόσον είναι δυνατόν, η χρήση υδατικού διαλύματος, στη συνέχεια αντιμετωπίζεται η χρήση διαλυμάτων σε φυτικά λάδια και μετά διάλυση ή αιώρημα σε άλλους πιθανούς φορείς. Για τους μη υδατικούς φορείς, τα σχετικά τοξικά χαρακτηριστικά τους πρέπει να είναι γνωστά ή να προσδιορίζονται πριν ή κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Για τα τρωκτικά, ο όγκος του φορέα δεν πρέπει κανονικά να υπερβαίνει τα 10 ml/kg βάρους του σώματος, εκτός από την περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων όπου μπορεί να χρησιμοποιείται όγκος φορέα 20 ml/kg. Διαφορές στον χρησιμοποιούμενο όγκο πρέπει να αποφεύγονται. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσαρμογή της συγκεντρώσεως, ώστε να εξασφαλίζεται ο σταθερός όγκος για όλες τις χρησιμοποιούμενες δόσεις.

1.6.2. Συνθήκες εξέλιξης

B. 2. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ (ΑΝΑΓΝΩΣΤΙΚΗ)

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ
- Τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμίας και εκείνα που εκάζουν στο τέλος του περιβάσιτος υπόκεινται σε νεκρώσια. Όλες οι μακροσκοπικά παρατηρούμενες παθολογικές αλλοιώσεις πρέπει να καταγράφονται. Όπου ενδέχονται, πρέπει να λαμβάνονται ιστοί για ιστοπαθολογική εξέταση.
3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ
- 3.1. Έκθεση ελέγχου
- Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:
- είδος, φύλη, κηγή, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή, κλπ.,
 - συνθήκες περιβάσιτος,
 - επίδεξα δόσεων (με φορέα, εάν χρησιμοποιείται, και συγκέντρωση),
 - κατάταξη, σε πίνακα, των αντιδράσεων ανά φύλο και δόση (δηλαδή ο αριθμός των ζώων που πέθαναν, ο αριθμός των ζώων που έδειξαν συμπτώματα τοξικότητας και ο αριθμός ζώων που δηλητηριάστηκαν),
 - χρόνος θανάτου μετά τη δηλητηρίαση,
 - παρατηρήσεις επί των κλωνών,
 - τιμή της LD₅₀ για κάθε φύλο, προσδιορισμένη τη 14η ημέρα (η μέθοδος προσδιορισμού να ορίζεται λεπτομερώς),
 - διάστημα εμπιστοσύνης 95 % για την LD₅₀
 - κεντρική τοξικότητας και κλίση καμπύλης (εφόσον το επιτρέπει η μέθοδος προσδιορισμού),
 - αποτελέσματα νεκρώσιων,
 - κάθε ιστοπαθολογικό αποτέλεσμα,
 - σύζηση επί των αποτελεσμάτων,
 - ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- 3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία
- Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
- Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).
1. ΜΕΘΟΔΟΣ
- 1.1. Εισαγωγή
- Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).
- 1.2. Όρισμα
- Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).
- 1.3. Ουσίες αναφοράς
- Ουδέμια.
- 1.4. Αρχή της μεθόδου
- Διάφορες ομάδες πειραματοζώων εκτίθενται για ένα ορισμένο χρονικό διάστημα σε διαβαθμισμένες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας, μιας μόνο συγκεντρώσεως χρησιμοποιούμενης ανά ομάδα. Στη συνέχεια γίνονται παρατηρήσεις για τοξικές επιδράσεις και θανάτους. Τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμίας νεκροτομούνται, καθώς επίσης και εκείνα που εκάζουν στο τέλος της δοκιμίας.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας
- Ουδέν.
- 1.6. Περιγραφή της μεθόδου
- 1.6.1. Προετοιμασίες
- Τα ζώα κρατούνται κάτω από τις παραματικές συνθήκες εγκλωβισμού και διατροφής τουλάχιστον για 5 ημέρες πριν από τη δοκιμασία. Πριν από τη δοκιμασία, υγιή, νεαρά ζώα λαμβάνονται με τυχαίοτητα και κατατάσσονται στον απαιτούμενο αριθμό ομάδων. Τα ζώα δεν είναι ανάγκη να υφίστανται παρόμοιες εκθέσεις, εκτός εάν αυτό ενδείκνυται από τον τύπο της χρησιμοποιούμενης ουσιακής εκθέσεως.
- Μπορεί να προτεθεί, εάν χρειάζεται, ένας κατάλληλος φορέας στην ελεγχόμενη ουσία για να βοηθήσει την παραγωγή κατάλληλης συγκεντρώσεως στην ατμόσφαιρα. Σ' αυτή την περίπτωση, πρέπει να χρησιμοποιηθεί και μία ομάδα μάρτυρα με το φορέα. Αν φορέας ή άλλες προσθετικές ουσίες χρησιμοποιούνται για να διευκολύνουν τη χορήγηση, πρέπει να είναι γνωστό ότι δεν προκαλούν τοξικές επιδράσεις. Ιστορικά στοιχεία μπορούν να χρησιμοποιηθούν, εάν είναι διαθέσιμα.

επεκταθεί όταν αυτό θεωρηθεί αναγκαίο. Ο χρόνος κατά τον οποίο εμφανίζονται και εξαφανίζονται τα συμπτώματα τοξικότητας και ο χρόνος θανάτου είναι σημαντικός, ιδίως αν υπάρχει τάση να εμφανίζονται οι θάνατοι καθυστερημένα.

Πορεία

Λίγο πριν την έκθεση τα ζώα ζυγίζονται και στη συνέχεια εκτίθενται στην υπό μελέτη συγκέντρωση μέσα στη συσκευή, για ένα διάστημα τουλάχιστον 4 ωρών, μετά από εξορρόπηση της συγκέντρωσής του θαλάμου. Ο χρόνος εξορρόπησης πρέπει να είναι βραχύς. Η θερμοκρασία, στην οποία εκτελείται η δοκιμασία, πρέπει να διατηρείται στους $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Η δωδής στεγνεί γρήγορα, πρέπει να διατηρείται μεταξύ 30 και 70 %, αλλά μερικές φορές (όπως στις δοκιμασίες με αερολύματα) αυτό δεν είναι πρακτικά πραγματοποιήσιμο. Τροφή και νερό δεν πρέπει να παρέχονται κατά τη διάρκεια της εκθέσεως. Πρέπει να χρησιμοποιείται ένα δυναμικό σύστημα αναπνευστικής εκθέσεως με ένα κατάλληλο σύστημα ελέγχου της συγκέντρωσής. Για την πραγματοποίηση της κατάλληλης συγκέντρωσής, συνιστάται μια προκαταρκτική δοκιμασία. Το σύστημα πρέπει να εξασφαλίζει την όσο το δυνατό ταχύτερη πραγματοποίηση σταθερών συνθηκών εκθέσεως. Η ταχύτητα του αέρα πρέπει να προσαρμόζεται έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η ομοιογένεια των συνθηκών σε όλο το θάλαμο εκθέσεως.

Πρέπει να γίνουν μετρήσεις ή παρακολούθηση:

- α) της ταχύτητας του αέρα (συνεχώς)
 - β) της πραγματικής συγκέντρωσής της ελεγχόμενης ουσίας μετρουμένης στη ζώνη ανακνοής. Κατά τη διάρκεια της περιόδου εκθέσεως, η συγκέντρωση δεν πρέπει να διαφέρει περισσότερο από $\pm 15\%$ της μέσης τιμής. Εντούτοις, στην περίπτωση των κόνων και μερικών αερολυμάτων, αυτό το επίπεδο ελέγχου μπορεί να μην είναι εφικτό, τότε θα πρέπει να γίνεται δεκτό ένα μεγαλύτερο εύρος. Η ανάλυση των σωματιδίων και των αερολυμάτων πρέπει να γίνεται τόσο συχνά όσο είναι απαραίτητο, τουλάχιστον μια φορά, για να προσδιορίζεται η κατανομή του μεγέθους των
 - γ) της θερμοκρασίας και υγρασίας
 - δ) κατά τη διάρκεια και μετά την έκθεση, γίνονται τακτικά παρατηρήσεις και καταχωρούνται συστηματικά' πρέπει να γίνονται ξεχωριστές καταχωρήσεις για κάθε ζώο. Κατά την πρώτη ημέρα οι παρατηρήσεις πρέπει να γίνονται συχνά. Μια φορά την ημέρα πρέπει να γίνεται μια προσεκτική κλινική εξέταση. Πρόσθετες παρατηρήσεις πρέπει να γίνονται καθημερινά και να λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα για να μειώνεται στο ελάχιστο η απολία των ζώων από τη μελέτη δηλαδή νεκρώσις ή φύξη των ζώων που βρέθηκαν νεκρά και απομόνωση ή θανάτωση των τοιμοθάνων και αδύνατων ζώων.
- Οι παρατηρήσεις επί των κλιβών πρέπει να περιλαμβάνουν αλλοιώσεις του δέρματος και του τριχώματος, των οφθαλμών, των βλεννογόνων, του αναπνευστικού και του κυκλοφορικού συστήματος, του κεντρικού και του αυτόνομου νευρικού συστήματος καθώς και του τρόπου συμπεριφοράς και της συμπεριφορικής δραστηριότητας. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην αναπνευστική συμπεριφορά, στους τρόπους, στους σπασμούς, στη σιελόρροια, στη διάρροια, στο λήθαργο, στον ύπνο και το κόμα. Ο χρόνος θανάτου πρέπει να καταχωρείται όσο το δυνατό ακριβέστερα. Τα ατομικά βέρη των ζώων πρέπει να προσδιορίζονται ανά εβδομάδα μετά την έκθεση και κατά το θάνατο.
- Τα ζώα που πεθάνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, όπως και αυτά που επιζών στο τέλος της, υπόκεινται σε νεκropsία και ιδιαίτερη μίσηση γίνεται στις αλλοιώσεις του αναπνευστικού συστήματος, ανώτερου και κατώτερου. Όλες οι μακροσκοπικά παρατηρούμενες ανωμαλίες πρέπει να καταχωρούνται. Όπου αυτό ενδείκνυται, οι ιστοί πρέπει να λαμβάνονται για ιστοπαθολογική εξέταση.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, στον οποίο να φαίνεται, για κάθε πειραματική ομάδα, ο αριθμός των ζώων στην αρχή της δοκιμασίας, ο χρόνος θανάτου χωριστά για κάθε ζώο, ο αριθμός των ζώων που παρουσίασαν άλλα συμπτώματα τοξικότητας και περιγραφή των τοξικών επιδράσεων και των

1.6.2. Πειραματικές συνθήκες

1.6.2.1. Πειραματόζωα

Εφόσον δεν υπάρχουν αντινέφεις, ο εκπύς είναι το είδος που προτιμάται. Πρέπει να χρησιμοποιούνται οι συνθήκες φύλης των εργαστηρίων. Για κάθε φύλο, η διαφορά βάρους των χρησιμοποιούμενων ζώων δεν πρέπει να υπερβαίνει το $\pm 20\%$ της κανονικής μέσης τιμής.

1.6.3.

1.6.2.2. Αριθμός και φύλο

Για κάθε επίπεδο δόσεων, πρέπει να χρησιμοποιούνται 10 τουλάχιστον τρωκτικά (5 θηλυκά και 5 αρσενικά). Τα θηλυκά πρέπει να είναι άτοκα και να μη βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης.

1.6.2.3. Συγκεντρώσεις εκθέσεως

Αυτές πρέπει να είναι αρκετές σε αριθμό, τουλάχιστον τρεις και κατάλληλα κατανοημένες έτσι ώστε να δημιουργούνται πειραματικές ομάδες με εύρος τοξικών επιδράσεων και ποσοτών θνησιμότητας. Τα δεδομένα πρέπει να είναι αρκετά για την κατασκευή καμπύλης τοξικότητας και, εφόσον είναι δυνατόν, τον προσδιορισμό της LC₅₀.

1.6.2.4. Οριακή δοκιμασία

Εάν η έκθεση 5 αρσενικών και 5 θηλυκών πειραματοζώων σε 20 mg/l ενός αερίου ή 5 mg/l ενός αερολύματος ή σωματίδιον για 4 ώρες ή όταν αυτό δεν είναι δυνατό λόγω των φυσικών ή χημικών ιδιοτήτων, αντικατασταθεί της εκρηκτικότητας της ελεγχόμενης ουσίας, στη μέγιστη εφικτή συγκέντρωση, δεν προκαλέσει καμία τοξικότητα σχετική με την ουσία, μέσα σε 14 ημέρες, τότε η περαιτέρω μελέτη μπορεί να μη θεωρείται απαραίτητη.

1.6.2.5. Χρόνος εκθέσεως

Η ελάχιστη χρονική περίοδος εκθέσεως πρέπει να είναι 4 ώρες.

1.6.2.6. Συσκευές

Η δοκιμή στα ζώα πρέπει να γίνεται με αναπνευστικές συσκευές, σχεδιασμένες για να διατηρούν μια δυναμική ροή του αέρα τουλάχιστον 12 αλλαγών την ώρα, να εξασφαλίζουν εφάρκεια οξυγόνου και μια ομαλά κατανοημένη ατμόσφαιρα εκθέσεως. Όταν χρησιμοποιείται θάλαμος, το σχήμα του πρέπει να είναι τέτοιο ώστε να μείωνεται στο ελάχιστο ο συνωστισμός των πειραματοζώων και να αυξάνεται όσο το δυνατό περισσότερο η αναπνευστική τους έκθεση στην ελεγχόμενη ουσία. Γενικά, για να εξασφαλίζεται σταθερότητα στην ατμόσφαιρα ενός θαλάμου, ο ολικός όγκος των πειραματοζώων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 5% του όγκου του πειραματικού θαλάμου. Μπορεί να χρησιμοποιείται στοιατορρηνικός, κεφαλικός ή ολόκληρος το σώματος ατομικός θάλαμος εκθέσεως. Οι δύο πρώτοι επιβιβάζουν την ελάττωση στο ελάχιστο της λήψης της ελεγχόμενης ουσίας από άλλες οδούς.

1.6.2.7. Περίοδος παρατηρήσεων

Η περίοδος παρατηρήσεων πρέπει να είναι τουλάχιστον 14 ημέρες. Εντούτοις, η διάρκεια των παρατηρήσεων δεν θα πρέπει να είναι ανωτέρα καθορισμένη. Θα πρέπει να προσδιορίζεται από τις τοξικές επιδράσεις, την τάση εμφανισιάς τους και τη διάρκεια της περιόδου αναρρώσεως. Έτσι, θα μπορεί να

2.

ευρημάτων της νεκρωσίας. Αλλάγες στο βάρος πρέπει να υπολογίζονται και να καταχωρούνται όταν τα ζώα εκθών περισσότερο από μια ημέρα. Η LC₅₀ πρέπει να προσδιορίζεται με μια αναγνωρισμένη μέθοδο. Η αξιολόγηση των δεδομένων πρέπει να περιλαμβάνει τη σχέση, αν υπάρχει, μεταξύ της εκθώσεως των ζώων στην ελεγχόμενη ουσία και τη συχνότητα και σοβαρότητα όλων των ανεπιθύμων, συμπεριλαμβανομένων αυτών της συμπεριφοράς και των κλινικών ανεπιθύμων, μακροσκοπικών αλλοιώσεων, αλλαγών του βάρους του σώματος, θνησιμότητας και κάθε άλλης τοξικής επιδράσεως.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- είδος, φύλο, ηλικία, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή κλπ.
- συνθήκες ελέγχου:

περιγραφή της συσκευής εκθώσεως που περιλαμβάνει το στήμα, τον τόκο, τις διαστάσεις, την πίη του αέρα, το σύστημα παραγωγής σωματιδίων και αερολυμάτων, τη μέθοδο ρυθμίσεως του αέρα και τη μέθοδο ετεροβιομίου των ζώων σε έναν περιματικό θάλαμο, όταν χρησιμοποιείται. Πρέπει, επίσης, να περιγράφονται οι συσκευές που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της θερμοκρασίας, της υγρασίας και της συγκεντρώσεως και του μεγέθους των σωματιδίων και αερολυμάτων.

Δεδομένα εκθώσεως:

τα δεδομένα πρέπει να κατατάσσονται σε πίνακα και να παρουσιάζονται μαζί με τις μέσες τιμές και με μια μέτρηση της παραλλακτικότητας (π.χ. σταθερή απόκλιση) και πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνουν:

- α) ταχύτητα ροής αέρα διά μέσου της αναπνευστικής συσκευής,
- β) θερμοκρασία και υγρασία του αέρα,
- γ) φαινόμενη συγκέντρωση (ολικό κοσό με το οποίο τροφοδοτήθηκε η αναπνευστική συσκευή, διαφεμένο με τον όγκο του αέρα),
- δ) φύση του φορέα, αν χρησιμοποιείται,
- ε) πραγματικές συγκεντρώσεις στην περιματική ζώνη αναπνοής,
- ζ) μέσο μέγεθος τμαζιδίων,
- η) περίοδο εξορροπήσεως,
- θ) περίοδο εκθώσεως.

— κατάταξη σε πίνακα των αντιδράσεων ανά φύλο και επίπεδο εκθώσεως (δηλαδή αριθμό νεκρών ζώων, αριθμό ζώων που εμφανίζουν τοξικά συμπτώματα, αριθμό εκτεθέντων ζώων)

— χρόνο θανάτου κατά τη διάρκεια ή μετά την έκθεση

— παρατηρήσεις επί των κλωβών

— LC₅₀ για κάθε φύλο, προσδιορισμένη στο τέλος της περιόδου παρατηρήσεων (η μέθοδος υπολογισμού να ορίζεται λεπτομερώς)

— 95 % διάστημα εμπιστοσύνης για την LC₅₀

— καμπύλη δόσεως/θνησιμότητας και κλίση της καμπύλης (όταν το επιτρέπει η μέθοδος προσδιορισμού)

— αποτελέσματα νεκρωσίας

— κάθε ιστοπαθολογικό αποτέλεσμα

— συζήτηση των αποτελεσμάτων

— ερωτήματα των αποτελεσμάτων.

3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

B. 3. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ (ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ)

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

1.2. Ορισμοί

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Ουδέμια.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η ελεγχόμενη ουσία εφαρμόζεται στο δέρμα σε διαβαθμισμένες δόσεις, σε διαφορετικές ομάδες πειραματόζωων, μιας δόσεως χρησιμοποιούμενης ανά ομάδα. Στη συνέχεια, γίνονται παρατηρήσεις των επιδράσεων και των θανάτων. Τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, καθώς και αυτά που επιζών στη λήξη της, υπόκεινται σε νεκρωσία.

1.5. Κριτήρια κωφίτης

Ουδέν.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Προετοιμασίες

Τα ζώα κρατούνται μέσα στους πειραματικούς κλωβούς τους, κάτω από τις παραματικές συνθήκες ετεροβιομίου και διατροφής, για 5 τουλάχιστον ημέρες πριν από τη δοκιμασία. Πριν από τη δοκιμασία υγιή, νεαρὰ, ενήλικα ζώα λαμβάνονται με τυχαιοποίηση και κατατάσσονται στις πειραματικές ομάδες.

Τα ζώα πρέπει να εγκλωβίζονται κατ' άτομο. Η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να εφαρμόζεται ομοιόμορφα σε μια περιοχή, η οποία είναι περίπου το 10 % της ολικής επιφάνειας του σώματος. Με πολύ τοξικές ουσίες η επιφάνεια που καλύπτεται μπορεί να είναι μικρότερη, αλλά η μεγαλύτερη δυνατή επιφάνεια πρέπει να καλύπτεται με μία στρώδα τόσο λεπτή και ομοιόμορφη, όσο είναι δυνατό.

Η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να κρατείται σ' επαφή με το δέρμα καθ' όλη τη διάρκεια της εκθέσεως των 24 ωρών, με τη βοήθεια ενός επιδέσμου από πορώδη γάζα και μια μη ερεθιστική ταινία. Η ελεγχόμενη περιοχή πρέπει, επιπλέον, να καλύπτεται με τον κατάλληλο τρόπο για να συγκρατείται ο επιδέσμος και η ελεγχόμενη ουσία και να εξασφαλίζεται έτσι η αδυναμία καταπόσεως της ουσίας από τα ζώα. Επιπλέον, η χρήση συσκευών περιορισμού για να εμποδίζεται η κατάποση, αλλά δεν συνιστάται η μέθοδος της απόλυτης ακινησίας.

Στο τέλος της περιόδου εκθέσεως, πρέπει να απομακρύνεται το υπόλοιπο της ελεγχόμενης ουσίας, όταν αυτό είναι πραγματοποιήσιμο, με τη χρήση νερού ή με μια άλλη κατάλληλη μέθοδο καθαρισμού του δέρματος.

Οι παρατηρήσεις πρέπει να καταχωρούνται συστηματικά, όπως γίνονται. Πρέπει να διατηρούνται ατομικά αρχεία για κάθε ζώο. Οι παρατηρήσεις, κατά τη διάρκεια της πρώτης ημέρας, πρέπει να γίνονται συχνά. Τουλάχιστον μια φορά την ημέρα πρέπει να γίνεται μια προεκτική κλινική εξέταση. Πρόσθετες παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται καθημερινά και να λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα ώστε να μειώνεται στο ελάχιστο η απώλεια των ζώων από τη μελέτη. Α.χ. νεκρωσία ή ψήξη εκείνων των ζώων που βρέθηκαν νεκρά και απομόνωση ή θανάτωση των αδύνατων και ετοιμόθάντων ζώων. Οι παρατηρήσεις στους κλωβούς πρέπει να περιλαμβάνουν αλλοιώσεις του τριχώματος, του ελεγχόμενου δέρματος, των οφθαλμών και των βλενογόνων, όπως επίσης του αναπνευστικού, κυκλοφορικού, αυτόνομου και κεντρικού νευρικού συστήματος, καθώς και αλλοιώσεις στη συμπεριφορική δραστηριότητα και του τρόπου συμπεριφοράς. Με ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να γίνονται οι παρατηρήσεις των τρώγων, σπασμών, σιελόρροιας, διάρροιας, λήθραου, όσμου και κόπρας. Ο χρόνος θανάτου πρέπει να καταχωρείται όσο το δυνατόν ακριβέστερα. Τα ζώα που κερδίζουν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, όπως και αυτά που εκίχουν στη λήξη της, υπόκεινται σε νεκρωσία. Όλες οι μακροσκοπικά παρατηρούμενες αλλοιώσεις πρέπει να καταχωρούνται. Όπου ενδείκνυται, οι ιστοί πρέπει να λαμβάνονται για ιστοπαθολογική εξέταση.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, στον οποίο να φαίνεται, για κάθε πειραματική ομάδα, ο αριθμός των ζώων στην αρχή της δοκιμασίας, ο χρόνος θανάτου για κάθε ζώο, ο αριθμός των ζώων που εμφανίζουν άλλα συμπτώματα τοξικότητας, περιγραφή των τοξικών επιδράσεων και τα αποτελέσματα της νεκρωσίας. Τα ατομικά βάρη των ζώων πρέπει να προσδιορίζονται και να καταχωρούνται, λίγο πριν την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας, ανά εβδομάδα μετά, και κατά το θάνατο. Αλλαγές στο βάρος πρέπει να υπολογίζονται, εφόσον τα ζώα εκτίθενται περισσότερο από μια ημέρα. Η LD₅₀ πρέπει να προσδιορίζεται με μια αναγνωρισμένη μέθοδο.

Η αξιολόγηση των δεδομένων πρέπει να περιλαμβάνει μια αξιολόγηση της σχέσεως, αν αυτή υπάρχει, μεταξύ της εκθέσεως των ζώων στην ελεγχόμενη ουσία και της συχνότητας και σοβαρότητας όλων των ανωμαλιών, περιλαμβανομένων των ανωμαλιών συμπεριφοράς και των κλινικών, μακροσκοπικών αλλοιώσεων, αλλαγών του βάρους του σώματος, θνησιμότητας και κάθε άλλης τοξικολογικής επιδράσεως.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- είδος, φύλη, ηλικία, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή κ.λ.κ.
- συνθήκες περιστασιασμού (με τη μέθοδο καθαρισμού του δέρματος),
- επίθετα δόσεων (με το φορέα, αν χρησιμοποιείται, και τις συγκεντρώσεις),

Περίπου 24 ώρες πριν από τη δοκιμασία, το τρίχωμα πρέπει να απομακρύνεται με τη βοήθεια ψαλιδιού ή ζυριατικής μηχανής, από την περιοχή της ράχης του κορμού των ζώων. Κατά το κόψιμο ή ξύρισμα του τριχώματος, προσοχή πρέπει να δίνεται ώστε να αποφευχθεί η απόξεση του δέρματος, πράγμα το οποίο μπορεί να μεταβάλλει τη διαπερατότητά του. Η επιφάνεια της εφαρμογής δεν πρέπει να είναι μικρότερη από το 10 % της ολικής επιφάνειας του σώματος. Όταν δοκιμάζονται στερνά, τα οποία μπορούν να κολληθούν αν χρειάζεται, η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να υφαιίνεται αρκετά με νερό ή, όπου είναι ανάγκη, με έναν κατάλληλο φορέα για να εξασφαλίζεται καλή επαφή με το δέρμα. Όταν χρησιμοποιείται φορέας, η επίδρασή του στη βίωση της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει να λαμβάνεται υπόψη. Οι υγρές ουσίες χρησιμοποιούνται γενικά αδιάλυτες.

1.6.2. Περιστασιακές συνθήκες

1.6.2.1. Πειραματοζώα

Μπορεί να χρησιμοποιούνται ο ενήλικας εμίως και το κουνέλι. Άλλα είδη μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης, αλλά η χρήση τους θα πρέπει να δικαιολογηθεί. Πρέπει να χρησιμοποιούνται οι συνήθεις εργαστηριακές φυλές. Το εύρος της διαφοράς βάρους των ζώων που χρησιμοποιούνται σε μια δοκιμασία δεν πρέπει να υπερβαίνει το ± 20 % της κανονικής μέσης τιμής για κάθε φύλο.

1.6.2.2. Αριθμός και φύλο

Τουλάχιστον 10 ζώα (5 θηλυκά και 5 αρσενικά), με υγιές ανέκαστο δέρμα, πρέπει να χρησιμοποιούνται για κάθε επίθετο δόσεων. Τα θηλυκά πρέπει να είναι άτοκα και να μη βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Η χρησιμοποιούμενη μικρότερου αριθμού ζώων μπορεί μερικές φορές να δικαιολογηθεί, ιδίως στην περίπτωση των κουνελιών.

1.6.2.3. Επίθετα δόσεων

Οι δόσεις πρέπει να είναι αρκετές σε αριθμό, κατάλληλα κατανεμημένες ώστε να παράγονται πειραματικές ομάδες με εύρος τοξικών επιδράσεων και ποσοτών θνησιμότητας. Κάθε ερεθιστική ή διαβρωτική επίδραση πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, όταν αποφασίζονται τα επίθετα των δόσεων. Τα δεδομένα πρέπει να είναι αρκετά για την παραγωγή μιας καμπύλης τοξικότητας και, όπου είναι δυνατό, να επιτρέπουν έναν παραδεκτό προσδιορισμό της LD₅₀.

1.6.2.4. Οριακή δοκιμασία

Αν, σε μια προκαταρκτική δοκιμασία, μια δόση 2 000 mg/kg ή μεγαλύτερη, εφαρμοσμένη στο ανέκαστο δέρμα 5 τουλάχιστον ζώων ανά φύλο, δεν προκαλέσει θνησιμότητα σχετική με την ουσία, μέσα σε 14 ημέρες, μια επακόλουθη δοκιμή με άλλα επίθετα δόσεων μπορεί να μη θεωρείται απαραίτητη.

1.6.2.5. Περίοδος παρατηρήσεων

Η περίοδος παρατηρήσεων πρέπει να είναι τουλάχιστον 14 ημέρες. Εντούτοις, η διάρκεια των παρατηρήσεων δεν πρέπει να είναι αυστηρά καθορισμένη. Θα μπορεί να προσδιοριστεί από τις τοξικές αντιδράσεις, την τάξη εμφανισώς τους και τη διάρκεια της περιόδου ανάρρωσής τους. Μπορεί έτσι να εκτείνεται όταν αυτό θεωρηθεί αναγκαίο. Ο χρόνος εμφανισώς και εξαφανισώς των τοξικών συμπτωμάτων, η διάρκεια τους και ο χρόνος θανάτου είναι σημαντικά, ιδιαίτερα αν υπάρχει τάση να αρτοπορόν οι θάνατοι.

1.6.3. Δοκιμασία

- καταχώριση σε πίνακα των αντιδόσεων ανά φύλο και επίπεδο δόσεως (δηλαδή αριθμό νεκρών ζώων, αριθμό ζώων που παρουσιάζουν τοξικά συμπτώματα, αριθμό εκτεθέντων ζώων),
- χρόνο θανάτου μετά τη χορήγηση,
- παρατηρήσεις επί των κλιβών,
- τιμή της LD₅₀ για κάθε φύλο, προσδιορισμένη τη 14η ημέρα (η μέθοδος προσδιορισμού να ορίζεται),
- 95 % διάστημα εμπιστοσύνης για την LD₅₀ (όπου αυτό είναι δυνατό),
- καμπύλη τοξικότητας και κλίση καμπύλης, όταν το επιτρέπει η μέθοδος προσδιορισμού,
- αποτελέσματα νεκροψίας,
- κάθε ιστοπαθολογικό αποτέλεσμα,
- σύζηση των αποτελεσμάτων,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

Β. 4. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

1.2. Όργανο

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Ουδένα.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η ελεγχόμενη ουσία εφαρμόζεται, σε μια και μόνη δόση, στο δέρμα διαφορετων περιμετροζώων και κάθε ζώο χρησιμοποιεί σαν μέτρησης του καυτού του. Ο βαθμός ερεθισμού παρατηρείται και βαθμολογείται, μετά

από ένα ειδικό χρονικό διάστημα. Στη συνέχεια περιγράφεται για να χρησιμοποιείται στην κλίση αξιολόγησης των επιδόσεων. Η διάρκεια των παρατηρήσεων πρέπει να είναι αρκετή για την κλίση αξιολόγησης της πιθανής εκαναφοράς από τις παρατηρήσιμες επιδόσεις.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Ουδέν.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Προετοιμασίες

Το τρίχωμα πρέπει να απομακρύνεται, περίπου 24 ώρες πριν τη δοκιμασία, με τη βοήθεια κουρευτικής ή ξυριστικής μηχανής, από την περιοχή της ράχης του κορμού του ζώου.

Κατά το κόψιμο ή ξύρισμα του τριχώματος, πρέπει να γίνεται προσοχή για να αποφεύγεται η απόξεση του δέρματος. Μόνο ζώα με υγιές ανέκαφο δέρμα πρέπει να χρησιμοποιούνται.

Όταν δοκιμάζονται στερεές ουσίες (οι οποίες μπορεί να κονοποιούνται, όταν αυτό κρίνεται αναγκαίο), η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να υγραίνεται αρκετά με νερό ή, όταν απαιτείται, με έναν κατάλληλο φορέα, για να εξασφαλιστεί η καλή επαφή της με το δέρμα. Όταν χρησιμοποιείται φορέας, η επίδρασή του στον ερεθισμό του δέρματος πρέπει να λαμβάνεται υπόψη. Υγρές ουσίες χρησιμοποιούνται γενικά αδιάλυτες.

Ουσίες οι οποίες είναι ισχυρά όξιμες ή αλκαλικές, δεν είναι απαραίτητο να δοκιμάζονται για πρωτοπαθή δερματική ερεθιστικότητα, οφειλόμενη στις προβλεπόμενες διαβρωτικές τους ιδιότητες. Η δοκιμασία υλικών που έχουν δείξει μεγάλη δερματική τοξικότητα μπορεί να μην είναι αναγκαία.

1.6.2. Πειραματικές συνθήκες

1.6.2.1. Παραμετροζώα

Αν και πολλά είδη θηλαστικών μπορεί να χρησιμοποιηθούν, το είδος που προτιμάται είναι το λευκό κουνέλι.

1.6.2.2. Αριθμός ζώων

Χρησιμοποιούνται 3 τουλάχιστον ιση ηλικία ζώα. Μπορεί να απαιτηθούν περισσότερα ζώα για να διαλευκανθούν διαφορούμενα αποτελέσματα.

1.6.2.3. Επίπεδα δόσεων

Εκτός αν υπάρχουν αντενδείξεις, 0,5 ml ενός υγρού ή 0,5 g ενός στερεού ή πριεταροδ εφαρμοζονται στο δοκιμαζόμενο σημείο. Για μάρτυρες δεν απαιτούνται χωριστά ζώα. Σαν μάρτυρες της δοκιμασίας χρησιμοποιούνται παρακείμενες περιοχές του δέρματος κάθε ζώου που δεν έχουν υποστεί επέμβαση.

1.6.2.4. Περίοδος παρατηρήσεων

Η διάρκεια της περιόδου παρατηρήσεων δεν πρέπει να είναι αυστηρά καθορισμένη. Πρέπει όμως να είναι αρκετή για την κλίση αξιολόγησης της εκαναφοράς ή της μη εκαναφοράς από τις παρατηρήσιμες επιδόσεις, αλλά δεν είναι ανάκτη, συνήθως, να υπερβαίνει τις 14 ημέρες μετά την εφαρμογή.

1.6.3. Πορεία

Τα ζώα πρέπει να εγκλωβίζονται χωριστά. Η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να εφαρμόζεται σε μια μικρή περιοχή (περίπου 6 cm²) του δέρματος και να σκεπάζεται με ένα κομμάτι γάζας, που κρατείται στη θέση της με μια μη ερεθιστική ταινία. Στην περίπτωση υγρών ή και αλοιφών μπορεί να χρειάζεται να εφαρμόζεται η ελεγχόμενη ουσία στο κομμάτι της γάζας και τότε να εφαρμόζεται αυτό στο ζώο. Η γάζα κρατείται σ' επαφή με το δέρμα, χαλαρά, με τη βοήθεια ενός ημιδιαπεράτου επίδεσμου, για όλη τη διάρκεια της περιόδου εκθέσεως. Εντούτοις, σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να αποσπαστεί η χρήση ενός αδιαπέρατου επίδεσμου. Πρέπει να εμποδίζεται το ζώο να φθάσει τη γάζα και να καταπίνει ή να ανακνεί την ελεγχόμενη ουσία.

Η διάρκεια εκθέσεως είναι 4 ώρες. Μεγαλύτερης διάρκειας εκθέσεις μπορεί να ενδείκνυνται, κάτω από ορισμένες συνθήκες, λ.χ. αναμενόμενο υπόδειγμα χρήσεως και εκθέσεως ανθρώπου. Στο τέλος της περιόδου εκθέσεως, το υπόλειμμα της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει να απομακρύνεται, όταν αυτό είναι πραγματοποιήσιμο, με τη βοήθεια νερού, ή ενός κατάλληλου διαλύτη. Πρέπει όμως να γίνεται προσοχή στο να μην αλλοιωθούν τα αποτελέσματα ή η ακεραιότητα της επιδερμίδας.

1.6.3.1. Παρατηρήσεις και βαθμολογία

Τα ζώα πρέπει να εξετάζονται για σημεία ερυθρίματος και οιδήματος και η αντίδραση να βαθμολογείται σε 30-60 λεπτά και στη συνέχεια σε 24, 48 και 72 ώρες μετά την απομάκρυνση της γάζας. Ο ερεθισμός του δέρματος βαθμολογείται και καταχωρείται σύμφωνα με το σύστημα του πίνακα του προσαρτήματος. Πρόσθετες παρατηρήσεις μπορεί να χρειαστούν, σαν αναγκαίες, για τη διακρίση της επαναφοράς. Εκκρίλλον των παρατηρήσεων για την ερεθιστικότητα, πρέπει να περιγράφεται λεπτομερώς κάθε σοβαρή αλλοίωση του δέρματος, όπως η διάβρωση (μη αντιστρέψιμη καταστροφή του δερματικού ιστού) και οποιαδήποτε άλλη τοξική επίδραση.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, στον οποίο να φαίνονται, για κάθε ζώο χωριστά, οι βαθμοί ερεθιστικότητας, για το ερύθημα και το οίδημα, για όλη τη διάρκεια της περιόδου παρατηρήσεων. Πρέπει να καταχωρούνται, κάθε σοβαρή αλλοίωση, μια περιγραφή της εξέλιξης και φύσεως του ερεθισμού, επαναφοράς ή διαβρώσεως και κάθε άλλη παρατηρούμενη τοξική επίδραση.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- είδος, φύλη, ηλικία, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή κ.λπ.,
- παραματρικές συνθήκες (να περιλαμβάνονται οι σχετικές φυσικοχημικές ιδιότητες και η μέθοδος προετοιμασίας και καθαρισμού του δέρματος),
- καταχώρηση σε πίνακα των στοιχείων των αντιδράσεων ερεθισμού για κάθε ζώο χωριστά και για κάθε χρονική περίοδο παρατήρησης (δηλαδή 1, 24, 48 και 72 ώρες κ.λπ., μετά την απομάκρυνση της γάζας).

- περιγραφή κάθε σοβαρής αλλοιώσεως που παρατηρήθηκε, περιλαμβανομένης και της διαβρωτικότητας,
- περιγραφή του βαθμού και της φύσεως του ερεθισμού που παρατηρήθηκε και κάθε ιστοπαθολογικού ευρήματος,
- περιγραφή κάθε τοξικής επιδράσεως, επιπλέον αυτών του ερεθισμού του δέρματος,
- σύζηση για τα αποτελέσματα,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

Προσάρτημα

ΠΙΝΑΚΑΣ: ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ ΔΕΡΜΑΤΙΚΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΣ

Ερύθημα και σχηματισμός εσχάρων

Ακουσία ερυθρίματος	Τιμή
Πολύ ελαφρό ερύθημα (μόλις διακρινόμενο)	0
Σαφές ερύθημα	1
Μέτριο προς σοβαρό ερύθημα	2
Σοβαρό ερύθημα (χρώμα βαθύ κόκκινο) με/χω ελαφρού σχηματισμού εσχάρων	3
	4

Σχηματισμός οιδήματος

Ακουσία οιδήματος	0
Πολύ ελαφρό οίδημα (μόλις διακρινόμενο)	1
Ελαφρό οίδημα (άκρα της περιοχής καλά οριζόμενα από ορατική αίσθηση)	2
Μέτριο οίδημα (άκρα υψωμένα περίπου ένα mm)	3
Σοβαρό οίδημα (άκρα υψωμένα περισσότερο από ένα mm εκτεινόμενα πέρα από την περιοχή εκθέσεως)	4

B. 5. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΟΦΘΑΛΜΟΥ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

- 1.1. **Εισαγωγή**
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).
- 1.2. **Όρισμα**
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).
- 1.3. **Ουσίες αναφοράς**
Ουδέμια.
- 1.4. **Αρχή της μεθόδου**
Η ελεγχόμενη ουσία εφαρμόζεται σε μια δόση, στον ένα οφθαλμό, σε κάθε ένα από τα διάφορα παραματώδια· ο άλλος οφθαλμός, ο χωρίς επέμβαση, χρησιμεύει σαν μάρτυρας. Ο βαθμός ερεθισμού αξιολογείται και βαθμολογείται σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα και, επιπλέον, περιγράφεται ώστε να γίνει πλήρης η αξιολόγηση των επιδράσεων. Η διάρκεια των παρατηρήσεων πρέπει να είναι αρκετή για να αξιολογηθεί εντελώς η επαναφορά ή όχι από τις παρατηρήσιμες επιδράσεις.
- 1.5. **Κριτήρια ποιότητας**
Ουδέν.
- 1.6. **Περιγραφή της μεθόδου**
- 1.6.1. **Προετοιμασίες**
Και οι δύο οφθαλμοί κάθε παραματώδιου, που διαλύθηκε προορισμένα για τη δοκιμασία, πρέπει να εξετάζονται μέσα σε 24 ώρες πριν αρχίσει η δοκιμασία. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται παραματώδια που εμφανίζουν ερεθισμένους οφθαλμούς, οφθαλμικές ανωμαλίες ή άλλη κρούση/όχι κρούση του κερατοειδή χιτώνα.
Ισογυρός αλκαλικές ή όξινες ουσίες, καθώς και ουσίες που έλασαν στη δοκιμασία της δερματικής ερεθιστικότητας ή σε άλλες δοκιμασίες ότι είναι αποδεκτά για διαβρωτικές, δεν είναι ανάγκη να δοκιμάζονται για ερεθιστικότητα οφθαλμού.
- 1.6.2. **Παραματικές συνθήκες**
- 1.6.2.1. **Πειραματόζωα**
Αν και μια κούκλια από είδη παραματώδιων έχουν χρησιμοποιηθεί, συνιστάται για την εκτέλεση της δοκιμασίας να χρησιμοποιούνται υγιή, ενήλικα, λευκά κουνέλια.
- 1.6.2.2. **Αριθμός ζώων**
Τουλάχιστον 3 ζώα πρέπει να χρησιμοποιούνται. Πρόσθετα ζώα πιθανόν να απαιτηθούν για τη διαλεύκανση διαφορούμενων απαντήσεων.
- 1.6.2.3. **Εκίκεδα δόσεων**
Μια δόση από 0,1 ml χρησιμοποιείται για τη δοκιμή των υγρών. Για τη δοκιμή των στερεών, αλοιφών και σωματιδίων, η χρησιμοποιούμενη ποσότητα πρέπει να έχει έναν όγκο 0,1 ml ή βάρους περίπου 0,1 g (το βάρος πρέπει πάντα να καταχωρείται). Αν το ελεγχόμενο υλικό είναι στερεό ή κοκκοειδές πρέπει να αλέθεται σε λεπτή σκόνη. Ο όγκος των σωματιδίων πρέπει να μετρείται αφού σιμυκτωθούν ελαφρά, π.χ. χτυπώντας το δοχείο μετρήσεως.
- 1.6.2.4. **Περίοδος παρατηρήσεων**
Η διάρκεια της περιόδου παρατηρήσεων δεν πρέπει να είναι αυστηρά καθορισμένη. Πρέπει όμως να είναι αρκετή, για την αξιολόγηση της επαναφοράς ή της μη επαναφοράς των επιδράσεων που παρατηρήθηκαν, αλλά κανονικά δεν είναι ανάγκη να υπερβαίνει τις 21 ημέρες μετά την ενστάλαξη.
- 1.6.3. **Πορεία**
Τα ζώα πρέπει να εγκλωβίζονται χωριστά. Η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να τοποθετείται στο τυφλό άκρο του εκτεφωκτός του ενός ματιού κάθε ζώου, αφού τραβηχθεί απαλά το κάτω βλέφαρο από το βολβό. Τα βλέφαρα τότε κρατούνται απαλά μαζί για ένα λεπτό δευτερόλεπτο, για να αποφευχθεί η απώλεια του υλικού. Το άλλο μάτι, το οποίο παραμένει χωρίς επέμβαση, χρησιμοποιείται για μάρτυρας.
- 1.6.3.1. **Παρατηρήσεις και βαθμολογία**
Τα μάτια των παραματωδιών δεν πρέπει να κλύονται για 24 ώρες μετά την ενστάλαξη της ελεγχόμενης ουσίας. Σε 24 ώρες μπορεί να γίνει ένα κλύσιμο, αν αυτό θεωρηθεί απαραίτητο.
Για ουσίες που αποδείχθηκαν ερεθιστικές μ' αυτή τη δοκιμή, μπορεί να εξετάζεται η αποτελεσματικότητα του καταπονημού σαν μέσο μετώσεως του ερεθισμού ή άλλων βλαβερών επιδράσεων. Σ' αυτή την περίπτωση, συνιστάται να χρησιμοποιούνται 6 κουνέλια. Τέσσερα δευτερόλεπτα μετά την ενστάλαξη της ελεγχόμενης ουσίας, τα μάτια 3 κουνελιών κλύονται και 30 δευτερόλεπτα μετά την ενστάλαξη της ελεγχόμενης ουσίας κλύονται τα μάτια των άλλων 3 κουνελιών. Και για τις δύο ομάδες, τα μάτια κλύονται για 5 λεπτά χρησιμοποιώντας έναν όγκο και μια ταχύτητα της ροής η οποία δεν θα προκαλέσει βλάβη.
Παρατηρήσεις και βαθμολογία
Τα μάτια πρέπει να εξετάζονται σε 1, 24, 48 και 72 ώρες. Αν δεν υπάρχει καμιά ένδειξη ερεθιστικότητας στις 72 ώρες, η μελέτη μπορεί να τελειώσει.

εξέταση. (Η βαθμολογία των οφθαλμικών αντιδράσεων υποκαίται σε διαφορετικές ερμηνείες. Για να βοηθηθούν τα εργαστήρια που κάνουν τις δοκιμασίες και εκείνοι που κάνουν και ερμηνεύουν τις κατατηρήσεις, πρέπει να χρησιμοποιούν ένα διεκρινιστικό οδηγό ερεθισμού του ματιού).

Η εξέταση των αντιδράσεων μπορεί να διευκολυνθεί με τη χρήση στερεοσκοπίου, χειροκίνητης σχισμοειδούς λυχνίας, βιομικροσκοπίου ή άλλων κατάλληλων οργάνων. Μετά την καταχώριση των παρατηρήσεων των 24 ωρών, τα μάτια αποκουδύηστε ή όλων των κουνελιών μπορεί, επιπλέον, να εξεταστούν με τη βοήθεια φθορισμού.

2. ΔΕΛΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, στον οποίο πρέπει να φαίνονται, για κάθε ζώο χωριστά, οι βαθμοί ερεθισμού στον ορισμένο χρόνο παρατηρήσεως, μια περιγραφή του βαθμού και της φύσεως του ερεθισμού, οι σοβαρές αλλοιώσεις όσως και οικοαδήκαστε ή άλλη επίδραση παρατηρήθηκε εκτός των οφθαλμικών.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1. Έκθεση ελιγγου

Η έκθεση ελιγγου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- στοιχεία ζώων (είδος, φύλη, ηλικία, πηγή, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή κλπ.),
- παραματιτικές συνθήκες (να περιλαμβάνονται οι σχετικές φυσικοχημικές ιδιότητες της ελεγχόμενης ουσίας),
- καταχώριση σε πίνακα των δεδομένων της ερεθιστικής/διαβρωτικής αντιδράσεως για κάθε ζώο χωριστά, σε κάθε σημείο του χρόνου παρατηρήσεως (δηλαδή σε 1, 24, 48 και 72 ώρες),
- περιγραφή κάθε σοβαρής αλλοιώσεως που παρατηρήθηκε,
- περιγραφική έκθεση της τάξεως και φύσεως του ερεθισμού ή της διαβρώσεως που παρατηρήθηκαν, της εσαναφορές συμπεριλαμβανομένης,
- περιγραφή της χρησιμοποιηθείσας μεθόδου για τη βαθμολόγηση του ερεθισμού σε 1, 24, 48 και 72 ώρες (δηλαδή χειροκίνητη σχισμοειδής λυχνία, βιομικροσκόπιο, φθορισμός),
- περιγραφή κάθε μη οφθαλμικής τοπικής επιδράσεως που σημειώθηκε,
- σύζηση για τα αποτελέσματα,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

Προσάρτημα

ΠΙΝΑΚΑΣ: ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΣΗ ΟΦΘΑΛΜΙΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ

Κερατοειδής

Θολερότητα: βαθμός πυκνότητας (η περιοχή η πιο πυκνή λαμβάνεται για εξέταση)	Τιμή
Καμία εξέλιωση ή θολερότητα	0
Διασπαρμένες ή διάχυτες κερατικές θολερότητας (διαφορετικές από το ελαφρό θόμπωμα της φυσικής στυλινότητας), λεπτομέρειες της ίριδας ευδιάκριτες	1
Εύκολα διακρινόμενη ημιδιαφανής περιοχή, λεπτομέρειες της ίριδας ελαφρά διασπαρμένες	2
Μαργαροειδής περιοχή, λεπτομέρειες της ίριδας αφανείς, το μέγεθος της ίριδας μόλις διακρίνεται	3
Κερατοειδής αδιαφανής, η ίρις δεν διακρίνεται δια μέσου της θολερότητας	4
Ίρις	
Φυσιολογική	0
Σημαντική βαθεία πτύωση, συμφορήση, διάγνωση μέτρια, υπεραιμία του περιβάλλοντος του κερατοειδή χιτώνα ιστού ή συμφορήση, κάθε ένα από αυτά ή συνδυασμός τους, ίρις που ακόμη αντιδρά στο φως (αντίδραση νυκτερότητας θετική)	1
Καμία αντίδραση στο φως, αμφορατική αλλοίωση, (ένα από αυτά ή όλα)	2
Επιπεφυκοίτες	
Κοκκινίλια (στους βλεφαρικούς και βολβικούς επιπεφυκοίτες, στον κερατοειδή και στην ίριδα)	0
Λιμοφόρα εστία φυσιολογικά	1
Μερικά αμφοφόρα εστία σαφώς υπεραιμικά (συμφορητικά)	2
Διάχυτο, έντονο κόκκινο χρώμα, αμφοφόρα εστία διακρινόμενα εύκολα	3
Διάχυτο, βαθύ κόκκινο χρώμα	3
Χύμοσι: βιλέφαρα ή/και νηκτικές μεμβράνες	
Καμία διάγνωση	0
Κάθε διάγνωση πάνω από το φυσιολογικό (και για τις νηκτικές μεμβράνες)	1
Σαφής διάγνωση με μερική αναστροφή των βλεφάρων	2
Διάγνωση με βιλέφαρα μασκλετα	3
Διάγνωση με βιλέφαρα κλαστα περισσότερο από το μισό	4

B. 6. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΕΥΛΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗ

1. **ΜΕΘΟΔΟΣ.**
- 1.1. **Εισαγωγή**
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).
- 1.2. **Οργανοί**
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).
- 1.3. **Ουσίες αναφοράς**
Ουδέμια.
- 1.4. **Αρχή της μεθόδου/Δοκιμασία Μεγατοκικήζωας στο Ινδικό Χοιρίδιο**
Μετά την αρχική έκθεση στην ελεγχόμενη ουσία (περίοδος «δευτέρωζας»), τα ζώα υφίστανται, δύο εβδομάδες μετά την τελευταία έκθεση δευτέρωζας, μία έκθεση «προκλήσεως», για να διαπιστωθεί αν έχει προκληθεί μια κατάσταση υπερευαισθησίας. Η ευαισθητοποίηση πιστοποιείται με την εξέταση της δερματικής αντίδρασης στην έκθεση προκλήσεως.
- 1.5. **Κριτήρια κρισιμότητας**
Ουδέν.
- 1.6. **Περιγραφή της μεθόδου**
- 1.6.1. **Προετοιμασίες**
Υψηλά καθαρά ζώα (μικρότερα του ενός χρόνου) λαμβάνονται με τυχενοποίηση και κατατάσσονται στις πειραματικές ομάδες και στις ομάδες των μαρτύρων. Πριν από τη χορήγηση, το τρίχωμα απομακρύνεται με τη βοήθεια κομμωτικής ή λυωτικής μηχανής, από την περιοχή του ώμου. Πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να αποφύγεται η βλάβη του δέρματος.
- 1.6.2. **Πειραματικές συνθήκες**
- 1.6.2.1. **Πειραματόζωα**
Χρησιμοποιείται το λευκό ινδικό χοιρίδιο.
- 1.6.2.2. **Αριθμός και φύλο**
Μπορεί να χρησιμοποιηθούν θηλυκά ή αρσενικά ζώα. Αν χρησιμοποιηθούν θηλυκά, πρέπει να είναι άτοκα και να μη βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Χρησιμοποιούνται 20 ζώα στην ομάδα πειραματισμού και 10 τουλάχιστον στην ομάδα μαρτύρων. Αν χρησιμοποιηθούν λιγότερα ζώα, αυτό πρέπει να αιτιολογηθεί.
- 1.6.2.3. **Επίπεδα δόσεων**
Η συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας να προσαρμόζεται στο υψηλότερο επίπεδο που μπορεί να γίνει ανεκτό για κάθε στάδιο δευτέρωζας.
- 1.6.2.4. **Περίοδος παρατηρήσεων**
Κατά τη διάρκεια της περιόδου δευτέρωζας, γίνονται εξετάσεις του δέρματος για να ελεγχθεί μια πιθανή ερεθιστική αντίδραση. Μετά την έκθεση προκλήσεως, οι αντιδράσεις του δέρματος καταγράφονται στις 48 και 72 ώρες.
- 1.6.3. **Διαδικασία**
Τα ζώα ζυγίζονται πριν από την έναρξη και στο τέλος της δοκιμασίας. Η περιοχή του ώμου καθαρίζεται από το τρίχωμα. Υπάρχουν δύο στάδια στη διαδικασία:
- 1.6.3.1. **Διέγερση**
Ημέρα 0 — δοκιμαζόμενη ομάδα
Τα ακόλουθα ζυγάρια ενδοδερμικών ενέσεων γίνονται στην περιοχή του ώμου, κατά τέτοιον τρόπο ώστε κάθε μία από τα ζυγάρια να βρίσκεται σε κάθε κλάδο της μέσης γραμμής:
1. 0,1 ml Freund's Complete Adjuvant (FCA).
 2. 0,1 ml της ελεγχόμενης ουσίας, σε φορέα, όταν χρειάζεται,
 3. 0,1 ml ελεγχόμενης ουσίας σε FCA.
- Οι ενέσεις 1 και 2 γίνονται κοντά η μια στην άλλη και πλησιέστερα προς το κεφάλι, ενώ η 3 γίνεται προς το μέρος της ουράς της ελεγχόμενης κεραιάς.
- Ημέρα 0 — ομάδα μέρτυρα
Τα ακόλουθα ζυγάρια ενδοδερμικών ενέσεων γίνονται στις ίδιες θέσεις όπως πιο πάνω:
1. 0,1 ml FCA,
 2. 0,1 ml του φορέα,
 3. 0,1 ml του φορέα μέσα σε FCA.
- Ημέρα 7 — δοκιμαζόμενη ομάδα
Η ελεγχόμενη περιοχή καθαρίζεται πάλι από το τρίχωμα. Η ελεγχόμενη ουσία σ' έναν κατάλληλο φορέα (υγρές ουσίες, αν αυτό προφέρεται, μπορούν να εφαρμοστούν σε αδιάλυτα) αλείφεται σ' ένα δερμάτινο

χαρτί και εφαρμόζεται στην ελεγχόμενη περιοχή, όπου κρατείται για 48 ώρες με τη βοήθεια κατάλληλου επίδεσμου.

Ημέρα 7 — ομάδα μάρτυρα

Η ελεγχόμενη περιοχή καθαρίζεται πάλι από το τρίχωμα. Ο φορέας μόνο σφραγίζεται κατά τον ίδιο τρόπο όπως προηγουμένως και κρατείται σ' επαφή με το δέρμα με τη βοήθεια κατάλληλου επίδεσμου.

1.6.3.2.

Πρόκληση

Ημέρα 21

Οι πλευρές των δοκιμαζόμενων ζώων και των μαρτύρων καθαρίζονται από το τρίχωμα. Μία γάζα ή μία κάψουλα που κρέμει την ελεγχόμενη ουσία εφαρμόζεται στο αρσενικό πλευρό των ζώων που ελέγχονται και μία γάζα ή κάψουλα με το φορέα μόνο στο δεξί πλευρό.

Οι γάζες κρατούνται σ' επαφή με το δέρμα για 24 ώρες, με τη βοήθεια ενός κατάλληλου επίδεσμου.

Η ομάδα του μάρτυρα υφίσταται τον ίδιο χειρισμό.

Ημέρες 23 και 24

— 21 ώρες μετά την απομάκρυνση της γάζας, η περιοχή προκλήσεως, αν χρειαστεί, καθαρίζεται και ξηραίνεται.

— 3 ώρες αργότερα (σε 48 ώρες από την έναρξη της εφαρμογής προκλήσεως), εξετάζεται και καταγράφεται η αντίδραση του δέρματος.

— 24 ώρες μετά από αυτή την παρατήρηση, μια δεύτερη παρατήρηση (72 ωρών) γίνεται και καταγράφεται.

Για να δικαιολογηθούν τα αποτελέσματα που ελήφθησαν στην πρότη έκθεση προκλήσεως, μια δεύτερη, με μια νέα ομάδα μάρτυρα του φορέα, αν χρειαστεί, πρέπει να αντιμετωπιστεί μια βδομάδα περίπου μετά την πρότη.

1.6.3.3.

Παρατηρήσεις και βαθμολογία

Πρέπει να καταγράφονται και να αναφέρονται όλες οι δερματικές αντιδράσεις και κάθε μη συνηθισμένο δεδομένο που προκλήθηκαν από τις διαδικασίες διεγέρσεως και προκλήσεως.

2.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα στον οποίο να φαίνονται, για κάθε ζώο, οι αντιδράσεις του δέρματος στην κάθε παρατήρηση.

3.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1.

Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιέχει τις ακόλουθες πληροφορίες:

— φύλη των χρησιμοποιούμενων ινδικών χοιρίδιων,

- περιγραπτικές συνθήκες,
- αριθμό, ηλικία και φύλο των ζώων,
- ατομικά βέρη των ζώων στην αρχή και στο τέλος της δοκιμασίας,
- κάθε παρατήρηση που έγινε για κάθε ζώο, περιλαμβανομένου του συστήματος βαθμολογίας, αν χρησιμοποιήθηκε κάποιο,
- σύχνηση των αποτελεσμάτων,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Λεξιλόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

Παρατηρήσεις

Η «Δοκιμασία Μεγιστοποίησης στο Ινδικό Χοιρίδιο» (ΔΜΙΧ) είναι μία πολύ διαδεδομένη μέθοδος που χρησιμοποιεί επικουρική ουσία. Αν και διάφορες άλλες μέθοδοι, που αναφέρονται στο προσάρτημα, μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τη διαπίστωση του δυναμικού προκλήσεως μιας αντιδράσεως δερματικής ευαισθητοποίησης μιας ουσίας, η ΔΜΙΧ θεωρείται η προτιμώμενη μέθοδος (μέθοδος αναφοράς). Η ευαισθησία της και η ικανότητα για τη διαπίστωση των δυναμικών ευαισθητοποιητικών ουσιών του ανθρώπινου δέρματος θεωρείται σημαντική σ' ένα σύστημα κατατάξεως για την τοξικότητα τη σχετική με τη δημόσια υγεία. Η εκλογή ομοιοδομήκων εναλλακτικής δοκιμασίας πρέπει να γίνεται από κριτήρια που να εξασφαλίζουν την εγκυρότητά της. Μεταξύ των κριτηρίων αυτών είναι η προσδοκώμενη αντίδραση σε πρότυπα αλλεργισμένα σαν το 2,4-δινιτροχλωροβενζόλιο και την p-φαινυλενοδιαιμίνη ή μία άλλη ισχυρή ευαισθητοποιητική ουσία, που να ταυριάζει στην τάξη των προς έλεγχο ουσιών.

Δεν υπάρχει μια μοναδική δοκιμασία η οποία να ταυτοποιεί ικανοποιητικά όλες τις ουσίες με ένα δυναμικό ευαισθητοποίησης του ανθρώπινου δέρματος και που να είναι σχετική με όλες τις ουσίες.

Για την εκλογή μιάς δοκιμασίας πρέπει να λαμβάνονται υπόψη παράγοντες όπως τα φυσικά χαρακτηριστικά μιάς ουσίας, που περιλαμβάνουν την ικανότητά της να διαπερνά το δέρμα και τον τρόπο με τον οποίο έρχεται σε επαφή με τον ανθρώπινο πληθυσμό, που πιθανόν θα εκτεθεί. Οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούν το ινδικό χοιρίδιο μπορούν να υποδιαιρεθούν στις δοκιμασίες με επικουρική ουσία, κατά τις οποίες μία ελληρωσκόπος κατάσταση ενεργοποιείται με τη δράση ή τη διαστολή της ελεγχόμενης ουσίας στο Freund's Complete Adjuvant (FCA) και σ' εκείνες χωρίς επικουρική ουσία. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να δικαιολογηθεί η εκλογή μιάς δοκιμασίας με τοπική εφαρμογή παρά με ενδοδερμική ένεση, όπως γίνεται στη Δοκιμασία Μεγιστοποίησης στο Ινδικό Χοιρίδιο. Και σ' αυτή την περίπτωση πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα φυσικά χαρακτηριστικά της ελεγχόμενης ουσίας και οι συνθήκες της πιθανής έκθεσώς του ανθρώπινου πληθυσμού.

Ανεξάρτητα από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο, η ευαισθησία της φύλης των ινδικών χοιρίδιων, που θα χρησιμοποιηθούν για τις δοκιμασίες της δερματικής ευαισθητοποίησης, πρέπει να ελέγχεται κατά κανονικά διαστήματα (κάθε 6 μήνες) με τη χρησιμοποίηση ισχυρών και μέτρωων ευαισθητοποιητικών ουσιών και με τη λήψη ικανοποιητικού αριθμού θετικών ανταποκρίσεων.

Προσάρτημα

Δοκιμασία	Draize	Friend's Complete Adjuvant (FCA)	Αριστοποίηση Maurer	Buchler	Ανοικτή επιδερματική δοκιμασία	Split Adjuvant
<i>Πειραματόζωο</i>	ινδικό χοιρίδιο	ινδικό χοιρίδιο	ινδικό χοιρίδιο	ινδικό χοιρίδιο	ινδικό χοιρίδιο	ινδικό χοιρίδιο
<i>Οδός χορηγήσεως</i>	ενδοδερμική (id)	ενδοδερμική (id)	επιδερματική (id)	επιδερματική (ec)	επιδερματική (ec)	(id & ec)
<i>Αριθμός στις πειραματικές ομάδες</i>	20	8 — 10	10 — 10	10 — 20	6 — 8	10 — 20
<i>Αριθμός πειραματικών ομάδων</i>	1	1	1	1	ως 6	1
<i>Αριθμός στις ομάδες μαρτύρων</i>	20	8 — 10	10 — 10	10 — 20	6 — 8	10 — 20
<i>Έκθεση διεγέρσεως — οδός χορηγήσεως</i>	id	id	id	δερματική	δερματική	id και δερματική
<i>Αριθμός εκθέσεων</i>	10	5	9	3	20 ή 21	4
<i>Περίοδος εκθέσεως</i>	—	—	24 ώρες	6 ώρες έκαστο	συνεχής	48 ώρες έκαστο
<i>Είδος επιθέματος (γάζας)</i>	—	—	—	κλειστό	ανοικτό	κλειστό
<i>Πειραματικές ομάδες</i>	EO (!)	EO σε FCA	EO σε FCA	EO	EO	EO
<i>Ομάδες μαρτύρων</i>	—	μόνο FCA	—	—	φορέας (v) μόνο	—
<i>Περιοχή</i>	αριστερό πλευρό	δεξί πλευρό	πλάτη	αριστερό πλευρό	δεξί πλευρό	ώμος
<i>Συχνότητα</i>	κάθε δεύτερη ημέρα	κάθε δεύτερη ημέρα	κάθε δεύτερη ημέρα	κάθε 7 ημέρες	καθημερινά	0, 2, 4, 7 ημέρες
<i>Διάρκεια</i>	0 — 18 ημέρες	0 — 8 ημέρες	0 — 21 ημέρες	0 — 14 ημέρες	0 — 20 ημέρες	0 — 7 ημέρες
<i>Συγκέντρωση</i>	2 — 10 φορές της πρώτης	ίδια καθ' όλη τη διάρκεια	0,1 ml του 0,1 %	ίδια καθ' όλη τη διάρκεια	ίδια ανά ομάδα, διαφορετική μεταξύ ομάδων	ίδια καθ' όλη τη διάρκεια
<i>Έκθεση προκλήσεως</i>	id	δερματική	id	δερματική	δερματική	δερματική
<i>Οδός χορηγήσεως</i>	id	δερματική	id	δερματική	δερματική	δερματική
<i>Αριθμός εκθέσεων</i>	1	2	2	1	2	1
<i>Ημέρες</i>	35	22 ή 35	14 ή 28	28	21 ή 35	20
<i>Περίοδος εκθέσεως</i>	—	—	24 ώρες	6 ώρες	—	24 ώρες
<i>Τύπος επιθέματος</i>	—	ανοικτό	—	κλειστό	ανοικτό	κλειστό
<i>Πειραματικές ομάδες</i>	EO	EO	EO	EO	EO	EO
<i>Ομάδες μαρτύρων</i>	EO	EO	EO	EO	EO	EO
<i>Περιοχή</i>	δεξί πλευρό	αριστερό πλευρό	πλάτη σε νέα περιοχή	δεξί πλευρό	αριστερό πλευρό	ώμος
<i>Συγκέντρωση</i>	ίδια σαν την πρώτη	4 διαφορετικές	0,1 ml του 0,1 %	ίδια της διεγέρσεως	4 διαφορετικές	η μισή της διεγέρσεως
<i>Αξιολόγηση (ώρες μετά την πρόκληση)</i>	24, 48	24, 48, 72	24	24, 48	24, 48 ή/και 72	24, 48

(!) EO = Ελεγχόμενη ουσία.

1.6.2.1.	Πετραματοζώα	Εφόσον δεν υπάρχουν αντενδείξεις, το προτιμώτερο είδος είναι ο ελίμικ. Πρέπει να χρησιμοποιούνται οι συνήθως εργαστηριακές φυλές από νεαρά υγιή ζώα. Στην πιο ιδανική περίπτωση, η χορήγηση πρέπει να αρχίζει πρώτο οι εκτιμώμενες φθασουν την ηλικία των 6 και, σε ορισμένες περιπτώσεις, των 8 εβδομάδων. Στην αρχή της μελέτης, η διαφορά βάρους των χρησιμοποιούμενων ζώων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 20 % της μέσης τιμής.
1.6.2.2.	Αριθμός και φύλο	Για κάθε επίκεδο δόσεων, πρέπει να χρησιμοποιούνται 10, τουλάχιστον, ζώα (5 θηλυκά και 5 αρσενικά). Τα θηλυκά πρέπει να είναι άτοκα και να μη βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Εάν έχουν σχεδιαστεί ενδιάμεσες θανατώσεις ζώων, ο αριθμός των ζώων ανά ομάδα πρέπει να αυξηθεί με τον αριθμό των ζώων που προγραμματίστηκε να θανατωθούν πριν από τη συμπλήρωση της μελέτης. Εκπλέον, μια δορυφορική ομάδα από 10 ζώα (5 ζώα ανά φύλο) πρέπει να υφίσταται την επέμβαση με την υψηλότερη δόση για 28 μέρες, ώστε να επιτρέψει παρατήρησης για την επαναφορά, εμνοή η αργοκαρμημένη εμφάνιση των τοξικών συμπτωμάτων για 14 μέρες μετά το τέλος των χορηγήσεων.
1.6.2.3.	Επίκεδο δόσεων	Πρέπει να χρησιμοποιούνται τρία, τουλάχιστον, επίκεδο δόσεων και ένας μάρτυρας. Εκτός από τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας, τα ζώα της ομάδας του μάρτυρα πρέπει να υφίστανται την ίδια ακριβώς μεταχείριση όπως και οι υπόλοιπες ομάδες. Όταν χρησιμοποιείται φορέας για τη διευκόλυνση της χορήγησης, τα ζώα του μάρτυρα πρέπει να λαμβάνουν το φορέα με τον ίδιο τρόπο όπως και οι περιμαρτυρικές ομάδες και να δέχονται το ίδιο ποσό φορέα που δέχονται τα ζώα της ομάδας των υψηλότερων δόσεων. Το υψηλότερο επίκεδο δόσεων πρέπει μεν να προκαλεί τοξικές επιδράσεις αλλά καθόλου ή πολύ λίγους θανάτους. Το χαμηλότερο επίκεδο δόσεων δεν πρέπει να προκαλεί κανένα τοξικό σύμπτωμα. Όπου υπάρχει ευχέρεια εκτιμήσεως εκθέσεως του ανθρώπου, το καλύτερο επίκεδο δόσεων πρέπει να την υπερβαίνει. Στην ιδεώδη περίπτωση, το ενδιάμεσο επίκεδο δόσεων πρέπει να προκαλεί ελάχιστα διακρινόμενα τοξικά συμπτώματα. Εάν χρησιμοποιούνται περισσότερες από μια ενδιάμεσες δόσεις, τα επίκεδο πρέπει να είναι κατανημημένα με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι δυνατή η κλιμάκωση των τοξικών επιδράσεων.
1.6.2.4.	Ορισκή δοκιμασία	Στις ομάδες των χαμηλών και ενδιάμεσων δόσεων, καθώς και στους μάρτυρες, η συχνότητα εμφάνσεως θανάτων πρέπει να είναι χαμηλή, έτσι που να επιτρέπεται μια σημαντική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Όταν η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται με την τροφή, πρέπει να χρησιμοποιείται είτε η σταθερή συγκέντρωση στην τροφή (ppm ή mg/kg τροφής) είτε το σταθερό επίκεδο δόσεων εκφρασμένο επί του βάρους του σώματος του ζώου. Άλλος εναλλακτικός τρόπος, εάν χρησιμοποιηθεί, πρέπει να οριστεί με λεπτομέρειες. Για ουσίες που χορηγούνται με καθετήραση, η χορήγηση πρέπει να γίνεται ακριβώς την ίδια ώρα, κάθε ημέρα. Οι δόσεις πρέπει να προσαρμόζονται κατά διαστήματα (μία ή δύο φορές την εβδομάδα), ώστε να διατηρείται ένα σταθερό επίκεδο δόσεων σε αναλογία με το βέρος.
1.6.2.5.	Περίοδος παρατήρησης	Εάν μια μελέτη 28 ημερών γίνει σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται παρακάτω, σε ένα επίκεδο δόσεων 1 000 mg/kg βάρους σώματος ανά ημέρα, ή και σε υψηλότερο επίκεδο σκευάσματος με τη δυνατή έκθεση του ανθρώπου, όταν αυτό είναι γνωστό, και δεν προκαλέσει κανένα τοξικό σύμπτωμα, τότε δεν θεωρείται αναγκαία η περαιτέρω σύγχυση της μελέτης. Για ουσίες με χαμηλή τοξικότητα, είναι σημαντικό να εξεσφαλθεί ότι, όταν η ουσία χορηγείται με την τροφή, οι ποσότητες και σε σχετικές ιδιότητες της ελεγχόμενης ουσίας δεν περιβαρύνουν στις φυσιολογικές ανάγκες διατροφής.

B. 7. ΥΠΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΣΤΟΜΑΤΟΣ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

1.2. Ορισμοί

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Ουδεμία.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η ελεγχόμενη ουσία, χορηγείται από το στόμα, σε ημερήσιες διαβαθμισμένες δόσεις, σε διάφορες ομάδες περιμαρτυρικών, μια δόση ανά ομάδα, για μια περίοδο 28 ημερών. Τα ζώα εξετάζονται καθημερινά κατά τη διάρκεια της περιόδου χορηγήσεως για τη διαπίστωση τοξικών συμπτωμάτων. Τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, όπως και αυτά που πεθαίνουν στο τέλος της, νεκροτομούνται.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Ουδέν.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Προετοιμασία

Τα ζώα κρατούνται κάτω από τις περιμαρτυρικές συνθήκες εγκλιματισμού και διατροφής, τουλάχιστον για 5 μέρες πριν από τη δοκιμασία. Πριν από τη δοκιμασία, υγιή νεαρά ζώα λαμβάνονται με τυποποίηση και καταναλώνονται στις περιμαρτυρικές ομάδες. Οι ελεγχόμενες ουσίες μπορεί να χορηγούνται μέσα στην τροφή, με στοματική καθετήραση, σε κάψουλες ή και στο πόσιμο νερό. Όλα τα ζώα πρέπει να δηλητηριάζονται με την ίδια μέθοδο καθ' όλη τη διάρκεια της περιμαρτυρικής περιόδου. Εάν ένας φορέας ή άλλες προσθετικές ουσίες χρησιμοποιούνται για να διευκολύνουν τη χορήγηση της ουσίας, πρέπει να είναι γνωστό ότι δεν έχουν τοξικές επιδράσεις. Ιστορικά δεδομένα μπορούν να υποσχεωθούν, εφόσον είναι διαθέσιμα.

1.6.2. Περιμαρτυρικές συνθήκες

Όλα τα ζώα πρέπει να παρατηρούνται καθημερινά και να καταγράφονται όλα τα τοξικά συμπτώματα, συμπεριλαμβανομένων του χρόνου εμφάνισής τους, του βαθμού σοβαρότητας και της διάρκειας. Πρέπει να καταγράφονται, επίσης, ο χρόνος θανάτου και οι χρόνοι εμφάνισής και εξαφάνισής των τοξικών συμπτωμάτων.

1.6.3.

Διαδικασία

Στην πιο ιδανική περίπτωση, η χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας γίνεται επί 7 ημέρες την εβδομάδα για μια περίοδο 28 ημερών. Τα ζώα μιας δοκιμαστικής ομάδας σχεδιασμένης για τις επακόλουθες παρατηρήσεις πρέπει να διατηρούνται 14 ακόμα ημέρες χωρίς χορήγηση, ώστε να γίνει δυνατή η εξακρίβωση των φαινομένων της επαναφοράς ή της εμμονής των τοξικών επιδράσεων.

Οι παρατηρήσεις στους κλωβούς πρέπει να περιλαμβάνουν αλλοιώσεις στο δέρμα, στο τρίχωμα, στα μάτια, στο βλεννογόνο, στο αναπνευστικό, κυκλοφορικό, αυτόνομο και κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς και στη σωματική λειτουργικότητα και στη συμπεριφορά. Πρέπει να γίνονται κάθε βδομάδα μετρήσεις της κατασκευαστικής τροφής (και του νερού, όταν η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται μέσα στο πόσιμο νερό) και του βάρους των ζώων. Οι κανονικές παρατηρήσεις είναι απαραίτητες για να αποκωδифοθούν, όσο το δυνατόν, οι απώλειες οι οφειλόμενες σε αυτές όπως ο αναβολισμός, η αυθόρμητη ή η κακή τοποθέτηση των ζώων. Στο τέλος της περιόδου δοκιμασίας, γίνεται νεκροψία σε όλα τα εκζώντα ζώα των ομάδων όπου έγινε η χορήγηση. Η απομάκρυνση και η νεκροψία των ετοιμοθανάτων ζώων πρέπει να γίνονται μόλις αυτό πέσει στην αντίληψή μας.

Στο τέλος της δοκιμασίας, για όλα τα ζώα ακόμα και του μάρτυρα, πρέπει να γίνουν οι ακόλουθες εξετάσεις:

1. αιματολογικές εξετάσεις που περιλαμβάνουν, τουλάχιστον, τις μετρήσεις του δείκτη αιματοκρίτη, τη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης, αριθμό ερυθροκυττάρων, αριθμό λευκοκυττάρων και λευκοκυτταρικό τύπο και μία μέτρηση της κηκτικότητας του αίματος.
2. κλινικές βιοχημικές δοκιμασίες στο αίμα που περιλαμβάνουν, τουλάχιστον, μία παράμετρο της λειτουργίας του ήπατος και των νεφρών: αλβύνη ομινοτρανεσφοράση του ορού (αρχικά γνωστή σαν γλουταμίνη-κυροσταφυλική τρανσ-αμινάση του ορού), οσκαρική αμινοτρανεσφοράση του ορού (αρχικά γνωστή σαν γλουταμινική οξυλοξική τρανσ-αμινάση του ορού), άζωτο ουρίας, λεύκωμα, κρεατινίνη αίματος, ολική χοληστερόλη και ολικές πρωτεΐνες ορού.

Άλλοι προσδιορισμοί, οι οποίοι μπορεί να είναι απαραίτητοι για μια ικανοποιητική τοξικολογική αξιολόγηση, περιλαμβάνουν το ασβέστιο, τον φωσφόρο, το χλώριο, το νάτριο, το κάλιο, τη δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη, ανάλυση λιπιδίων, ορμόνες, σχέση οξέων/βάσεων, μεθαιμοσφαιρίνη και χολινεστέραση δραστηριότητα.

Πρόσθετες κλινικές βιοχημικές δοκιμασίες μπορεί να χρησιμοποιηθούν όταν υπάρξει ανάγκη διεκτάσεως της έρευνας των παρατηρηθέντων επιδράσεων.

1.6.3.1.

Νεκροψία

Όλα τα ζώα του πειράματος πρέπει να υπόκεινται σε πλήρη νεκροψία. Το ήπαρ, οι νεφροί, τα εντερίδια και οι όργανα πρέπει να ζυγίζονται χωριστά μετά την ανατομή, όσο το δυνατόν γρηγορότερα, ώστε να αποφευχθεί η ξήρανση. Όργανα και ιστοί (ήπαρ, νεφροί, σπλήνας, εντερίδια και καρδιά και όσκαο άλλο όργανο που παρουσιάζει παθολογικές αλλοιώσεις ή αλλαγές στο μέγεθος) πρέπει να διατηρούνται σε κατάλληλο μέσο για μια πιθανή μελλοντική ιστοπαθολογική εξέταση.

Ιστοπαθολογική εξέταση

Η ιστοπαθολογική εξέταση πρέπει να γίνεται σε διατηρημένους ιστούς και όργανα των ζώων των ομάδων υψηλών δόσεων και μάρτυρα. Τα όργανα και οι ιστοί που εμφανίζουν βλάβες αποδοδόμενες στην επίδραση της υψηλότερης δόσεως της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει να εξετάζονται και σε όλες τις χαμηλότερες δόσεις. Τα ζώα της δοκιμαστικής ομάδας πρέπει να εξετάζονται ιστολογικά, με ιδιαίτερη έμφαση για εκείνα τα όργανα και ιστούς που εμφάνισαν επιδράσεις στα ζώα άλλων πειραματικών ομάδων.

2.

ΔΕΛΤΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, όπου για κάθε ομάδα της δοκιμασίας θα φαίνονται ο αριθμός των ζώων στην αρχή της δοκιμασίας, ο αριθμός των ζώων που εμφανίζουν καθέναν από τους τύπους αλλοιώσεων.

Όλα τα παρατηρηθέντα αποτελέσματα πρέπει να υφίστανται επεξεργασία με μια κατάλληλη στατιστική μέθοδο. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε αναγνωρισμένη στατιστική μέθοδος.

3.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- είδος, φύλη, ηλικία, συνθήκες περιβάλλοντος, τροφή, κλπ.,
- πειραματικές συνθήκες,
- επίδεκα δόσεων (περιλαμβανομένου και του φορέα, εάν χρησιμοποιείται) και συγκεντρώσεις,
- δεδομένα τοξικής αντίδρασης ανά φύλο και δόση,
- επίδεκα μη τοξικά, εάν είναι δυνατόν,
- χρόνο θανάτου κατά τη δοκιμασία ή εάν τα ζώα επιζούν στο τέλος της δοκιμασίας,
- τοξικές και άλλες επιδράσεις,
- το χρόνο παρατηρήσεως κάθε ανώμαλου συμπτώματος και τη μετέπειτα πορεία του,
- δεδομένα τροφής και βάρους σώματος,
- αιματολογικές δοκιμασίες και όλα τα αποτελέσματα,
- κλινικές βιοχημικές δοκιμασίες και όλα τα αποτελέσματα,
- ευρήματα νεκροψίας,
- λεπτομερή περιγραφή όλων των ιστοπαθολογικών αποτελεσμάτων,
- στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, εφόσον είναι δυνατόν,
- συζήτηση των αποτελεσμάτων,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

αυθησιμένες εργαστηριακές φυλές και νεαρά υγιή ζώα. Στην αρχή της μελέτης, το εύρος της διαφοράς βάρους των ζώων δεν πρέπει να υπερβαίνει το $\pm 20\%$ της κανονικής μέσης τιμής.

1.6.2.2. Αριθμός και φύλο

Για κάθε δοκιμαζόμενη ομάδα πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον 10 ζώα (5 θηλυκά και 5 αρσενικά). Τα θηλυκά πρέπει να είναι άτοκα και να μη βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Εάν έχουν προγραμματιστεί ενδιάμεσες θανατώσεις ζώων, τότε ο αριθμός των ζώων, ανά ομάδα, πρέπει να αυξηθεί με τον αριθμό των ζώων που έχουν προγραμματιστεί να θανατωθούν πριν την ολοκλήρωση της μελέτης. Επιπλέον, μια δορυφορική ομάδα από 10 ζώα (5 θηλυκά και 5 αρσενικά) μπορεί να δηλητηριαστούμε με το υψηλότερο επίπεδο συγκεντρώσεως, για 28 ημέρες και να παρατηρούνται για επαναφορά, έμμεση ή άμεση εμφάνιση των τοξικών επιδράσεων. Η περίοδος παρατήρησης είναι 14 ημέρες μετά το τέλος της εκθέσεως.

1.6.2.3. Συγκεντρώσεις εκθέσεως

Απαιτούνται τουλάχιστον τρεις συγκεντρώσεις, με ένα μάρτυρα ή ένα μάρτυρα φορέα (που αντιστοιχεί στη συγκεντρώνει του φορέα στην υψηλότερη δόση), αν χρησιμοποιείται φορέας. Τα ζώα στην ομάδα του μάρτυρα πρέπει να υφίστανται την ίδια μεταχείριση, της χορήγησης της ελεγχόμενης ουσίας εξαιρουμένης, με τα ζώα της ελεγχόμενης ομάδας. Η υψηλότερη συγκεντρώνει πρέπει να προκαλεί τοξικές επιδράσεις, αλλά καθόλου ή λίγους θανάτους. Η χαμηλότερη συγκεντρώνει δεν πρέπει να προκαλεί ενδιάμεση τοξικότητα. Όσο υπάρχει μια ευρύτερη εκτίμηση ανθρωπίνης εκθέσεως, τότε η χαμηλότερη συγκεντρώνει πρέπει να την υπερβαίνει. Στην πιο ιδανική περίπτωση, η ενδιάμεση συγκεντρώνει πρέπει να προκαλεί ελάχιστα, αλλά φανερά, τοξικά συμπτώματα. Αν χρησιμοποιούνται περισσότερες από μια ενδιάμεσες συγκεντρώσεις, τότε πρέπει να καταμένονται έτσι που να παράγεται μια διαβάθμιση των τοξικών επιδράσεων. Στα καλύτερα και ενδιάμεσα επίπεδα συγκεντρώσεων, όπως και στους μάρτυρες, η συχνότητα των θανάτων πρέπει να είναι χαμηλή, ώστε να επιτρέπεται μια σημαντική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

1.6.2.4. Χρόνος εκθέσεως

Η διάρκεια της εκθέσεως ανά ημέρα πρέπει να είναι 6 ώρες, αλλά και άλλες χρονικές περιόδους μπορεί να απαιτηθούν σε ειδικές περιπτώσεις.

1.6.2.5. Συσκευές

Τα ζώα πρέπει να δοκιμάζονται μέσα σε μια αναπνευστική σιακακή σχεδιασμένη για να διατηρεί μια δυναμική ροή αέρα, τουλάχιστον 12 αλλαγών του αέρα ανά ώρα, ώστε να εξασφαλίζεται έτσι μια εκάκριτα σε οξυγόνο και μια ομαλά κατανεμημένη ατμόσφαιρα εκθέσεως. Όπου χρησιμοποιείται θάλαμος, το σχήμα του πρέπει να μωώνει στο ελάχιστο το συνωστισμό των ζώων και να αυξάνει στο μεγαλύτερο βαθμό την αναπνευστική τους έκθεση στην ελεγχόμενη ουσία. Εάν γενικός κανόνας για να εξασφαλιστεί σταθερότητα στην ατμόσφαιρα ενός θαλάμου, ο ολικός «όγκος» των παραματωζών δεν πρέπει να υπερβαίνει το 5% του όγκου του δοκιμαστικού θαλάμου. Μπορεί να χρησιμοποιείται στοιβακτορικός ή κεφαλικός, ή ολόκληρου του σώματος ατομικός θάλαμος εκθέσεως. Οι δύο πρώτοι θα μωώσουν στο ελάχιστο τη λήψη της ουσίας από άλλες οδούς.

1.6.2.6. Περίοδος παρατηρήσεων

Τα παραματωζώα πρέπει να εξετάζονται καθημερινά για συμπτώματα τοξικότητας καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού, όπως και κατά την περίοδο της θεραπείας. Ο χρόνος θανάτου και ο χρόνος

B. 8. ΥΠΟΒΕΙΑ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος B (σημείο A).

1.2. Ορισμοί

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος B (σημείο B).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Ουδέμια.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Διάφορες ομάδες παραματωζών εκτίθενται καθημερινά, για μια ορισμένη περίοδο, σε διαβαθμισμένες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας, μιας συγκεντρώσεως χρησιμοποιούμενης ανά ομάδα, για μια χρονική περίοδο 28 ημερών. Όταν χρησιμοποιείται φορέας για να βοηθήσει στην παραγωγή της κατάλληλης συγκεντρώσεως της ελεγχόμενης ουσίας, τότε πρέπει να χρησιμοποιείται και μια ομάδα μάρτυρα του φορέα. Κατά τη διάρκεια της χορήγησης, πρέπει να γίνονται καθημερινές παρατηρήσεις στα ζώα, για τη διαπίστωση συμπτωμάτων τοξικότητας. Τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, όπως και αυτά που επιζών στο τέλος της, πρέπει να νεκροτομούνται.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Ουδέν.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Προτοιμασίες

Τα ζώα κρατούνται κάτω από τις παραματωζικές συνθήκες εγκλωβισμού και διατροφής για 5 ημέρες τουλάχιστον πριν από την έναρξη του πειράματος. Πριν από τη δοκιμασία, υγιή νεαρά ζώα λαμβάνονται με τυχαιοποίηση και καταναλώνονται στις απαιτούμενες παραματωζικές ομάδες. Ένας κατάλληλος φορέας μπορεί να προστεθεί στην ελεγχόμενη ουσία, όταν χρειαστεί, για να βοηθήσει την παραγωγή της κατάλληλης συγκεντρώσεως της ουσίας στην ατμόσφαιρα. Αν ένας φορέας ή άλλες προσθετικές ουσίες χρησιμοποιούνται για να διακοπυθεί η χορήγηση των δόσεων, πρέπει να είναι γνωστό ότι δεν προκαλούν τοξικές επιδράσεις. Ιστορικά στοιχεία, αν υπάρχουν, μπορεί να χρησιμοποιηθούν.

1.6.2. Παραματωζικές συνθήκες

1.6.2.1. Πειραματωζώα

Ο επιμυς είναι το είδος που προτιμάται, εκτός αν υπάρχουν αντενδείξεις. Πρέπει να χρησιμοποιούνται οι

β) κλινικός βιοχημικός προσδιορισμός στο αίμα, περιλαμβανομένης, τουλάχιστον, μιας παραμέτρου της λειτουργίας του ήπατος και των νεφρών: αλανίνο αμινοτρανσφεράση του ορού (ερχικά γνωστή σαν γλουταμίνη-πυροσταφυλική τρανσ-αμινάση του ορού), ασκαρτική αμινοτρανσφεράση του ορού (ερχικά γνωστή σαν γλουταμινική οξελοξική τρανσ-αμινάση του ορού), άζωτο ουρίας, λεύκωμα, κρεατινίνη αίματος, ολική χοληστερίνη και ολικές κρεατινίνες ορού.

*Άλλοι προσδιορισμοί, οι οποίοι μπορεί να είναι απαραίτητοι για μια ικανοποιητική τοξικολογική αξιολόγηση, περιλαμβάνουν το ασβέστιο, φωσφόρο, χλωριόχα, νάτριο, κάλιο, δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη, ανάλυση λιπιδίων, ορμόνες, σχέση οξέων/βάσεων, μεθειμινοσφαιρίνη και δραστηριότητα χοληνεστέρσης.

Πρόσθετες κλινικές βιοχημικές δοκιμασίες μπορεί να χρησιμοποιηθούν όταν υπέρχει ανάγκη επέκτασης της έρευνας των παρατηρηθεισών επιδράσεων.

Νεκροψία

*Όλα τα ζώα του περάματος πρέπει να υπόκεινται σε πλήρη νεκροψία. Το ήπαρ, οι νεφροί, τα επινεφρίδια και οι όρχις πρέπει να ζυγίζονται χωστά, όσο το δυνατόν πληρωρότερα μετά την ανατομή, ώστε να αποφευχθεί η ξήρανση. Όργανα και ιστοί (το αναπνευστικό σύστημα, το ήπαρ, τα νεφρά, ο σπλήνας, τα επινεφρίδια, η καρδιά και κάθε όργανο που έδειξε μακροσκοπικές αλλοιώσεις ή αλλαγές στο βάρος) πρέπει να διατηρούνται σε κατάλληλο μέσο για μια πιθανή μελλοντική ιστοπαθολογική εξέταση. Ο ρινοφάρυγγας και οι πνεύμονες πρέπει να λαμβάνονται ολόκληροι, να ζυγίζονται και να συντηρούνται με ένα κατάλληλο προσηλωτικό μέσο, ώστε να εξασφαλίζεται η διατήρηση της δομής των πνευμόνων. Μια διαδικασία που θεωρείται αποτελεσματική είναι η έγχυση με ένα προσηλωτικό υγρό.

Ιστοπαθολογική εξέταση

Στις ομάδες των υψηλών συγκεντρώσεων και στις ομάδες των μερτύρων, πρέπει να γίνει ιστολογική εξέταση σε συντηρημένα όργανα και ιστοί. Όργανα και ιστοί που παρουσιάζουν ανωμαλίες στην υψηλότερη δόση και που μπορούν να αποδοθούν στην ελεγχόμενη ουσία, πρέπει να εξετάζονται σε όλες τις ομάδες των χαμηλότερων δόσεων. Τα ζώα κάθε δοσφορικής ομάδας πρέπει να εξετάζονται ιστολογικά, με ιδιαίτερη έμφαση σ' αυτά τα όργανα και ιστοί που εμφάνισαν επιδράσεις στα ζώα των άλλων ομάδων.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, στον οποίο να φαίνεται, για κάθε δοκιμαζόμενη ουσία, ο αριθμός των ζώων στην αρχή της δοκιμασίας, ο αριθμός των ζώων που εμφανίζουν κάθε τύπο αλλοιώσεως. Όλα τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν πρέπει να αξιολογηθούν με μια κατάλληλη στατιστική μέθοδο. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αναγνωρισμένη στατιστική μέθοδος.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

*Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

1.6.3.

Διαδικασία

Τα ζώα εκτίθενται στην ελεγχόμενη ουσία καθημερινά, 5 έως 7 ημέρες την εβδομάδα, για μια περίοδο 28 ημερών. Τα ζώα κάθε δοσφορικής ομάδας, προγραμματισμένα για συνεχείς παρατηρήσεις, θα κρατηθούν για 14 επιπλέον ημέρες χωρίς χορήγηση της ουσίας, για να διαπιστωθεί η θεραπεία ή η εμφάνιση των τοξικών συμπτωμάτων. Η θερμοκρασία στην οποία πρέπει να πραγματοποιείται η δοκιμασία, πρέπει να διατηρείται στους 22 °C ± 3 °C. Η ιδανική σχετική υγρασία πρέπει να διατηρείται μεταξύ 30 και 70 %, αλλά για ορισμένες περιπτώσεις (π.χ. δοκιμασίες αερολυμάτων) αυτό μπορεί να μην είναι πραγματοποιήσιμο. Η τροφή και το νερό πρέπει να απομακρύνονται κατά τη διάρκεια της εκθέσεως.

Πρέπει να ζητηθεί, ... είναι ένα δυναμικό αναπνευστικό σύστημα εφοδιασμένο με ένα κατάλληλο σύστημα μετρήσεως της συγκεντρώσεως. Για να διαπιστωθεί η κατάλληλη συγκέντρωση εκθέσεως, συνιστάται μια προκαταρκτική δοκιμασία. Η ροή του αέρα πρέπει να προσαρμόζεται για να εξασφαλιστεί η ομοιογένεια των συνηθών στο θέλιο εκθέσεως. Το σύστημα πρέπει να εξασφαλίζει την όσο το δυνατόν πληρωρότερη εγκατάσταση σταθερών συνηθών εκθέσεως.

Πρέπει να γίνονται μετρήσεις ή παρακολούθηση:

α) της ταχύτητας της ροής του αέρα (συνεχώς)

β) της πραγματικής συγκεντρώσεως της ελεγχόμενης ουσίας στην αναπνευστική ζώνη. Κατά τη διάρκεια της περιόδου εκθέσεως, η συγκέντρωση δεν πρέπει να διαφέρει περισσότερο από 15 % από τη μέση τιμή. Πάντως, στην περίπτωση των αερολυμάτων και κόνων, αυτό το επίκεδρο ελέγχου μπορεί να μην είναι κατορθωτό και τότε ένα μεγαλύτερο εύρος θα μπορούσε να γίνει δεκτό. Καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης η συγκέντρωση από ημέρα σε ημέρα πρέπει να διατηρείται τόσο σταθερή όσο είναι πρακτικά πραγματοποιήσιμο. Όσον αφορά τα σωματίδια και τα αερολύματα που σκοπεύουμε να προσδιορίσουμε τη σύνθεση κατανομής των σωματιδίων των, πρέπει να λαμβάνονται μετρήσεις τόσο συχνά όσο είναι απαραίτητο

γ) της θερμοκρασίας και της υγρασίας

δ) κατά τη διάρκεια, και στη συνέχεια της εκθέσεως, γίνονται συστηματικές παρατηρήσεις. Πρέπει να διατηρείται ατομικό αρχείο για κάθε ζώο. Όλα τα ζώα πρέπει να εξετάζονται καθημερινά και τα συμπτώματα τοξικότητας πρέπει να καταγράφονται, περιλαμβανομένου του τρόπου εμφάνισής της σοβαρότητας και της διάρκειάς τους. Οι παρατηρήσεις στους κλωβούς πρέπει να περιλαμβάνουν αλλοιώσεις στο δέρμα και στο τρίχωμα, αλλοιώσεις των οφθαλμών, των βλεννογόνων, αλλοιώσεις του αναπνευστικού, κυκλοφορικού, του αυτόνομου και κεντρικού νευρικού συστήματος, της σωματικής δραστηριότητας και του τρόπου συμπεριφοράς. Τα ζώα πρέπει να ζυγίζονται εβδομαδιαίως. Εκτός, συνιστάται να γίνονται μετρήσεις της καταπόνησης της τροφής μια φορά την εβδομάδα. Οι τακτικές παρατηρήσεις των ζώων είναι απαραίτητες για να εξασφαλίζεται ότι τα ζώα δεν χάνονται από τη μελέτη για λόγους όπως ο καννibalισμός, η αυτόλυση των ιστών και η κακή τοκοδότηση. Στο τέλος της περιόδου μελέτης, όλα τα εκζώντα στις μη δοσφορικές ομάδες νεκροτομούνται. Τα ετοιμασμένα ζώα, μόλις διακρίνονται, πρέπει να απομακρύνονται και να νεκροτομούνται.

Οι ακόλουθες εξετάσεις πρέπει να γίνονται στο τέλος της δοκιμασίας σε όλα τα ζώα, των μερτύρων συμπεριλαμβανομένων:

β) αιματολογικές, που να περιλαμβάνουν, τουλάχιστον, το δείκτη αιματοκρίτη, συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης, μέτρηση ερυθροκυττάρων, μέτρηση λευκοκυττάρων και λευκοκυτταρικό τύπο και μια μέτρηση της ηπικτικότητας του αίματος

Β. 9. ΥΠΟΞΕΙΑ ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

ΜΕΘΟΔΟΣ

Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

Ορισμοί

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

Ουσίες αναφοράς

Καμία.

Αρχή της μεθόδου

Η ελεγχόμενη ουσία εφαρμόζεται καθημερινά στο δέρμα σε διαβαθμισμένες δόσεις, σε διάφορες ομάδες πειραματοζώων, μια δόση ανά ομάδα, για μια χρονική περίοδο 28 ημερών. Κατά τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής, τα ζώα εξετάζονται καθημερινά για τη διακρίσιμη τοξικών συμπτωμάτων. Τα ζώα που κερδίζουν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, όπως και αυτά που εκζέδον στη λήξη της, νεκροτομούνται.

Κριτήρια ποιότητας

Κανένα.

Περιγραφή της μεθόδου

Προετοιμασίες

Τα ζώα κρατούνται κάτω από τις παραματικές συνθήκες εγκλωβισμού και διατροφής για 5 τουλάχιστον ημέρες πριν από τη δοκιμασία. Πριν από τη δοκιμασία υγιή νεαρά ζώα λαμβάνονται με τυτακοποίηση και καταναλώνονται στις παραματικές ομάδες και τις ομάδες μαρτύρων. Λίγο πριν αρχίσει η δοκιμασία το τρίγωνο ψαλίδεται από την περιοχή της ραχίς του κορμού των πειραματοζώων. Μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθεί το ξύσμα για την απομάκρυνση του τριχώματος, αλλά αυτό πρέπει να γίνεται 24 ώρες πριν από τη δοκιμασία. Εκανάληξη του ψαλιδίσματος ή του ξυρίσματος χρειάζεται συνήθως κάθε εβδομάδα. Το κόψμα ή ψαλίδισμα πρέπει να γίνεται με προσοχή, ώστε να αποφευχθεί η απόξεση του δέρματος. Πρέπει να καθορίζεται μια περιοχή για την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας, η οποία δεν πρέπει να είναι μικρότερη από το 10 % της επιφάνειας του σώματος. Όταν αποφασίζονται οι διαστάσεις της περιοχής που πρέπει να καθοριστούν και να καλυφθεί με την ελεγχόμενη ουσία, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το βάρος του ζώου. Όταν ελεγχονται στερεά, τα οποία μπορούν να κολλοκολληθούν, πρέπει να υφαινονται αρκετά με τριβή ή αν τρωσάται με κατάλληλο φορέα, για να εξασφαλιστεί η καλή επαφή με το δέρμα. Οι υγρές ουσίες χρησιμοποιούνται συνήθως αδιάλυτες. Η εφαρμογή γίνεται καθημερινά 5 έως 7 ημέρες την εβδομάδα.

— είδος, φύλη, ηλικία, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή κλπ.

— παραματικές συνθήκες:

περιγραφή της συσκευής εκθέσεως που να περιλαμβάνει το σχήμα, τον τύπο, τις διαστάσεις, την πηγή αέρα, το σύστημα παραγωγής σωματιδίων και αερολυμάτων, τη μέθοδο ρυθμίσεως αέρα, την αγωγή του εξερχόμενου αέρα και τη μέθοδο εγκλωβισμού των ζώων σε περιματικό θάλαμο, εάν αυτός χρησιμοποιείται. Πρέπει να περιγραφεί η συσκευή για τη μέτρηση της θερμοκρασίας, της υγρασίας και της σταθερότητας των συγκεντρώσεων των αερολυμάτων ή του μεγέθους των σωματιδίων.

Δεδομένα εκθέσεως

Αυτά πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα και να παρουσιάζονται μαζί με τις μέσες τιμές και μετρήσεις του εύρους διασποράς (π.χ. σταθερά απόκλιση). Πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνουν:

- α) ταχύτητα αέρα διά της συσκευής ανακνευστικής εκθέσεως,
 - β) θερμοκρασία και υγρασία του αέρα,
 - γ) φαινόμενες συγκεντρώσεις (ολικό ποσό της ελεγχόμενης ουσίας που τροφοδοτεί τη συσκευή, διαιρεμένο διά του όγκου του αέρα),
 - δ) φύση φορέα, εάν χρησιμοποιείται,
 - ε) πραγματικές συγκεντρώσεις στην περιματική ανακνευστική ζώνη,
 - ζ) μέσο μέγεθος σωματιδίων (όταν είναι διαθέσιμο)
- δεδομένα τοξικών αντιδράσεων ανά φύλο και συγκέντρωση,
- χρόνο θανάτου κατά τη διάρκεια του πειράματος ή, εάν τα ζώα εκζέδον, στο τέλος της δοκιμασίας
- περιγραφή τοξικών ή άλλων επιδράσεων, δόσεις χωρίς επίδραση
- το χρόνο παρατηρήσεως κάθε ανάμειλου συμπτώματος και την εκατόλοση πορεία του
- δεδομένα βάρους τροφής και σώματος
- χρησιμοποιήσεις αιματολογικές δοκιμασίες και αποτελέσματα
- κλινικές βιοχημικές δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν και αποτελέσματα
- αποτελέσματα νεκροψίας
- μια λεπτομερή περιγραφή όλων των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων που βρέθηκαν
- μια στατιστική εξέταση των αποτελεσμάτων, όταν αυτό είναι δυνατό
- σύζηση των αποτελεσμάτων
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

Διαδικασία

Τα ζώα πρέπει να εγκλωβίζονται ανά άτομο. Η εκτέλεση στα ζώα με την ελεγχόμενη ουσία γίνεται, στην πιο ιδανική περίπτωση, 7 ημέρες την εβδομάδα, για μια περίοδο 28 ημερών. Τα ζώα κάθε δοκιμαστικής ομάδας που προγραμματίστηκαν για συνεχείς παρατηρήσεις πρέπει να διατηρηθούν για 14 επιπλέον ημέρες χωρίς εκτέλεση, για να εξακριβωθεί η ανάρρωση από τις τοξικές επιδράσεις ή η εμμονή τους. Ο χρόνος εκθέσεως πρέπει να είναι τουλάχιστον 6 ώρες την ημέρα.

Η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να εφαρμόζεται ομοιόμορφα σε μια έκταση, η οποία είναι τουλάχιστον το 10 % της όλης επιφάνειας του σώματος. Με πολύ τοξικές ουσίες ή καλυπτόμενη επιφάνεια... ορεί να είναι μικρότερη, αλλά όσο γίνεται περισσότερο από την επιφάνεια πρέπει να καλύπτεται με μια λεπτή και ομοιόμορφη στρώση ουσίας.

Η ελεγχόμενη ουσία, κρατείται σ' επαφή με το δέρμα κατά τη διάρκεια της εκθέσεως, με τη βοήθεια εκθέσεων από κορώδη γάβα και μιας μη ερεθιστικής τοιγιάς. Η δοκιμαζόμενη περιοχή πρέπει, επιπλέον, να καλύπτεται κατάλληλα, ώστε να συγκρατείται ο εκθέσιμος και η ελεγχόμενη ουσία και έτσι να εξασφαλίζεται η μη κατάποση της από τα πειραματόζωα. Για να αποφευχθεί η κατάποση της ελεγχόμενης ουσίας, μπορεί να χρησιμοποιούνται επίσης συσκευές περιορισμού των ζώων, αλλά δεν συνιστάται η μέθοδος της απόλυτης ακινησίας.

Η ουσία που μένει στο υπόλειμμα, στο τέλος της περιόδου εκθέσεως, θα πρέπει να απομακρύνεται όταν αυτό είναι πραγματοποιήσιμο με νερό ή άλλη κατάλληλη μέθοδο καθαρισμού του δέρματος.

Όλα τα πειραματόζωα πρέπει να εξετάζονται καθημερινά και να καταγράφονται τα τοξικά συμπτώματα, ο χρόνος ενθάρτυσης τους, ο βαθμός και η διάρκεια τους. Οι παρατηρήσεις πρέπει να περιλαμβάνουν αλλοιώσεις του δέρματος και του τραχήλου, των σφραγισμών και των βλενογόνων, όπως επίσης του αναπνευστικού, κυκλοφορικού, αυτόνομου και κεντρικού νευρικού συστήματος, της ωματοκινητικής δραστηριότητας και του τρόπου συμπεριφοράς. Πρέπει, επίσης, να γίνουν μετρήσεις της καταναλώσεως τροφής και του βάρους των ζώων μια φορά την εβδομάδα. Η κανονική παρατήρηση των ζώων είναι απαραίτητη για να εξασφαλίζεται ότι δεν υπάρχει απώλεια πειραματόζων εξαιτίας καννιβαλισμού, αυτοφαγίας των ιστών, ή κακής στεγνώσεως. Στο τέλος της πειραματικής περιόδου, όλα τα εκζέοντα ζώα στις μη δοκιμαστικές ομάδες νεκροτομούνται. Τα ημιθανή ζώα πρέπει να νεκροτομούνται μόλις παρατηρηθούν.

Οι παρακάτω εξετάσεις θα πρέπει να γίνουν στο τέλος του πειράματος σε όλα τα ζώα, των μαρτύρων συμπεριλαμβανομένων:

1. αιματολογικές που να περιλαμβάνουν τουλάχιστον μετρήσεις αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης, μετρήσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων, λευκών και λευκοκυτταρικού τύπου, και μια μέτρηση του δοναμικού pH ζωής
2. κλινικές βιοχημικές μετρήσεις του αίματος που περιλαμβάνουν τουλάχιστον μια παράμετρο της λειτουργίας του ήπατος και των νεφρών: αλβανό αιμοτρανεφεράση του ορού (αρχικά γνωστή σαν γλουταμίνη-πυροσταφυλική trans-αμινάση του ορού), ασταρτική αμινοτρανεφεράση του ορού (αρχικά γνωστή σαν γλουταμινική οξελοαδική trans-αμινάση του ορού), άζωτο ουρίας, αλβουμίνη, κρεατινίνη αίματος, ολική χοληστερίνη και ολικές πρωτεΐνες του ορού.

Άλλοι προδιορισμοί, οι οποίοι μπορεί να είναι αναγκαίοι για την τοξικολογική αξιολόγηση, περιλαμβάνουν το σπλήνα, φασφάρο, γλώριο, νάτριο, κάλιο, δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη, ανάλυση λιπιδίων, ορμονών, οξείδιαστική ισορροπία, μεβαμοσφαιρίνη και δραστηριότητα ζολινεστεράσης.

Μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθούν και άλλοι βιοχημικοί προδιορισμοί για την εκτέλεση της έρευνας των παρατηρηθέντων επιδράσεων.

1.6.3.

Πειραματικές συνθήκες

1.6.2.1. Πειραματόζωα

Ο ενήλικος εφίμνος, το ινδικό χοιρίδιο ή το κουνέλι μπορεί να χρησιμοποιούνται. Άλλα είδη, επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθούν, αλλά η χρήση τους θα πρέπει να δικαιολογηθεί. Κατά την έναρξη της δοκιμασίας το εύρος της διαφοράς του βάρους πρέπει να μην υπερβαίνει το 20 % του μέσου βάρους.

1.6.2.2. Αριθμός και φύλο

Σε κάθε επίκεδο δόσεων πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον 10 ζώα (5 θηλυκά και 5 αρσενικά) με υψηλό δείγμα. Τα θηλυκά πρέπει να είναι άτοκα και να μη βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Εάν έχουν προγραμματιστεί ενδιάμεσες θανατώσεις ζώων, τότε ο αριθμός των ζώων ανά ομάδα πρέπει να αυξηθεί με τον αριθμό των ζώων που είναι προγραμματισμένο να θανατωθούν πριν από τη συμπλήρωση της μελέτης. Επιπλέον, μια δοκιμαστική ομάδα από 10 ζώα (5 ζώα ανά φύλο) μπορεί να δηλητηριαστούν με την υψηλότερη δόση για 28 ημέρες και να εξετάζονται για επαναφορά, εμμονή ή την αργότερη εμφάνιση των τοξικών επιδράσεων για ένα χρονικό διάστημα 14 ημερών μετά το πέρας της δηλητηρίασης.

1.6.2.3. Επίκεδο δόσεων

Απαιτούνται τουλάχιστον τρία επίκεδο δόσεων και ένας μάρτυρας ή ένας ελεγχόμενος του φορέα, αν χρησιμοποιείται φορέας. Η περίοδος εκθέσεως πρέπει να είναι τουλάχιστον 6 ώρες την ημέρα. Η εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει να γίνεται την ίδια ώρα κάθε ημέρα και να προσαρμόζεται κατά διαστήματα (ανά εβδομάδα ή ανά δύο εβδομάδες), έτσι ώστε να διατηρείται ένα σταθερό επίπεδο δόσεων σε σχέση με τον βρόχο του σώματος των ζώων. Τα ζώα στην ομάδα του μάρτυρα πρέπει να υπόκεινται στην ίδια μεταχείριση με τα πειραματόζωα, εξαιρουμένης της χορήγησης της ελεγχόμενης ουσίας. Όταν χρησιμοποιείται φορέας για διευκόλυνση χορήγησης της δόσεως, η ομάδα του μάρτυρα πρέπει να παίρνει τη δόση κατά τον ίδιο τρόπο με την ομάδα των πειραματόζων και η ποσότητα της δόσεως να είναι ίδια με την υψηλότερη δόση που παίρνουν τα πειραματόζωα. Η υψηλότερη δόση θα πρέπει να προκαλεί τοξικές επιδράσεις, αλλά λίγους ή καθόλου θανάτους. Η χαμηλότερη δόση δεν θα πρέπει να προκαλεί συμπτώματα τοξικότητας. Όταν υπάρχει μια εύχρηστη εκτίμηση της ανθεκτικότητας εκθέσεως, η χαμηλότερη δόση θα πρέπει να την υπερβαίνει. Η ενδιάμεση δόση, στην πιο ιδανική περίπτωση, θα πρέπει να προκαλεί ελαφρώς ευδιάκριτα τοξικά συμπτώματα. Εάν χρησιμοποιούνται περισσότερες από μία ενδιάμεσες δόσεις, τότε αυτές πρέπει να αεχθούν έτσι μεταξύ τους ώστε να προκαλούν διαβαθμιζόμενες τοξικές επιδράσεις. Στη χαμηλή και στις ενδιάμεσες ομάδες, όπως και στους μάρτυρες, η συντόνιση των θανάτων θα πρέπει να είναι χαμηλή, ώστε να επιτρέψει μια χρήση αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Εάν η εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας προκαλεί σοβαρό δερματικό ερέθισμό, η συγκέντρωση θα πρέπει να ελαττωθεί και αυτό μπορεί να ελαττώσει ή να εξαφανίσει τις άλλες τοξικές επιδράσεις στην υψηλότερη δόση. Επιπλέον, αν το δέρμα έχει υποστεί σοβαρή βλάβη, είναι δυνατόν να χρειαστεί να ακυρωθεί η μελέτη και να επιτευχθεί ένα νέο πείραμα με χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

1.6.2.4. Οπτική δοκιμασία

Αν μια προκαταρκτική μελέτη με μια δόση 1 000 mg/kg ή και μεγαλύτερη, σχετική με το πιθανό όριο εκθέσεως του ανθρώπινου πληθυσμού, όταν αυτό είναι γνωστό, δεν προκαλεί καμία τοξική επίδραση, ο περαιτέρω πειραματισμός μπορεί να μη θεωρηθεί αναγκαίος.

1.6.2.5. Περίοδος παρατηρήσεως

Τα πειραματόζωα πρέπει να παρατηρούνται καθημερινά για φαινόμενα τοξικότητας. Ο χρόνος θανάτου και ο χρόνος κατά τον οποίο εμφανίζονται και εξαφανίζονται τα τοξικά συμπτώματα πρέπει να καταγράφονται.

1.6.4. *Μακροσκοπική νεκροψία*

Όλα τα ζώα της μελέτης πρέπει να υποβληθούν σε μια πλήρη μακροσκοπική νεκροψία. Το ήπαρ, οι νεφροί, τα επινεφρίδια και οι όρχεις πρέπει να ζυγιστούν χωρά, όσο το δυνατόν προτιμότερα μετά την αναισθησία για την αποφυγή αποξήρανσας. Τα όργανα και οι ιστοί των δηλητηριασμένων και μη ζώων, το δέρμα, το ήπαρ, οι νεφροί και άλλα στοζούμενα όργανα (δηλαδή εκείνα που εμφανισαν μακροσκοπικές αλλοιώσεις ή άλλων τύπων) θα πρέπει να διατηρούνται σ' ένα κατάλληλο μέσο για την πιθανή, μελλοντική ιστοπαθολογική εξέταση.

1.6.5. *Ιστοπαθολογική εξέταση*

Η ιστοπαθολογική εξέταση πρέπει να γίνεται στα διατηρηθέντα όργανα των ζώων της ομάδας της υψηλότερης δόσας και οι ιστοί που περιλαμβάνουν ανωμαλίες, που μπορεί να αποδοθούν στην ελεγχόμενη ουσία, στην υψηλότερη δόση, πρέπει να εξετάζονται και στις χαμηλότερες δόσεις. Τα ζώα της δοσοφορητικής ομάδας πρέπει να εξετάζονται ιστολογικά με ιδιαίτερη έμφαση για εκείνα τα όργανα που διακρίστηκαν ότι δείχνουν ανωμαλίες στις άλλες ομάδες.

2. ΔΕΛΤΩΜΕΝΑ .

Τα δεδομένα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, στον οποίο να φαίνεται, για κάθε πειραματική ομάδα, ο αριθμός των ζώων που εμφανίζουν κάθε τύπο αλλοιώσεως.

Όλα τα παρατηρούμενα αποτελέσματα πρέπει να αξιολογούνται με μια κατάλληλη στατιστική μέθοδο. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αναγνωρισμένη στατιστική μέθοδος.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- Δεδομένα ζώων (είδος, φύλη, πηγή, συνθήκες περιβάλλοντος, διατροφή, κλπ.),
- πειραματικές συνθήκες,
- επίπεδα δόσεων (συμπεριλαμβανομένου του φορέα, αν χρησιμοποιείται) και συγκεντρώσεις,
- μη τοξικά επίπεδα, όταν είναι δυνατόν,
- δεδομένα τοξικών αντιδράσεων ανά δόση και φύλο,
- χρόνο θανάτου των ζώων κατά τη διάρκεια της μελέτης ή αν τα ζώα επιζών έως το τέλος,
- τοξικές ή άλλες επιδράσεις,
- το χρόνο που παρατηρήθηκε κάθε ανωμαλία και τη διαδοχική πορεία τους,
- δεδομένα βάρους σώματος και καταναλώσεως τροφής,
- αιματολογικές δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν και αποτελέσματα,
- κλινικές βιοχημικές δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν και αποτελέσματα,
- ευρήματα νεκροψίας,
- λεπτομερή περιγραφή όλων των ιστοπαθολογικών ευρημάτων,
- στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, όταν αυτό είναι δυνατόν,
- συζήτηση των αποτελεσμάτων,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

4. Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

Β. 10. ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ — ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗ

ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ IN VITRO

ΜΕΘΟΔΟΣ

Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

Όργανο

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

Ουσίες αναφορές

Καμία.

Αρχή της μεθόδου

Η in vitro κυτταρογενετική δοκιμασία είναι μια βραχείας διάρκειας δοκιμασία μεταλλαζογένεσης για τη διαπίστωση δομικών τρομοσωμικών ανωμαλιών σε καλλιεργημένα κύτταρα θηλαστικών. Χρησιμοποιούνται καλλιέργειες καθορισμένων κυτταρικών σειρών όπως και πρωτογενείς καλλιέργειες κυττάρων. Μετά από έκθεση στην ελεγχόμενη ουσία με και χωρίς μέγιστη ενεργοποίηση των ενζύμων του ήπατος (ένος συνεπώς παράγον με συμπλήρωμα με το μετα-μιτοχονδριακό κλάσμα), στις καλλιέργειες κυττάρων προστίθενται παραμυδοατίες της μιτωτικής απρέκτου, όπως η κολλικίνη ή κολλομίνη με σκοπό την ανασύσταση κυττάρων που βρίσκονται στο στάδιο της μετάφασης κατά τη μίκωση (c-μετάφαση). Τα κύτταρα συλλέγονται σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα και ετοιμάζονται τρομοσωμικά παρασκευάσματα. Στη συνέχεια γίνεται η γρήση των παρασκευασμάτων και τα κύτταρα, στο στάδιο της μίτωσης, αναλύονται για τη διακρίση τρομοσωμικών ανωμαλιών.

Κριτήρια ποιότητας

Καθένα.

Περιγραφή της μεθόδου

Προτοιμασίες

Οι ελεγχόμενες ουσίες παρασκευάζονται, στο μέσο καλλιέργειας ή διαλύονται σε κατάλληλο φορέα πριν από την εκέμβαση στα κύτταρα. Χρησιμοποιούνται καθορισμένες κυτταρικές σειρές ή πρωτογενείς καλλιέργειες κυττάρων, π.χ. κύτταρα κνήκων χάμετρος και λεμφοκύτταρα ανθρώπου.

Πειραματικές συνθήκες

Αριθμός καλλιερπειών

Χρησιμοποιούνται τουλάχιστον δύο καλλιέργειες για κάθε πειραματικό σημείο.

Χρήση αρνητικού και θετικού μέρους

Σαν αρνητικό μέρος χρησιμοποιούνται ο διαλύτης (όταν ο διαλύτης δεν είναι το θετικό υλικό ή νερό), το μέγμα ενεργοποιησών πρακτικών ενζύμων, ο διαλύτης και οι μη καταγεγραμμένοι μάρτυρες.

Σε κάθε πέλασμα περιλαμβάνεται και ένας θετικός μάρτυρας. Όπου χρησιμοποιείται μέγμα ενεργοποιησών των πρακτικών ενζύμων για να ενεργοποιηθεί η ελεγχόμενη ουσία, ένα πρόβον γνωστό ότι χρειάζεται μεταβολική ενεργοποίηση πρέπει να χρησιμοποιείται σαν θετικός μάρτυρας.

Επίπεδα δόσεων

Χρησιμοποιούνται τουλάχιστον τρεις δόσεις της ελεγχόμενης ουσίας σε κλίμακα λογαριθμική ή υψηλότερη δόση πρέπει να μειώνει τη μιτωτική δράση κατά 50 % περίπου.

Συνθήκες καλλιέργειας

Χρησιμοποιούνται κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας, κατάλληλο θετικό υλικό και εκκαστικές συνθήκες (δηλαδή θερμοκρασία, χρησιμοποιούμενα σκεύη καλλιέργειας, συγκεντρώσεις CO₂ και υγρασία).

1.6.3.

Διαδικασία

1.6.3.1.

Παρασκευή καλλιτεργειών

Καθορισμένες κυτταρικές σαφές: τα κύτταρα παράγονται από παρακαταθήκες καλλιτεργιών (π.χ. με εκέφραση με τρυπήτη ή με τινάγνια), τοποθετούνται σε δοχεία καλλιέργειας στην κατάλληλη πυκνότητα και εκκάζονται στους 37 °C.

Λεμφοκύτταρα ανθρώπου: ολόκληρο το αίμα, μετά από προώθητη παραγωγή, προστίθεται στο θετικό υλικό που κερνάζει φωτοσυνθλιπτική, ορό εμβρίου βόδις και αντιβιοτικά και εκκάζεται στους 37 °C.

1.6.3.2.

Επέμβαση στις καλλιέργειες με την ελεγχόμενη ουσία

i) Επέμβαση χωρίς προώθητη μείγματος ενεργοποιησών των πρακτικών ενζύμων

Όλες οι επεμβάσεις πρέπει να καλύπτουν την περίοδο ενός ολόκληρου κυτταρικού κύκλου και το σήμα προηλώσεως πρέπει να εξασφαλίσει την ανάλυση των πρώτων μιτώσεων μετά την επέμβαση σε κύτταρα που βρίσκονται σε διάφορα στάδια του κύκλου.

Εάν η επέμβαση δεν καλύπτει το μήκος ενός κυτταρικού κύκλου, εκλύονται διάφοροι χρόνοι προηλώσεως για τα κύτταρα που βρίσκονται σε διάφορα στάδια του κυτταρικού κύκλου κατά την επέμβαση, δηλαδή O₁, S και G₂.

Η ελεγχόμενη ουσία προστίθεται στις καλλιέργειες των καθορισμένων κυτταρικών σειρών, όταν βρίσκονται σε εκθετική ανάπτυξη. Η επέμβαση στις καλλιέργειες λεμφοκυττάρων γίνεται όταν αυτά είναι ακόμη σε μια ημισύγχρονη κατάσταση.

Εάν η ελεγχόμενη ουσία αλλοιώνει το μήκος του κυτταρικού κύκλου, τα χρονικά διαστήματα προηλώσεως πρέπει να αλλάζουν ανάλογα.

ii) Επέμβαση με προώθητη μείγματος ενεργοποιησών πρακτικών ενζύμων

Κατά την επέμβαση, η ελεγχόμενη ουσία σε συνδυασμό με το μέγμα ενεργοποιησών πρέπει να παραμείνει όσο το δυνατό περισσότερο, χωρίς όμως να ασκεί τοξική επίδραση στα κύτταρα. Αν, εξαιτίας μιας τοξικότητας, η επέμβαση αυτή δεν καλύπτει το μήκος ενός πλήρους κυτταρικού κύκλου, εκλύονται κολληικοί χρόνοι προηλώσεως, ώστε να ληφθούν τα κύτταρα που βρίσκονται σε διαφορετικά στάδια του κυτταρικού κύκλου κατά την επέμβαση, δηλαδή O₁, S και G₂.

Συλλογή κυττάρων

Μία έως δύο ώρες πριν από τη συλλογή των κυττάρων γίνεται επέμβαση στις καλλιέργειες με

παραμοδιότη της μιτωτικής ατράκτου. Τα κύτταρα κάθε καλλιέργειας συλλέγονται και εκεφρίζονται χωριστά για την πραγματοποίηση των χρωμοσωμικών παρασκευασμάτων.

1.6.3.3.

Χρωμοσωμικά παρασκευάσματα

Η παρασκευή των χρωμοσωμικών περιλαμβάνει επέμβαση στα κύτταρα με υποτονικό διάλυμα, προώθηση, επίθεση σε αντικιμενοφόρους πλάκες και χρώση.

Ανάλυση

Τουλάχιστον 100 κολοφτυγμένα παρασκευάσματα μεταφάσεων ανά καλλιέργεια αναλύονται για τη διαπίστωση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Πριν από την ανάλυση γίνεται κωδικοποίηση των αντικιμενοφόρων.

Στα λεμφοκύτταρα του ανθρώπου αναλύονται μόνον εκείνες οι μεταφάσεις που περιέχουν 46 κεντρομερίδια.

Στις καθορισμένες κυτταρικές σειρές αναλύονται μόνον οι μεταφάσεις που περιέχουν ± 2 κεντρομερίδια του υπολογισθέντος αριθμού.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα παρουσιάζονται υπό μορφή πίνακα. Οι ανωμαλίες τύπου χρωματίδης (κενά, θραύσματα, αμοφικές μετατοπίσεις), οι ανωμαλίες τύπου χρωμοσώμων (κενά, θραύσματα, πινιπεί, δικεντρικοί και πολυκεντρικοί δακτύλιοι) και ο αριθμός των ανωμαλιών μεταφάσεων (με ή χωρίς κενά) κατατάσσονται χωριστά για όλες τις καλλιέργειες με ελεγχόμενη ουσία και τους μάρτυρες.

Τα δεδομένα αξιολογούνται με κατάλληλη στατιστική μέθοδο.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

— χρησιμοποιηθέντα κύτταρα,

— περιστατικές συνθήκες: σύνθεση θετικού υλικού, συγκέντρωση CO₂, θερμοκρασία εκκόσωσης, διάρκεια εκκόσωσης, επίπεδα δόσεων, χρόνο εκεμβάσεως, διάρκεια επεμβάσεως, με περιεκτικότητα του μιτωτικού δικτύου καθώς και η χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση αυτού, τύπο μείγματος ενεργοποιησών πρακτικών ενζύμων, θετικός και αρνητικός μάρτυρας,

— αριθμό κυτταρικών καλλιτεργιών,

— αριθμό αναλυθέντων μεταφάσεων (τα δεδομένα χωριστά για κάθε καλλιέργεια).

— μιτωτικό δείκτη.

— τόλο και αριθμό ανωμαλιών χωριστά για κάθε καλλιέργεια με επέμβαση και των μαρτύρων, τον αναμενόμενο αριθμό χρωμοσωμικών ανωμαλιών στις καθορισμένες σειρές κυττάρων,

— στατιστική αξιολόγηση,

— σύζηση των αποτελεσμάτων,

— ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

1.6.1.	<p>Προετοιμασίες</p> <p>Οι υπό έλεγχο ουσίες διαλύονται σε φυσιολογικό ορό. Αν είναι αδύνατες σ' αυτόν, διαλύονται ή αιωρούνται σε κατάλληλους φορείς.</p> <p>Χρησιμοποιούνται πρόσφατες διαλύσεις της ελεγχόμενης ουσίας. Εάν χρησιμοποιείται κάποιος φορέας για να διαλυθούν ή χορηγηθεί, δεν πρέπει να παρεμποδίζει τη δράση της ελεγχόμενης ουσίας ή να προκαλεί τοξικές επιδράσεις.</p>
1.6.2.	<p>Πειραματικές συνθήκες</p>
1.6.2.1.	<p>Πειραματόζωα</p> <p>Χρησιμοποιούνται διάφορα είδη τρωκτικών, όπως επίμας, μύες και χήμια. Υγιή νεαρά ενήλικα ζώα λαμβάνονται με τυχαίοτητα και κατανέμονται στις διάφορες ομάδες επιβίωσης και μαρτύρων.</p>
1.6.2.2.	<p>Αριθμός και φύλο</p> <p>Χρησιμοποιούνται κέντε (5) τουλάχιστον θηλυκά και κέντε (5) αρσενικά ζώα ανά ομάδα επιβίωσης και ομάδα μάρτυρα. Έτσι, θανατώνονται 10 ζώα ανά χρονική περίοδο και ανά ομάδα, αν έχουν προγραμματιστεί διάφοροι πειραματικοί χρόνοι μετά την επέμβαση.</p>
1.6.2.3.	<p>Οδός χορήγησης</p> <p>Οι ελεγχόμενες ουσίες πρέπει γενικά να χορηγούνται εφ'εξής. Εκνευρισμένες χορηγήσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν αν υπάρχουν βιολογικά στοιχεία που να το υποδεικνύουν. Εντούτοις, ένα πρόγραμμα με εκνευρισμένες χορηγήσεις μπορεί να εφαρμοστεί μόνο αν η ελεγχόμενη ουσία δεν προκαλεί κυτταροτοξικές επιδράσεις στο μυελό των οστών. Οι συνήθεις οδοί χορήγησης είναι η από στόματος και η ενδοκερτιοναϊκή. Άλλες ειδικές οδοί χορήγησης μπορεί να είναι κατάλληλες.</p>
1.6.2.4.	<p>Χρησιμοποίηση θετικών και αρνητικών μαρτύρων</p> <p>Μια ουσία, γνωστή ότι προκαλεί in vivo χρωμοσωμικές ανωμαλίες, χρησιμοποιείται σαν θετικός μάρτυρας και ένας αρνητικός με το διαλυτή μάρτυρας περιλαμβάνεται, επίσης, στο σκεύασμό κάθε πειράματος.</p>
1.6.2.5.	<p>Επίκτατα δόσεων</p> <p>Μια δόση της ελεγχόμενης ουσίας χρησιμοποιείται για το βασικό επίκεδο, η οποία πρέπει να είναι η μέγιστη ανεκτή δόση ή αυτή που δίνει κάποια ένδειξη κυτταροτοξικότητας, δηλαδή μερική ανώμαλη της μίτωσης.</p> <p>Όπου για επασημονικούς λόγους ενδείκνυται, μπορεί να χρησιμοποιηθούν επιπλέον επίκτατα δόσεων.</p> <p>Εάν η δοκιμασία χρησιμεύει σαν μέθοδος εκαληθείσας, δύο τουλάχιστον επιπλέον επίκτατα δόσεων πρέπει να χρησιμοποιηθούν.</p>
1.6.3.	<p>Διαδικασία</p>

3.2.	<p>Αξιολόγηση και έριμεια</p> <p>Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).</p>
4.	<p>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</p> <p>Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).</p>
<p>Β. 11. ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ — ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ</p>	
<p>IN VIVO ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΣΕ ΜΥΕΛΟ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ — ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</p>	
1.	<p>ΜΕΘΟΔΟΣ</p>
1.1.	<p>Εισαγωγή</p> <p>Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).</p>
1.2.	<p>Όργανοι</p> <p>Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).</p>
1.3.	<p>Ουσίες αναφοράς</p> <p>Καμία.</p>
1.4.	<p>Αρχή της μεθόδου</p> <p>Η in vivo κυτταρογενετική αυτή δοκιμασία είναι βραχείας διάρκειας δοκιμασία μεταλλαξογένεσης για τη διαπίστωση των ανωμαλιών στη δομή των χρωμοσωμάτων. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αιτιολογούνται εν γένει στην πρώτη μετά τη δηλητηρίαση μίτωση. Με τα χημικά μεταλλαζογόνα η κλεισιότητα των προκαλασμένων ανωμαλιών είναι τύπου χρωματίδης.</p> <p>Η μέθοδος χρησιμοποιεί κύτταρα του μυελού των οστών θηλαστικών, τα οποία έχουν εκτεθεί στις ελεγχόμενες ουσίες διά μέσου της κατάλληλης οδού και θανατώθηκαν σε διαδοχικά χρονικά διαστήματα. Στα ζώα χορηγείται επιπλέον, πριν από τη θανάτωση, η παρεμποδιστική της μιτωτικής ατράκτου ουσία, όπως η κολμικίνη, με σκοπό τη συγκέντρωση κυττάρων που βρίσκονται σε κάποιο στάδιο μεταφάσεως της μίτωσης (μετάφαση-ϕ). Επιραμένα στον αέρα χρωμοσωμικά παρασκευάσματα χρωματίζονται και οι μεταφάσεις αναλύονται στο μικροσκόπιο για τη διαπίστωση χρωμοσωμικών ανωμαλιών.</p>
1.5.	<p>Κριτήρια ποιότητας</p> <p>Καίνα.</p>
1.6.	<p>Περιγραφή της μεθόδου</p>

Η δοκιμασία μπορεί να εκτελεστεί με δύο τρόπους:

- i) τα ζώα δηλητηριάζονται εφάπαξ με την ελεγχόμενη ουσία, στη μέγιστη ανεκτή δόση. Δείγματα λαμβάνονται τρεις φορές μετά τη δηλητηρίαση. Το χρονικό διάστημα της κεντρικής δηλητηρίασης είναι 24 ώρες. Εφόσον η κινητική του κυτταρικού κύκλου μπορεί να επηρεαστεί από τη χημική δοκιμασία, εφαρμόζονται μία δειγματοληψία νωρίτερα και μία αργότερα, κατάλληλα καταγεγραμμένες μέσα στα όρια των 6 έως 48 ωρών.

Αν χρησιμοποιούνται επάλειψες, πρέπει να λαμβάνονται δείγματα στα ιδιαίτερος ευαίσθητα χρονικά διαστήματα ή, όταν αυτά δεν είναι γνωστά, 24 ώρες μετά τη δηλητηρίαση

- ii) εάν πληροφόρες, που αφορούν το μεταβολισμό και την κινητική του φαρμάκου υποδεικνύουν ένα πρόγραμμα επανειλημμένων χορηγήσεων, τότε επανειλημμένες χορηγήσεις μπορεί να χρησιμοποιηθούν και δείγματα πρέπει να λαμβάνονται 6 και 24 ώρες μετά την τελευταία χορήγηση.

Παρασκευάσματα μυελού οστών

Πριν από τη θανάτωση, χορηγείται στα ζώα ενδοκερτοναϊκώς κατάλληλη δόση του παρεμποδιστή της μιτωτικής απρακτου για τη λήψη ικανού αριθμού κυττάρων στην κατάσταση της ε-μεταφάσεως. Ο μυελός των οστών λαμβάνεται από τα δύο μισαία οστά μόλις θανατωθέντων ζώων, με τη βοήθεια ιστονικού διαλύματος. Μετά από κατάλληλη επεξεργασία με υποτονικό διάλυμα, τα κύτταρα προσλαμβάνονται και αναλώνονται σε αντικειμενοφόρους κλάδες. Μετά την ξήρανση, τα παρασκευάσματα χρωματίζονται.

Ανάλυση

Πριν από τη μικροσκοπική ανάλυση, οι αντικειμενοφόροι κλάδες κωδικοποιούνται. Αναλύονται τουλάχιστον 50 καλά παρασκευάσματα μεταφάσεων με τον πλήρη αριθμό κεντρομερών, για τη διακρίσιση χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Επιπλέον, για κάθε ζώο μπορεί να προσδιορίζονται οι μιτωτικο δείκτες.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα παρουσιάζονται υπό μορφή πίνακα. Ανωμαλίες τύπου χρωματίδης και ιστροματίδης (γεννά, θραύσματα, αμοιβαίες μεταποσίες) και ο αριθμός των ανωμόλων μεταφάσεων (περιλαμβανομένων και μη των κενών) και οι μιτωτικο δείκτες, όταν προσδιορίζονται, παρατίθενται χωριστά για όλα τα δηλητηριασμένα και μη ζώα. Παρατίθενται, επίσης, οι μείοι όροι και οι σταθερές αποκλίσεις για κάθε περιματιική ομάδα και ομάδα μαρτύρων. Τα δεδομένα αξιολογούνται με την κατάλληλη στατιστική μέθοδο.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- είδος και φύλη των χρησιμοποιηθέντων ζώων: ηλικία των ζώων,
- αριθμό ζώων, για κάθε φύλο στις κεραματικές ομάδες και ομάδες μαρτύρων,
- κεραματικές συνθήκες: λεπτομερή περιγραφή της δηλητηρίασης και του προγράμματος δειγματοληψίας, επίθετα δόσεων, διάρκεια δηλητηρίασής και συγκέντρωση του χρησιμοποιημένου παρεμποδιστή της μιτωτικής απρακτου,
- αριθμό αναλυθασών μεταφάσεων ανά ζώο,
- μιτωτικούς δείκτες, όταν προσδιορίζονται,
- αριθμό και τύπο ανωμαλιών, χωριστά για κάθε δηλητηριασμένο ή όχι ζώο,
- στατιστική αξιολόγηση,

- αύξηση των αποτελεσμάτων,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2.

Αξιολόγηση και ερμηνεία

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

B. 12. ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ — ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗ

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΜΙΚΡΟΠΥΡΗΝΑ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

1.2. Όρισμοι

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Καμία.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Η δοκιμασία του μικροπυρήνα είναι μια in vivo δοκιμασία στα θερμόαιμα, μικρής διάρκειας, η οποία γίνεται για την εξεμφερωμένη ή μιτωτικών ανωμαλιών, που προσκλήθηκαν από χημικές ουσίες. Η δοκιμασία αυτή βασίζεται σε μία αύξηση του αριθμού των μικροπυρήνων στα κολυρωματικά ερυθροκύτταρα των δηλητηριασμένων ζώων, σχετικά με το μέγεθος.

Ο μικροί πυρήνες σχηματίζονται από κλάσματα ή από ολόκληρα προμοσώματα που μελώνονται κατά τη μίτωση. Όταν οι ερυθροβλάστες αναπτύσσονται, ο κύριος πυρήνας εξωθείται, ενώ ο μικροπυρήνας μπορεί να παραμείνει στο κυτταρόπλασμα. Νεαρά κολυρωματικά ερυθροκύτταρα του μυελού των οστών των παραμυετωζών, που έχουν εκτεθεί στην ελεγχόμενη ουσία με κατάλληλη μέθοδο, χρησιμοποιούνται σ' αυτή τη δοκιμασία. Ο μυελός των οστών εξάγεται, γίνεται επίπρωμα σε αντικειμενοφόρους κλάδες και χρωματίζονται. Τα κολυρωματικά ερυθροκύτταρα εξετάζονται ως προς τα μικροπύρηνια με μικροσκόπιο και γίνεται ο υπολογισμός του λόγου κολυρωματικών προς τα ορθοπρωματικά ερυθροκύτταρα.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Καμία.

- 1.6. Πιεγραφή της μεθόδου
- 1.6.1. Προετοιμασίες
- Οι ελεγχόμενες ουσίες διαλύονται σε ισοτονικό διάλυμα. Εφόσον δεν διαλύονται σ' αυτόν, διαλύονται ή γίνονται αιωρήματα σε κατάλληλους φορείς. Εάν χρησιμοποιηθεί φορέας, αυτός δεν πρέπει να εκπέμπει τις ελεγχόμενες ουσίες ή να προκαλεί τοξικότητα. Συνήθως, χρησιμοποιούνται διαλύματα της ελεγχόμενης ουσίας πρόσφατα παρασκευασμένα.
- 1.6.2. Περιστατικές συνθήκες
- 1.6.2.1. Πειραματόζωα
- Συνιστώνται οι μύες, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν κι άλλα ζώα. Λαμβάνονται με τυχαίοποίηση νεαρά υγιή ενήλικα ζώα και κατανέμονται στις ομάδες δηλητηριάσεως και του μάρτυρα.
- 1.6.2.2. Αριθμός και φύλο
- Χρησιμοποιούνται τουλάχιστον πέντε (5) θηλυκά και πέντε (5) αρσενικά ζώα κατά περιστατική ομάδα και μέγιστη.
- 1.6.2.3. Έτσι, 10 ζώα θα θανατωθούν ανά χρονική περίοδο και ομάδα, εάν έχουν προγραμματιστεί διαφορετικές χρονικές περιόδους μετά τη χορήγηση.
- 1.6.2.4. Οδός χορήγησης
- Γενικά οι ελεγχόμενες ουσίες πρέπει να χορηγούνται μόνοι έφθασι. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και επανειλημμένες χορηγήσεις, εφόσον υπάρξουν τοξικολογικές πληροφορίες. Όμως, ο προγραμματισμός επανειλημμένων χορηγήσεων μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνον όταν η ελεγχόμενη ουσία δεν προκαλεί κυτταροτοξικές επιδράσεις στο μυελό των οστών. Οι συνθημμένες οδοί χορηγήσεως είναι από στόματος και ενδοπεριτοναϊκή. Και άλλες οδοί χορηγήσεως μπορεί να είναι κατάλληλες.
- 1.6.2.4. Χρησιμοποίηση θετικών και αρνητικών μαρτύρων
- Σε κάθε πείραμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν θετικοί και αρνητικοί (διάλυμα) μάρτυρες.
- 1.6.2.5. Επίκεδα δόσεων
- Για τη βασική σειρά, χρησιμοποιείται μία δόση της ελεγχόμενης ουσίας, σαν η μέγιστη ανεκτή δόση ή η δόση που προκαλεί ενδείξεις κυτταροτοξικότητας, π.χ. μία ελλαγή του λόγου των πολυρωματικών ερυθροκυττάρων προς τα ορθορωματικά.
- Όταν για επιστημονικούς λόγους ενδείκνυται, μπορεί να χρησιμοποιηθούν και επιπλέον επίκεδα δόσεων.
- Εάν η δοκιμασία χρησιμοποιεί σαν μέθοδο εκληθήςσεως, δύο τουλάχιστον επιπλέον επίκεδα δόσεων πρέπει να χρησιμοποιηθούν.
- 1.6.3. Διαδικασία
- Το πείραμα μπορεί να εκτελεστεί κατά δύο τρόπους:
- ι) τα ζώα δηλητηριάζονται με μία εφάεσι δόση της ελεγχόμενης ουσίας, με την υψηλότερη ανεκτή δόση. Οι χρονοι δειγματοληψίας πρέπει να συμπίπτουν με τη μέγιστη αναπόκριση της δοκιμασίας, η οποία ποικίλλει με την ελεγχόμενη ουσία. Γι' αυτό, χρησιμοποιώντας την υψηλότερη δόση, τα δείγματα λαμβάνονται τρεις τουλάχιστον φορές. Η πρώτη δειγματοληψία δεν πρέπει να γίνεται νωρίτερα από 12 ώρες μετά τη χορήγηση, και τα χρονικά διαστήματα των ακόλουθων δειγματοληψιών δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 72 ώρες.
- Όταν χρησιμοποιούνται επιπλέον επίκεδα δόσεων, τα δείγματα πρέπει να λαμβάνονται στην περίοδο της μέγιστης ευαισθησίας, ή, αν αυτή είναι γνωστή, 24 ώρες μετά τη χορήγηση.
- ii) αν από πληροφορίες φαρμακοκινητικής και μεταβολισμού ενδείκνυται ο προγραμματισμός επανειλημμένων χορηγήσεων, μπορεί να χρησιμοποιηθούν επανειλημμένες χορηγήσεις και τα δείγματα πρέπει να λαμβάνονται, τουλάχιστον, τρεις φορές. Η πρώτη δειγματοληψία πρέπει να γίνεται όχι νωρίτερα από 12 ώρες μετά την τελευταία χορήγηση και οι υπόλοιπες δειγματοληψίες σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα, πάντως όχι περισσότερο από 72 ώρες.
- Παρασκευάσματα μυελού οστών:
- Ο μυελός οστών λαμβάνεται και από τα δύο οστά του μηρού, λίγο μετά τη θανάτωση των ζώων, με ορό εμβρύου βοός. Με φυσική κέντρηση τα κύτταρα καθίζονται και το υγρό που επιπλέει απορρίπτεται. Σιγρόνες από το ομογενές αιώρημα των κυττάρων τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρους κλάκες και σπλώνονται σαν εάλγνυμα. Μετά από ξήρανση στον αέρα, οι αντικειμενοφόροι κλάκες ζρωματίζονται.
- Ανάλυση
- Οι αντικειμενοφόροι κωδικοποιούνται πριν υποστούν τη μικροσκοπική ανάλυση. Για τη διαπίστωση της αυτάντητας των μικροκυρήνων, εξετάζονται τουλάχιστον 1 000 πολυρωματικά ερυθροκύτταρα ανά ζώο.
- Ο λόγος ορθορωματικών ερυθροκυττάρων προς τα πολυρωματικά προσδιορίζεται, για κάθε ζώο, μετρώντας συνολικά 1 000 ερυθροκύτταρα.
- ΔΕΔΟΜΕΝΑ
- Τα δεδομένα παρουσιάζονται σε μορφή πίνακα. Μετρείται ο αριθμός των πολυρωματικών ερυθροκυττάρων, ο αριθμός των πολυρωματικών ερυθροκυττάρων με μικροκύρηνα και καταγράφονται σε χωριστές καταστάσεις, για κάθε πειραματική ομάδα και το μάρτυρα, το επί της εκατό των κυττάρων με μικροκύρηνα και ο λόγος των ορθορωματικών ερυθροκυττάρων προς τα πολυρωματικά. Καταγράφονται, επίσης, οι μίσοι όροι και οι σταθερές αποκλίσεως για κάθε πειραματική ομάδα και το μάρτυρα. Τα δεδομένα αυτά αξιολογούνται με κατάλληλες στατιστικές μεθόδους.
3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ
- 3.1. Έκθεση ελγττου
- Η έκθεση ελγττου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:
- είδος, φύλο και ηλικία χρησιμοποιούμενων ζώων,
 - αριθμό ζώων κατά φύλο για κάθε πειραματική ομάδα και το μάρτυρα,
 - περιστατικές συνθήκες: λεπτομερή περιγραφή χορηγήσεως και προγράμματος δειγματοληψίας, επίκεδα δόσεων, δεδομένα τοξικότητας, αρνητικός και θετικός μάρτυρας,
 - κριτήρια για βελιολόγηση μικροκυρήνων,
 - σηση δόσεων και επιδράσεων, εφόσον είναι δυνατόν,

- στατιστική αξιολόγηση,
— σύζησηση των αποτελεσμάτων,
— ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- 3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).
- Β. 13. ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ — ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΙΣ
ESCHERICHIA COLI — ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΕΠΙΛΑΦΟΡΑΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ
1. ΜΕΘΟΔΟΣ
- 1.1. Εισαγωγή
βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).
- 1.2. Ορισμοί
βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).
- 1.3. Ουσίες αναφοράς
Καμία.
- 1.4. Αρχή της μεθόδου
Το σύστημα εναεφοράς της *Escherichia coli* τροκτοφάνης (trp) είναι μια μικροβιακή δοκιμασία, η οποία μετράει την εναεφορά trp — trp⁺ με χημικές ουσίες που προκαλούν βασικές μεταβολές στο γένωμα του οργανισμού.
- Τα βακτήρια εκτίθενται στην ελεγχόμενη ουσία με ή χωρίς μεταβολική ενεργοποίηση. Μετά από επαρκή περίοδο επώασης σε ελαχιστο θερετικό υλικό, οι αποικίες των εναεφορών μετρούνται και συγκρίνονται με εκείνες των αεδομητων εναεφορών σε μια αποικία χωρίς ελεγχόμενη ουσία, ή/και σε μια αποικία μάρτυρα με διαλύτη.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας
Καμία.
- 1.6. Περιγραφή της μεθόδου
Οι ακόλουθε μέθοδοι μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την πραγματοποίηση της δοκιμασίας: 1) η κροσκοπική μέθοδος, και 2) η μέθοδος της ακριβείας ενωμιατώσεως, κατά την οποία βακτήρια και ελεγχόμενη ουσία μείνουνται με το υπερκείμενο άγαρ και χύνονται στην επιφάνεια ενός διαρκού με εκλεπτικό άγαρ.
- 1.6.1. Προετοιμασία
Βακτήρια
Τα βακτήρια ανακτάσσονται στους 37 °C μέχρι το πέρας της λογαριθμικής φάσεως, ή την αρχή της φάσεως στάσεως της ανακτώσεως. Η κατά προέγηση πυκνότητα των κυττάρων πρέπει να είναι 10⁸ - 10⁹ κύτταρα ανά ml.
- 1.6.1.2. Μεταβολική ενεργοποίηση
Τα βακτήρια πρέπει να εκθέτονται στην ελεγχόμενη ουσία με την παρουσία και την ακουσία κατάλληλου μέγματος ενεργοποιητών των ενζύμων του ήπατος θηλαστικών (ένος ενεργού παράγον συμπερω- μένος με το μετα-μυτογονόμο κλάσμα), παρασκευασμένου από μίεξ ή επίμικς, στους οκώλους είνων χορηγηθεί προηγουμένως παρόντες διεγέρσεως των ενζύμων.
- 1.6.2. Πειραματικές συνθήκες
Δοκιμαζόμενες φυλλές
Πρέπει να χρησιμοποιούνται τρεις φυλλές, οι WP2, WP2 υπγ Α και WP2 υπγ Α ρΚΜ 101. Πράκει, επίσης, να χρησιμοποιούνται αναγνωρισμένες μέθοδοι για την παρασκευή των αποθεματικών καλλιεργιών και τη συντήρησή τους. Πρέπει να ελεγχονται οι απαιτήσεις ανακτώσεως και η γενετική ταυτότητα των φυλών, η εναεφορία τους στις υπερωδεις ακτίνες ή τη μυτομική C και η αντίσταση στην αμικλλίνη της φυλής WP2 υπγ Α ρΚΜ 101. Οι φυλλές πρέπει, επίσης, να παρήγουν αεδορητες εναεφορές μέσα στα αναμενόμενα όρια συχνότητας.
- 1.6.2.2. Θερετικά υποστρώματα
Για την ανέπτυξη και επιλογή των μεταλλακτων χρησιμοποιείται το κατάλληλο θερετικό υλικό με το απαραίτητο υπερκείμενο άγαρ.
- 1.6.2.3. Χρησιμοποίηση αρνητικών και θετικών μαρτύρων
Πρέπει να εκτελούνται μάρτυρες χωρίς ελεγχόμενη ουσία και μάρτυρες του διαλύτη. Οι θετικοί μάρτυρες πρέπει, επίσης, να δοκιμάζονται για δύο λόγους:
1) Την επιβεβαίωση της εναεφορίας των βακτηριακών φυλών.
Μικροβίω να χρησιμοποιηθούν το σουλφονικό μεθυλομεθάνιο, το οξείδιο της 4-νιτροκυλίνης ή η αιθυλονιτροδοορία σαν θετικοί μάρτυρες για τις δοκιμές χωρίς μεταβολική ενεργοποίηση.

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- Βακτηρία, χρησιμοσηθείσας φύλης,
- περιστατικές συνθήκες: επίπεδα δόσεων, τοξικότητα, σύνθεση του θρεπτικού υλικού, διαδικασίες (προελαστική — επελαστική), μέγιστη ενεργοποίηση των ηρατικών ενζύμων, ουσιές αναφοράς — αρνητικούς μάρτυρες,
- μετρήσεις ανά δίσκο — το μέσο όρο των επαναφορών ανά δίσκο — σταθερή απόκλιση — και όταν είναι δυνατόν τη στήλη δόσεως/αποτελεσμάτων,
- σύζηση των αποτελεσμάτων,
- ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία.

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).

B. 14. ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ — ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗ

SALMONELLA TYPHIMURIUM — ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΕΠΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Α).

1.2. Οργανοί

Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Β).

1.3. Ουσιές αναφοράς

Καμία.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Το σύστημα επαναφοράς της *Salmonella typhimurium* histidine (his) είναι μια μικροβιακή δοκιμασία, η οποία μετράει την επαναφορά της his⁻ — his⁺ με χημικές ουσιές που προκαλούν βασικές αντικαταστάσεις ή μεταλλαγές στο γένωμα του οργανισμού αυτού.

Το σύστημα επαναφοράς της *Salmonella typhimurium* histidine (his) είναι μια μικροβιακή δοκιμασία, η οποία μετράει την επαναφορά της his⁻ — his⁺ με χημικές ουσιές που προκαλούν βασικές αντικαταστάσεις ή μεταλλαγές στο γένωμα του οργανισμού αυτού.

ii) Την εξασφάλιση της δραστηριότητας των κατάλληλων μεταβολικών συστημάτων.

Το 2-αμινοφθαλκινό είναι ένας θετικός μάρτυρας για τη δραστηριότητα ενός μεταβολικού συστήματος για όλες τις φύλες. Ένας θετικός μάρτυρας της ίδιας χημικής τάξεως, όπως και η ελεγχόμενη ουσία, πρέπει να χρησιμοποιηθεί, εφόσον είναι διαθέσιμος.

1.6.2.4. Ποσότητα της ελεγχόμενης ουσίας ανά δίσκο

Δοκιμάζονται 5 τουλάχιστον διαφορετικές ποσότητες της ελεγχόμενης ουσίας, με ημιλογαριθμικά διαστήματα μεταξύ των δίσκων. Οι ποσότητες των ουσιών δοκιμάζονται έως τα όρια της διαλυτότητας ή της τοξικότητας. Η τοξικότητα εμφανίζεται με τη μείωση του αριθμού των αυθόρμητων επαναφορών, τη διάρκεια του υποκειμένου στρώματος ή το βαθμό επιβίωσης των δηλητηριασμένων καλλιέργειών. Οι μη τοξικές χημικές ουσιές, πριν χαρακτηρισθούν ως αρνητικές, πρέπει να δοκιμαστούν σε ποσότητα 5 mg ανά δίσκο.

1.6.2.5. Συνθήκες εκώσεως

Οι δίσκοι εκωάζονται για 48 έως 72 ώρες στους 37 °C.

1.6.3. Διαδικασία

Για τη μέθοδο της απευθείας ενσωματώσεως στο δίσκο χωρίς μεταβολική επεξεργασία, η χημική ουσία και 0,1 ml μιας πρόφατης βακτηριακής καλλιέργειας προστίθενται σε 2,0 ml υπερκείμενου άγαρ. Για δοκιμασίες με μεταβολική ενεργοποίηση, 0,5 ml μέρματος μεταβολικής ενεργοποίησης των ενζύμων του ήπατος, που περιέχει μια επαρκή ποσότητα μεταμοτοχονόρμικού κλάσματος, προστίθενται στο υπερκείμενο άγαρ, μετά την προσθήκη της χημικής ουσίας και των βακτηρίων. Τα περιεχόμενα κάθε δοκιμαστικού σωλήνα μετράγονται και αρώνονται πάνω σ' ένα δίσκο με εκλεκτικό άγαρ. Το υπερκείμενο άγαρ αφήνεται να στερεοποιηθεί και οι δίσκοι εκωάζονται για 48 έως 72 ώρες σε 37 °C. Στο τέλος της εκωαστικής περιόδου, μετρώνται οι αποικίες επαναφορών ανά δίσκο.

Για την προσκοσμητική μέθοδο, ένα μίγμα από την ελεγχόμενη ουσία, 0,1 ml μιας πρόφατης βακτηριακής καλλιέργειας, και μια επαρκής ποσότητα από το μίγμα της ενεργοποίησης των ενζύμων του ήπατος, ή ένα ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος, προσκομίζονται πριν προστεθούν τα 2,0 ml του υπερκείμενου άγαρ. Όλες οι άλλες διαδικασίες είναι οι ίδιες όπως και στη μέθοδο ενσωματώσεως.

*Όλοι οι δίσκοι και για τις δύο μεθόδους παρασκευάζονται τουλάχιστον τριπλάσι.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Ο αριθμός των αποικιών επαναφοράς ανά δίσκο καταγράφεται για τους μάρτυρες και τους δίσκους με την ελεγχόμενη ουσία. Μετρήσεις για κάθε δίσκο χωριστά, ο μέσος όρος των αποικιών επαναφοράς ανά δίσκο και οι σταθερές αποκλίσεις πρέπει να παρακολουθούνται για τους δίσκους με ελεγχόμενη και μη ουσία. Όλα τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται σ' ένα ανεξάρτητο πείραμα. Τα δεδομένα πρέπει να αξιολογούνται με τις κατάλληλες στατιστικές μεθόδους.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

- ii) την εξασφάλιση της δραστηκότητας του κατάλληλου μεταβολικού συστήματος.
- Το 2-αμινοαρθάνο είναι ένας θετικός μάρτυρας για τη δραστηκότητα ενός μεταβολικού συστήματος για όλες τις φυλές. Ένας θετικός μάρτυρας της ίδιας χημικής τάξεως όπως η ελεγχόμενη ουσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί, εφόσον είναι διαθέσιμος.
- 1.6.2.4. Ποσότητα ελεγχόμενης ουσίας ανά δισκο**
- Δοκιμάζονται 5 τουλάχιστον διαφορετικές ποσότητες της ελεγχόμενης ουσίας σε πιλοσταθμικά διαστήματα μεταξύ των δισκων. Οι ουσίες δοκιμάζονται σε ποσότητες που φέρονται στα όρια διαλυτότητας ή τοξικότητας. Η τοξικότητα εμφανίζεται με τη μέωση του αριθμού των αυθόρμητων εκαναφορών, τη διάσπαση του υποκείμενου στρώματος ή το βαθμό επιβίωσης των δηλητηριασμένων καλλιέργειών. Οι μη τοξικές χημικές ουσίες πρέπει να δοκιμάζονται σε ποσότητες 5 mg ανά δισκο, προτού χαρακτηριστούν σαν αρνητικές.
- 1.6.2.5. Συνθήκες εκβάσεως**
- Οι δισκοι επωάζονται στους 37 °C για 48 έως 72 ώρες.
- 1.6.3. Διαδικασία**
- Για τη μέθοδο της απεύθυνσης ενσωματώσεως στους δισκους χωρίς μεταβολική ενεργοποίηση, προετοιμάται 0,1 ml πρόσφατης βακτηριακής καλλιέργειας σε 2,0 ml υπερκείμενου άγερ. Για δοκιμασίες με μεταβολική ενεργοποίηση, 0,5 ml μερίσματος ενεργοποιησώς ηρατικών ενζύμων που περιέχει επαρκή ποσότητα μεταμορφωτικού κλάσματος προστίθεται στο υπερκείμενο άγερ, μετά από προσθήκη της ελεγχόμενης ουσίας και των βακτηρίων. Το περιεχόμενο κάθε σωλήνα ανακατεύεται και αφήνεται στην επώαση ενός δισκου με άγερ εκλεκτικό. Μετά τη στερεοποίηση του υπερκείμενου άγερ, οι δισκοι επωάζονται στους 37 °C για 48 έως 72 ώρες. Στο τέλος της περιόδου εκβάσεως, μετρούνται οι αποικίες εκαναφορές ανά δισκο. Για τη μέθοδο προσκομιάσεως, πριν από την προσθήκη 2,0 ml υπερκείμενου άγερ, προσκομίζεται μερίσμα της ελεγχόμενης ουσίας, 0,1 ml πρόσφατης βακτηριακής καλλιέργειας και κατάλληλης ποσότητας μερίσματος ενεργοποιησώς ηρατικών ενζύμων ή ίδιας ποσότητας ρυθμιστικού διαλύματος. Όλες οι άλλες διαδικασίες είναι οι ίδιες όπως και για τη μέθοδο της απεύθυνσης ενσωματώσεως στους δισκους.
- Και για τις δύο μεθόδους χρησιμοποιούνται τρεις δισκοι-εκαναλίφτες.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ

- Αναφέρεται ο αριθμός των αποικιών εκαναφορές για το μάρτυρα και τις παραματικές σειρές.
- Πρέπει να αναφέρονται οι μετρήσεις για κάθε δισκο, ο μέσος όρος των αποικιών εκαναφορές ανά δισκο και η σταθερή απόκλιση, για την ελεγχόμενη ουσία και τους μάρτυρες.
- Όλα τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται μ' ένα ανεξάρτητο πείραμα.
- ii εξολόκληση των δεδομένων πρέπει να γίνεται με κατάλληλες στατιστικές μεθόδους.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1. Έκθεση άγερου

- 1.5. Κριτήρια ποιότητας**
- Κανένα.
- 1.6. Περιγραφή της μεθόδου**
- 1.6.1. Προπομασές**
- 1.6.1.1. Βακτήρια**
- Πρόσφατες βακτηριακές καλλιέργειες ανακλύσσονται στους 37 °C μέχρι τα πέρας της λογαριθμικής φάσεως της αναπτύξεώς τους ή την αρχή της φάσεως στάσεως της αναπτύξεώς τους. Η κατά προσέγγιση πυκνότητα των κυττάρων πρέπει να είναι 10⁸-10⁹ κύτταρα ανά ml.
- 1.6.1.2. Μεταβολική ενεργοποίηση**
- Τα βακτήρια πρέπει να εκτρέφονται στην ελεγχόμενη ουσία αφενός μαζί με ένα κατάλληλο μέγμα ενεργοποιησώς των ενζύμων του ήπατος θηλαστικών (ένος ανεργός παράγων, συμπληρωμένος με το μετα-μιτοχονδριακό κλάσμα), παρασκευασμένο από μύες ή επίμυες, στους οποίους είχαν χορηγηθεί προηγουμένως παράγοντες διεγέρσεως των ενζύμων.
- 1.6.2. Παραματικές συνθήκες**
- 1.6.2.1. Δοκιμαζόμενες φυλές**
- Τίσεως τουλάχιστον φυλές μπορούν να χρησιμοποιηθούν, οι TA 1535, TA 1537, TA 98 και TA 100. Και άλλες φυλές, όπως η TA 1538 μπορούν, επίσης, να χρησιμοποιηθούν. Πρέπει, επίσης, να χρησιμοποιούνται αναγνωρισμένες μεθόδους παρασκευής των αποθεματικών καλλιέργειών και συντηρήσεώς τους. Πρέπει να ελέγχονται οι απαιτήσεις ανακλύσεως και η γενετική ταυτότητα των φυλών, η ευαισθησία τους στις υπερδοσείς ακτίνες και στο κώδες της γεντανής, ως και η αντίστασή τους στην αμικικιλίνη. Οι φυλές πρέπει, επίσης, να παράγουν εκαναφορές μέσα στα αναμενόμενα όρια συχνότητας.
- 1.6.2.2. Θρεπτικά υποστρώματα**
- Χρησιμοποιείται ένα κατάλληλο, εκλεκτικό θρεπτικό, υλικό μ' ένα επαρκές στρώμα υπερκείμενου άγερ.
- 3.2.3. Χρησιμοποίηση θετικών και αρνητικών μαρτύρων**
- Πρέπει οι συμφονώντες μάρτυρες χωρίς ελεγχόμενη ουσία και οι μάρτυρες διαλύτη να δοκιμάζονται. Επίσης, πρέπει να γίνονται δοκιμές στους θετικούς μάρτυρες για δύο σκοπούς:
- ii) την επιβεβαίωση της ευαισθησίας των βακτηριακών φυλών. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι ακόλουθες ουσίες για τις δοκιμασίες χωρίς μεταβολικές ενεργοποιήσεις:
- | | |
|------------------|------------------|
| φυλές | Εκαναφορές με: |
| TA 1535, TA 100, | Νατραζίδιο, |
| TA 1536, TA 98, | 2-νιτροφλωροφάνο |
| TA 1537, | 9-αμινοακρδίνη |

- Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:
- βακτηρία, χρησιμοποιηθείσες φυλές,
 - συνήθεις δοκιμών επίθετα δόσεων, τοξικότητα, σύνθεση του θρεπτικού υλικού, τρόπος επεμβάσεως (προσκόλληση — εκπόση, μέγιστη ενεργοποιησάς ηραπικό εκζύμο, ουσιές αναφοράς, αρνητικούς μάρτυρες,
 - μετρήσεις για κάθε δίσκο — ο μέσος αριθμός των αποικιών επαναφοράς ανά δίσκο — σταθερή απόκλιση — σχέση δόσεως και επιδράσεως, εφόσον είναι δυνατόν,
 - σύζησηση των αποτελεσμάτων,
 - ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- 3.2. Αξιολόγηση και ερμηνεία
- Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Γ).
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
- Βλέπε γενική εισαγωγή, μέρος Β (σημείο Δ).
- ΜΕΡΟΣ Γ: ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ**
- Γ. 1. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΨΑΡΙΑ**
- ΜΕΘΟΔΟΣ**
- 1.1. Εισαγωγή
- Για την εκλογή της πιο κατάλληλης μεθόδου (στατική, ημιστατική ή συνεχούς ροής), που θα εξασφαλίσει ικανοποιητικές σταθερές συγκεντρώσεως της ελεγχόμενης ουσιές κατά τη διάρκεια του ελέγχου, είναι επιθυμητή η ύπαρξη όσο το δυνατόν περισσότερων πληροφοριών για τη διαλυτότητα της ελεγχόμενης ουσιές στο νερό, την τάση ατμών, τη χημική σταθερότητα, τη σταθερά διαστάσεως και τη βιοδιασπαιμότητα της.
- *Άλλες απαιτούμενες πληροφορίες, π.χ. συντακτικός τύπος, βαθμός καθαρότητας, ψύση και περιεκτικότητα σε οργανικών ξένων προσμίξεων, παρουσία και ποσότητα προσθέτων και συντηρητικών κατανοηής σε n-οκτανόλη/νερό, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και στην προετοιμασία του ελέγχου και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- 1.2. Ορισμοί και μονάδες
- Όξεία τοξικότητα είναι το εμφάνει, δυσμενές αποτέλεσμα που προκαλείται σε έναν οργανισμό μέσα σε μικρό διάστημα (ήμες) εκθέσεώς του σε μία ουσία. Σ' αυτόν τον έλεγχο, η όξεία τοξικότητα εκφράζεται ως η μέση θανατηφόρα συγκεντρώση (LC₅₀), που είναι η συγκεντρώση σε νερό, η οποία σκοτώνει 50 % από την ομάδα ψαριών του περιβάλλοντος, μέσα σε μία συνεχή περίοδο εκθέσεως η οποία πρέπει να δηλώνεται.
- Όλες οι συγκεντρώσεως της ελεγχόμενης ουσιές δίνονται σε βάρους κατ' όγκο (mg/l), καθώς επίσης εκφράζονται και σε βάρους κατά βάρους (ppm = μέρος στο εκατομμύριο).
- 1.3. Ουσιές αναφοράς
- Μία ουσία αναφοράς μπορεί να ελέγχεται για να αποδείξει ότι, κάτω από τις εργαστηριακές συνθήκες ελέγχου, η ανταπόκριση των ειδών ελέγχου δεν έχει αλλιάει σημαντικά.
- Για τον έλεγχο αυτό δεν καθορίζονται ουσιές αναφοράς.
- 1.4. Αρχή της μεθόδου
- Τα ψάρια εκτίθενται στην ελεγχόμενη ουσία που έχει προστεθεί στο νερό σε μία περιοχή συγκεντρώσεως για μια ελάχιστη περίοδο 48 ωρών, και κατά πρόθεση για 96 ώρες. Σημειώνονται οι θάνατοι σε διαστήματα ελάχιστων 24 ωρών και υπολογίζονται, όπου είναι δυνατόν, οι συγκεντρώσεως που σκοτώνουν 50 % των ψαριών (LC₅₀) σε κάθε παρατήρηση.
- 1.5. Κριτήρια ποιότητας
- Η θνησιμότητα στους ελεγχτους δεν πρέπει να υπερβαίνει το 10 % στο τέλος του ελέγχου.
- Η συγκεντρώση οξυγόνου, κατά τη διάρκεια του ελέγχου, πρέπει να είναι μεγαλύτερη του 60 % της τιμής κορεσμού με αέρα.
- Πρέπει να υπάρχει αποδείξη, είτε από την ανάλυση είτε από τις χημικές ιδιότητες του συστήματος ελέγχου που χρησιμοποιήθηκε, ότι η συγκεντρώση της ελεγχόμενης ουσιές διατηρήθηκε ικανοποιητικά σταθερή (π.χ. γύρω στο 80 % της αρχικής συγκεντρώσεως καθ' όλη την περίοδο του ελέγχου).
- 1.6. Περιγραφή της μεθόδου
- Τρεις τύποι μεθόδων μπορεί να χρησιμοποιηθούν:
- Στατικός έλεγχος: έλεγχος τοξικότητας με υδρόβιους οργανισμούς στον οποίο δεν γίνεται ροή του διαλύματος ελέγχου. (Τα διαλύματα παραμένουν χωρίς να αλλάξουν καθ' όλη τη διάρκεια του ελέγχου).
- Ημιστατικός έλεγχος: έλεγχος χωρίς ροή του διαλύματος, στον οποίο όμως κατά τακτά διαστήματα γίνεται ομαδικά αλλαγή των διαλυμάτων της ελεγχόμενης ουσιές μετά από παρατεταμένες περιόδους (π.χ. 24 ώρες).
- Έλεγχος συνεχούς ροής: έλεγχος τοξικότητας στον οποίο το νερό στους θαλάμους ελέγχου ανανεώνεται σταθερά, ενώ η ελεγχόμενη χημική ουσία μεταφέρεται με το νερό που χρησιμοποιείται για την ανανέωση του περιβάλλοντος του ελέγχου.
- 1.6.1. Αντιδραστήρια
- 1.6.1.1. Διαλύματα των ελεγχόμενων ουσιών

1.6.3.1.

Συντήρηση ψαριών

Τα ψάρια ελέγχου προέρχονται, κατά προτίμηση, από μία ποσότητα με παρόμοιο μέγεθος και ηλικία. Τα ψάρια πρέπει να κρατηθούν για 12 ημέρες τουλάχιστον στις παρακάτω συνθήκες:

Διέξαιμενες:

Συνιστώνται δεξαμενές 300 λίτρων τουλάχιστον για ψάρια κρύου νερού, και 100 λίτρων τουλάχιστον για ψάρια ζεστού νερού.

Φορτίο:

Ανάλογο με το σύστημα (ανακυκλοφορία ή συνεχής ροή) και το είδος των ψαριών.

Νερό:

Βλέπε σημείο 1.6.1.2.

Φως:

Περίοδος φωτισμού 12 έως 16 ώρες ημερησίως.

Συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου:

80 % τουλάχιστον της τιμής κορεσμού με αέρα.

Διατροφή:

Τρεις φορές την εβδομάδα ή καθημερινά και σταματά 24 ώρες πριν αρχίσει ο έλεγχος.

1.6.3.2.

Θνησιμότητα

Μετά από περίοδο εγκαταστάσεως 48 ωρών, καταγράφονται οι θάνατοι και εφευρίσκονται τα ακόλουθα κριτήρια:

- για θνησιμότητα μεγαλύτερη του 10 % του κληθμού σε επτά ημέρες: απορρίπτεται όλη η ομάδα
- για θνησιμότητα 5 έως 10 % του κληθμού: η κερφόδος συτηρήσεως συνεχίζεται για επτά ακόμη ημέρες. Αν δεν παρατηρηθούν άλλοι θάνατοι, η ομάδα ψαριών εγερνείται, αλλιώς πρέπει να απορριφθεί.
- για θνησιμότητα μικρότερη του 5 % του κληθμού: η ομάδα ψαριών εγερνείται.

1.6.4.

Προσαρμογή

Όλα τα ψάρια πρέπει να εκτεθούν σε νερό της ποιότητας και θερμοκρασίας που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στον έλεγχο για επτά τουλάχιστον ημέρες πριν να χρησιμοποιηθούν.

1.6.5.

Διαδικασία ελέγχου

Ένας προκαταρκτικός έλεγχος μπορεί να προηγηθεί από τον τελικό. Παράγει κληροφορίες για τη σειρά των συγκεκριμένων που πρέπει να χρησιμοποιηθούν στον κύριω έλεγχο.

Ένας παράλληλος έλεγχος, χωρίς την ελεγχόμενη ουσία, γίνεται χρησιμοποιώντας τη βοηθητική ουσία αν υπάρχει, συμπληρωματικά με τη βασική σειρά ελέγχου.

Οι συγκεντρώσεις δεν πρέπει να πέσουν περισσότερο από 20 % κατά την περίοδο του ελέγχου. Ανάλογα με τις φυσικές και χημικές ιδιότητες της ελεγχόμενης ουσίας μπορεί να επιλεγεί σαν άλλων κατάλληλος ένας στατικός, ημιστατικός ή συνεχούς ροής έλεγχος.

Τα αρχικά διαλύματα της απαιτούμενης συγκεντρώσεως παρασκευάζονται με διάλυση της ουσίας σε απιονισμένο νερό ή νερό σύμφωνα με την περιγραφή του σημείου 1.6.1.2.

Τα αρχικά διαλύματα των χημικών ουσιών που έχουν χαμηλή υδατική διαλυτότητα παρασκευάζονται με διασπορά με σιλικική υερήζον ή, αν είναι αναγκαίο, με χρήση οργανικών διαλυτών, γαλακτωματοποιητών ή παραρτών διασποράς. Όταν χρησιμοποιούνται τέτοιες βοηθητικές ουσίες, τα υπό έλεγχο ψάρια πρέπει να εκτεθούν σε συγκεντρώσεις της βοηθητικής ουσίας ίδες με εκείνες που χρησιμοποιούνται στις υψηλότερες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας. Οι συγκεντρώσεις τέτοιων βοηθητικών δεν πρέπει να υπερβαίνουν το 0,1 %/l.

Οι συγκεντρώσεις που έχουν εκλεχτεί για τον έλεγχο παρασκευάζονται με αραιώση του αρχικού διαλύματος. Αν χρησιμοποιηθούν μεγάλες συγκεντρώσεις για τον έλεγχο, η ουσία μπορεί να διαλυθεί καταβείων στο νερό αραιώσεως.

Ο έλεγχος πρέπει να γίνει χωρίς ρύθμιση του pH. Αν υπάρχει ένδοξη αξιοσημείωτη αλλαγή του pH, είναι καλύτερο ο έλεγχος να επαναληφθεί με ρύθμιση του pH και τα αποτελέσματα να συμπεριληφθούν στην έκθεση. Σ' αυτή την περίπτωση, το pH του αρχικού διαλύματος πρέπει να γίνει όσο το pH του νερού αραιώσεως, εκτός αν υπάρχουν ειδικοί λόγοι που κάτι τέτοιο δεν επιτρέπεται. Γι' αυτό το σκοπό συνιστάται HCl και NaOH. Η ρύθμιση του pH πρέπει να γίνει έτσι που να μην αλλάξει σημαντικά τη συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας στο αρχικό διάλυμα. Εάν από τη ρύθμιση του pH προκληθεί κάποια χημική αντίδραση ή φυσική καθίζηση της ελεγχόμενης ουσίας, αυτό πρέπει να αντεφευχθεί.

1.6.1.2.

Νερό συντηρήσεως ψαριών και αραιώσεως

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί πόσιμο νερό δικτύου υδρεύσεως (ελεύθερο από επικίνδυνες συγκεντρώσεις χλωρίου, βαρέων μετάλλων, ή άλλων ουσιών), φυσικό νερό καλής ποιότητας, ή νερό από αναστάσεις (βλέπε προσάρτημα 1).

Προτιμώνται νερά με ολική σκληρότητα μεταξύ 50 και 250 mg/l (ως CaCO₃) και με pH 6,0–8,5.

1.6.2.

Συσκευή

Όλες οι συσκευές πρέπει να είναι φτιαγμένες από χημικώς αδρανές υλικό:

- αυτόματο σύστημα άραώσεως (για τον έλεγχο συνεχούς ροής),
- μετρητή οξυγόνου,
- συσκευή προσδιορισμού της σκληρότητας του νερού,
- αρκετά όργανα για τον έλεγχο της θερμοκρασίας,
- κενόμετρο.

1.6.3.

Ψάρια ελέγχου

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ένα ή περισσότερα είδη που η επιλογή τους αφήνεται στην προαίρεση του εργαστηρίου ελέγχου.

Συνιστάται η επιλογή των ειδών να βασιστεί σε σημαντικά πρακτικά κριτήρια όπως είναι η εύκολη ανέγερσή τους καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, η εύκολη συντήρησή τους, η καταλληλότητα τους για τον έλεγχο, η σχετική τους ευαισθησία και οικονομικότερα οικονομικά, βιολογικός ή οικολογικός παράγοντας που έχει σχέση. Τα ψάρια πρέπει να έχουν καλή υγεία και να είναι απαλλαγμένα από κάθε φανερή δυσμορφία.

Είδη ψαριών που συνιστώνται για τον έλεγχο δίνονται στο προσάρτημα 2.

Τα ψάρια εκτίθενται στην ουσία όπως περιγράφεται παρακάτω.

Διάρκεια:

Τουλάχιστον 48 ώρες ή άλλα προτιμότερο 96 ώρες.

Αριθμός ζώων:

Τουλάχιστον 10 για κάθε συγκέντρωση.

Δεξιμενές:

Κατάλληλης κωφικότητας σε σχέση με το φορτίο που συνστάται.

Φορτίο:

Το μέγιστο φορτίο που συνστάται είναι 1,0 g/l για τον στατικό και ημιστατικό έλεγχο για συστήματα συνεχούς ροής που δεν υπερβαίνει το 1,8 και να καλύπτουν την κεραική θνησιμότητας από 0 έως 100 %.

Συγκέντρωση ελέγχου:

Ένας έλεγχος: πέντε τουλάχιστον συγκεντρώσεις που να διαφέρουν μεταξύ τους κατά ένα σταθερό παράγοντα που δεν υπερβαίνει το 1,8 και να καλύπτουν την κεραική θνησιμότητας από 0 έως 100 %.

Νερό:

Βλέπε σημείο 1.6.1.2.

Φως:

Περίοδος φωτισμού 12 έως 16 ώρες ημερησίως.

Θερμοκρασία:

Κατάλληλη για τα είδη ψαριών (προσάρτημα 2) αλλά με προσέγγιση ± 1 °C για κάθε ιδιαίτερο έλεγχο.

Συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου:

Όχι λιγότερο από 60 % της τιμής κορεσμού με αέρα στη θερμοκρασία που διαλεχθήκε.

Διατροφή:

Καθόλου.

Τα ψάρια επιβουρώνονται μετά τις πρώτες 2 έως 4 ώρες και σε διαστήματα 24 ωρών τουλάχιστον. Τα ψάρια θεωρούνται νεκρά όταν άγγιγμα του σφραγισμένου μίγματος δεν προκαλεί αντίδραση και δεν είναι ορατές αναπνευστικές κινήσεις. Τα νεκρά ψάρια απομακρύνονται όταν παρατηρούνται και οι θάνατοι καταγράφονται.

Κρυσταίνονται σημειώσεις των ορατών ανωμαλιών (π.χ. απώλεια ισορροπίας, αλλαγές συμπεριφοράς στην κολύμβηση, αναπνευστική λειτουργία, χρωματισμός κλπ.).

Μετρήσεις του pH, του διαλυμένου οξυγόνου και της θερμοκρασίας πρέπει να γίνονται καθημερινά.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Σχεδιάζεται το ποσοστό θνησιμότητας για κάθε περίοδο εκθεσίας και συνάρτηση της συγκεντρώσεως σε λογαριθμικό γράφι. Με το μέγ. γίνεται η καλύτερη προσεγγιστική γραμμή στα σημεία και βρίσκεται η συγκέντρωση που αντιστοιχεί σε θνησιμότητα 50 % (βλέπε σχήμα στο προσάρτημα 3).

Αυτή είναι η LC₅₀ για την ανάλυση περίοδο εκθεσίας.

Όταν τα δεδομένα είναι αρκετά, η μέση συγκέντρωση LC₅₀ και τα όρια εμπιστοσύνης ($p = 0,05$) μπορεί να εκτιμηθούν με τη χρήση κλασικών διαδικασιών.

Η τιμή LC₅₀ πρέπει να στρογγυλιωθεί σε ένα (ή το πολύ δύο) σημαντικά ψηφία.

Στις περιπτώσεις που η κλίση της καμπύλης συγκεντρώσεων είναι πολύ μεγάλη για να εκτιμήσει τον υκολογισμό της τιμής LC₅₀, μια γραφική εκτίμηση αυτής της τιμής είναι αρκετή.

Όταν δύο συνεχόμενες συγκεντρώσεις με σχέση 1,8 δίνουν μόνο 0 και 100 % θνησιμότητα, οι δύο αυτές τιμές είναι αρκετές να δείξουν την περιοχή μέσα στην οποία πέφτει η LC₅₀.

Αν παρατηρηθεί ότι η σταθερότητα ή η ομοιογένεια της ελεγχόμενης ουσίας δεν μπορεί να διατηρηθεί, αυτό θα πρέπει να αναφερθεί και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων να γίνει με προσοχή.

3. ΣΥΝΤΛΕΣΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει:

- πληροφορίες για τους ελεγχόμενους οργανισμούς (επιστημονική ονομασία, είδος, προμηθευτής, οποιαδήποτε προετοιμασία, το μέγεθος των ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε συγκέντρωση),
- κατάλογο των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν και οπουδήποτε διαθέσιμες πληροφορίες για τη σταθερότητα της ελεγχόμενης χημικής ουσίας στις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τα διαλύματα ελέγχου,
- περιγραφή των υδατικών ελέγχου,
- αν εκτελέστηκαν χημικές αναλύσεις, οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν και τα αποτελέσματα πρέπει να αναφερθούν,
- πρόβλεψη νερού αραίωσης και τα κυριότερα χημικά χαρακτηριστικά του (pH, σκληρότητα, θερμοκρασία),
- συγκεντρώσεις των τυχόν βοηθητικών ουσιών,
- στις περιπτώσεις ουσιών με χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, τη μέθοδο για την παρασκευή του αρχικού διαλύματος και του διαλύματος ελέγχου,
- τους λόγους για την επιλογή και τις λεπτομέρειες της διαδικασίας του ελέγχου που χρησιμοποιήθηκε (π.χ. διάρκεια ελέγχου, στατικός, ημιστατικός έλεγχος, συχνότητα χορήγησης της ουσίας, ταχύτητα συντρούς ροής, αν αερίζεται, φορτίο ψαριών, κλπ.),
- περίοδο φωτισμού ημερησίως,
- υψηλότερες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας που δεν προκαλούν θνησιμότητα μέσα στην περίοδο του ελέγχου,
- χαμηλότερες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας που προκαλούν θνησιμότητα 100 % μέσα στην περίοδο του ελέγχου,
- αντιστοίχηση θνησιμότητας σε κάθε συγκέντρωση και στο υψηλό πέρισμα (έλεγχος με τις βοηθητικές ουσίες αν χρησιμοποιήθηκαν) στους χρόνους παρατήρησης, που έχουν υπολογιστεί,
- LC₅₀ τιμές στους χρόνους παρατήρησης που έχουν υπολογιστεί (με 95 % όριο εμπιστοσύνης αν είναι δυνατό),
- στατιστικές διαδικασίες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των LC₅₀ τιμών,
- γραφική παράσταση της καμπύλης σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση στο τέλος του ελέγχου.

- κλίση της κοιλιάς σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις στο τέλος του ελέγχου, αν είναι δυνατόν και τα όρια εμπιστοσύνης της σε ποσοστό 95 %.
- συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου, τιμές pH, θερμοκρασία του διαλύματος ελέγχου κάθε 24 ώρες,
- αν χρησιμοποιήθηκε οξεία αναφοράς, τα αποτελέσματα που προέκυψαν πρέπει να αναφερθούν,
- ενδείξεις για την εκκλίρωση κριτηρίων ποιότητας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 203, Decision of the Council, C(81) 30 final.

Προσάρτημα 2

Είδη ψαριών που συνιστώνται για τον έλεγχο

Είδη που συνιστώνται	Ποσότητα θερμοκρασιών ελέγχου που συνιστάται (°C)	Ολικό μήκος (έως ελέγχου που συνιστάται) (cm)
<i>Brachydanio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) (Hamilton-Buchanan) Zebra-fish	20 έως 24	3,0 ± 0,5
<i>Pimephales promelas</i> (Teleostei, Cyprinidae) Fathead minnow	20 έως 24	5,0 ± 2,0
<i>Cyprinus carpio</i> (Teleostei, Cyprinidae) (Linnaeus 1758) Common carp	20 έως 24	6,0 ± 2,0
<i>Oryzias latipes</i> (Teleostei, Poeciliidae) (Schlegel 1850) Red killifish	20 έως 24	3,0 ± 1,0
<i>Poecilia reticulata</i> (Teleostei, Poeciliidae) (Peters 1839) Guppy	20 έως 24	3,0 ± 1,0
<i>Lepomis macrochirus</i> (Teleostei, Centrarchidae) (Linnaeus 1758) Bluegill	20 έως 24	5,0 ± 2,0
<i>Salmo gairdneri</i> (Teleostei, Salmonidae) (Richardson 1836) Rainbow trout	13 έως 17	6,0 ± 2,0
<i>Leuciscus idus</i> (Teleostei, Cyprinidae) (Linnaeus 1758) Golden orfe	20 έως 24	6,0 ± 2,0

Προσάρτημα 1

Νερό από ανασύσταση

Παράδειγμα ενός κατάλληλου νερού αραιώσεως

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού. Το νερό πρέπει να είναι καλής ποιότητας αποσταγμένο νερό με αγωγιμότητα μικρότερη από 5μS/cm⁻¹.

Αρχικό διάλυμα

- CaCl₂ · 2H₂O (δι-ενδορρωλιωρόιο ασβέστιο) διαλύονται σε νερό και συμπληρώνεται μέχρι 1 λίτρο: 11,76 g
- MgSO₄ · 7H₂O (επτε-ενόδρο θειικό μαγνήσιο) ίδια διαδικασία: 4,93 g
- NaHCO₃ (όξινο ανθρακικό νάτριο) ίδια διαδικασία: 2,59 g
- KCl (χλωριούχο κάλιο) ίδια διαδικασία: 0,23 g

Νερό αραιώσεως από ανασύσταση

Ανακατεύονται 25 ml από κάθε ένα από τα τέσσερα αρχικά διαλύματα και συμπληρώνονται με νερό μέχρι 1 λίτρο.

Λαμβάνεται μέρος όπου η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου εξισωθεί με την τιμή κορεσμού με αέρα.

Το pH πρέπει να είναι 7,9 ± 0,3.

Το pH διορθώνεται αν είναι ανάγκη με NaOH (καυστικό νάτριο) ή HCl (υδροχλωρικό οξύ).

Το νερό αραιώσεως που παρασκευάζεται έτσι αφήνεται για 12 ώρες περίπου και δεν χρειάζεται περαιτέρω αερισμό.

Το σύνολο των ιόντων Ca και Mg σ' αυτό το διάλυμα είναι 2,5 mmol/l. Η σχέση των ιόντων Ca: Mg είναι 4:1 και του Na:K 10:1. Η συνολική αλκαλικότητα του διαλύματος είναι 0,8 mmol/l.

Οικαθήμες εκτροφής στην παρασκευή του νερού αραιώσεως δεν πρέπει να αλλάζει τη σύνθεση ή τις ιδιότητες του νερού.

Συλλογή

Τα ψάρια που αναφέρονται παραπάνω εκτρέφονται εύκολα ή/και είναι ευρέως διαδεδομένα κατά τη διάρκεια του έτους. Είναι δυνατό να τρωθούν και καλλιεργηθούν είτε σε γυφτογραφία είτε στο εργαστήριο, με συνθήκες ελεγχόμενες για καθαριότητα και καράσινα. Έτσι και τα ζώα ελέγχου να είναι υγιή και από γαστήρ κατηγορη. Αυτά τα ψάρια είναι διαδεδομένα σε πολλά μέρη του κόσμου.

Γ. 2. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΓΙΑ DAPHNIA

ΜΕΘΟΔΟΣ

Εισαγωγή

Η ύπερξη όσο το δυνατόν περισσότερων πληροφοριών για τη διαλυτότητα στο νερό, την τάση ατμών, τη χημική σταθερότητα, τη σταθερά διασάεως και τη βιοδιασπασιμότητα της χημικής ουσίας είναι επιθυμητή πριν την έναρξη του ελέγχου.

Συμπληρωματικές πληροφορίες (π.χ. συντακτικός τύπος, βαθμός καθαρότητας, φύση και ποσοστό των σημαντικών ξένων προσμίξεων, παρουσία και ποσότητα προσβίων, και συντελεστής κατανομής σε η-οκτανόλη/νερό) πρέπει να ληφθούν υπόψη και στο σχεδιασμό του ελέγχου και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Όριοι και μονάδες

Η απειρία της οδηγίας για την τιμή LC₅₀ για τις Daphnia κληροείται με τον προσδιορισμό της τιμής EC₅₀ όπως περιγράφεται σ' αυτό τον έλεγχο.

Ο οξεία τοξικότητα σ' αυτό τον έλεγχο εκφράζεται ως η μέση αποτελεσματική συγκεντρώση (EC₅₀) ή ακινητοποίηση. Αυτή είναι η συγκεντρώση (της αρχικής τιμής) που ακινητοποιεί το 50 % των Daphnia στην ομάδα ελέγχου, σε περίοδο εκθέσεως 24 ωρών. Η EC₅₀ για ακινητοποίηση σε 48 ώρες εκτίθεται μικροί να προσδιοριστεί, αν είναι πρακτικά δυνατά.

Ακινητοποίηση

Τα ζώα εκείνα που δεν είναι ικανά να κολυμπούν για μια περίοδο ή για 15 δευτερόλεπτα μετά από ελαφρά ανατάραξη του δοχείου ελέγχου θεωρούνται ακινητοποιημένα.

Όλες οι συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας εκφράζονται σε βάρους, κατά βάρος (ppm: μέρη στο εκατομμύριο).

Ουσίες αναφοράς

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μία ουσία αναφοράς σαν μέσο αποδείξεως ότι, κάτω από τις εργαστηριακές συνθήκες ελέγχου, η ευαισθησία του ελεγχόμενου είδους δεν άλλαξε σημαντικά.

Για τον έλεγχο αυτό δεν καθορίζονται ουσίες αναφοράς.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

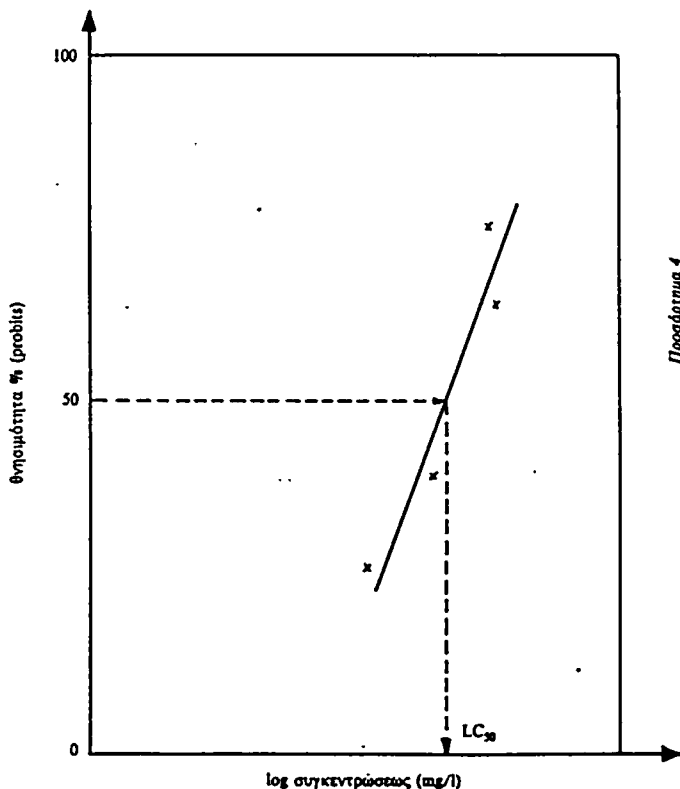
Οι Daphnia εκτίθενται στην ελεγχόμενη ουσία, που προστίθεται στο νερό σε μια σειρά συγκεντρώσεων, για 24 ώρες αν είναι απαραίτητο, η διάρκεια εκθέσεως μπορεί να εκτεταθεί στις 48 ώρες.

Για μια επαρκή σειρά συγκεντρώσεων της ελεγχόμενης ουσίας και κάτω από τα άλλα καθόμους συνθήκες ελέγχου, διάφορες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας ασκούν διαφορετικούς μέσους βαθμούς αποτελεσμάτων στην ικανότητα κολυμβήσεως των Daphnia. Διαφορετικές συγκεντρώσεις έχουν σαν αποτέλεσμα διαφορετικά ποσοστά των Daphnia, που στο τέλος του ελέγχου δεν μπορούν πλέον να κολυμβούν. Οι συγκεντρώσεις που προκαλούν 0 ή 100 % ακινητοποίηση προσδιορίζονται αναφέρεται από τις παρατηρήσεις, ενώ οι τιμές των EC₅₀ για 24 ώρες (όπως και EC₅₀ για 48 ώρες) προσδιορίζονται με υπολογισμό, εφόσον είναι δυνατόν.

Προσάρτημα 3

Παράδειγμα καμπύλης συγκεντρώσεως - θνησιμότητας

Παράδειγμα προσδιορισμού της LC₅₀ με χρησιμοποίηση χάρητη log-probit



Προσάρτημα 4

Πίνακας παραδειγμάτων πρότυπης διαδικασίας

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 203, Decision of the Council, C(81) 30 final.
- (2) ISO/TC/47/SC 3/WG 3, Draft proposal for screening chemicals and products for acute toxicity to fish using a static, semi-static or flow-through method. Document 7346/I, II, III, 1980/06/15 ISO/DP.
- (3) Eidgenössisches Departement des Innern, Schweiz: Richtlinien für Probenahme und Normung von Wasseruntersuchungsmethoden, Part II 1974.
- (4) DIN Testverfahren mit Wasserorganismen. 38 412 (L1) und L(15).
- (5) AFNOR. Determination de la toxicité aiguë d'une substance vis-à-vis de Brachydanio rerio. T90-303.
- (6) JIS K 0102. Acute toxicity test for fish.
- (7) Degradability, Ecotoxicity and Bioaccumulation. The determination of the possible effects of chemicals and wastes on the aquatic environment, Volumes I and II, Government Publishing Office, The Hague, The Netherlands 1980.
- (8) Environmental Protection Agency 1975. Methods for the Acute Toxicity Tests with Fish, Macroinvertebrates and Amphibians. The Committee on Methods for Toxicity Tests with Aquatic Organisms. Ecological Research Series EPA-660-73-009.
- (9) Environmental Protection Agency. January 1978. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Office of Research and Development. EPA-600/4-78-012.
- (10) Environmental Protection Agency: Toxic Substance Control, 16 March 1979, Part IV.
- (11) Standard methods for the examination of water and wastewater, 14th edition 1975 APHA-AWWA-WPCF.
- (12) Commission of the European Communities. Inter-laboratory test programme concerning the study of the ecotoxicity of a chemical substance with respect to the fish, EEC Study D.8368, 22 March 1979.
- (13) Litchfield, J. T. and Wilcoxon, F. A simplified method for evaluating dose effects experiments, J. Pharm. Exp. Therap., vol 96, 1949, p. 99.

Πρέπει να χρησιμοποιηθούν κανονικές εργαστηριακές συσκευές και εξοπλισμός. Ο εξοπλισμός που θα έλθει σε επαφή με διαλύματα ελέγχου πρέπει, κατά προτίμηση, να είναι όλος από γυαλί:

- μετρητής οξύτητας (με μικροηλεκτροδίο ή άλλο κατάλληλο εξάρτημα για τη μέτρηση οξυγόνου σε δείγματα μικρού όγκου),
- αρκετά όργανα για τον έλεγχο της θερμοκρασίας,
- πεζόμετρο,
- εξοπλισμός για τον προσδιορισμό ακριβείας στα νερά.

Οργανισμοί ελέγχου

Daphnia magna ή *Daphnia pulex*, ηλικίας μεταξύ 6 και 24 ωρών κατά την έναρξη του ελέγχου, εργαστηριακά καλλιεργημένη, ελεύθερη από φανερά ασθένεια και με γνωστή ιστορία (π.χ. διατροφή, προετοιμασία κλπ.).

Διαδικασία ελέγχου

Ένας προκαταρκτικός έλεγχος μπορεί να γίνει πριν από τον τελικό. Παρέχει πληροφορίες για την περιοχή συγκεντρώσεων που πρέπει να χρησιμοποιηθούν στον κυρίως έλεγχο. Συμπληρωματικά με τη σειρά ελέγχου πρέπει να διεξαχθεί και ένας έλεγχος συγκρίσεως με τις τυχόν βοηθητικές ουσίες χωρίς όμως την ελεγχόμενη ουσία.

Οι *Daphnia* εκτίθενται στην ουσία όπως περιγράφεται παρακάτω:

Διάρκεια:

24 ώρες τουλάχιστον.

Αριθμός ζώων:

20 τουλάχιστον ζώα για κάθε συγκέντρωση, μοιρασμένα κατά προτίμηση σε τέσσερες ομάδες των πέντε ζώων η καθένα ή δύο ομάδες των δέκα.

Φορτίο:

Για κάθε ζώο θα πρέπει να αντιστοιχούν τουλάχιστον 2 ml διαλύματος ελέγχου.

Συγκεντρώσεις ελέγχου:

Το διάλυμα ελέγχου πρέπει να παρασκευασθεί ομολογικά πριν την εισαγωγή των *Daphnia*, κατά προτίμηση χωρίς τη χρήση άλλων διαλυτών παρά νερού. Οι συγκεντρώσεις γίνονται σε γεωμετρική σειρά με στήλη μεταξύ τους 1,8 και θα πρέπει μαζί με τον έλεγχο συγκρίσεως να ελεγχθούν συγκεντρώσεις ικανές να δώσουν ακινητοποίηση 0 και 100 % μετά από 24 ώρες, καθώς και μια σειρά από ενδιάμεσες ακινητοκοήσεις που επιτρέπουν τον υπολογισμό της EC₅₀ για 24 ώρες.

Νερό:

Βλέπε σημείο 1.6.1.2.

Φως:

Η εναλλαγή φως - σκότος είναι προαιρετική και είναι αποδεκτό και το τέλει σκοτάδι.

Θερμοκρασία:

Η θερμοκρασία ελέγχου πρέπει να είναι μεταξύ 18 και 22 °C, αλλά για καθένα έλεγχο ελεγχριστά πρέπει να είναι σταθερή κατά ± 1,0 °C.

Για τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται ένα στατικό σύστημα, όπου τα διαλύματα ελέγχου δεν ανανεώνονται κατά την περίοδο ελέγχου.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Η ακινητοποίηση στους ελέγχους συγκρίσεως δεν πρέπει να υπερβεί το 10 % στο τέλος του ελέγχου.

Η συγκέντρωση οξύτητας στο τέλος του ελέγχου δεν πρέπει να είναι μικρότερη από 2 mg/l.

Η ομάδα των *Daphnia* ελέγχου δεν πρέπει να περιθωφεί στην επιφάνεια του νερού και ιδίως εκείνες του ελέγχου συγκρίσεως.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Αντίραστρα

1.6.1.1. Διαλύματα των ελεγχόμενων ουσιών

Αρτικά διαλύματα, της απαιτούμενης συγκεντρώσεως, παρασκευάζονται με διάλυση της ουσίας σε ακινημένο νερό ή νερό σίφωνα με το σημείο 1.6.1.2.

Αρτικά διαλύματα ουσιών με χαμηλή υδατική διαλυτότητα μπορούν να παρασκευασθούν με διασπορά σε ουσιακή υπερήχων ή, αν είναι ανάγκη, με τη χρήση οργανικών διαλυτών, γαλακτοματοποιητών ή παραρτώντων διασποράς. Όταν χρησιμοποιούνται τέτοιες βοηθητικές ουσίες, οι *Daphnia* του ελέγχου συγκρίσεως πρέπει να εκτέθουν στις ίδιες συγκεντρώσεις βοηθητικών ουσιών όπως εκείνες που χρησιμοποιούνται για τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας. Οι συγκεντρώσεις τέτοιων βοηθητικών δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 0,1 g/l.

Οι συγκεντρώσεις ελέγχου που έχουν επιλεγεί παρασκευάζονται με αρραίωση του αρχικού διαλύματος. Αν ελέγχονται υψηλές συγκεντρώσεις, η ουσία πρέπει να διαλυθεί απαθείας στο νερό αραιώσεως.

Ο έλεγχος πρέπει να διενεργηθεί χωρίς διάφωση του pH. Αν υπάρχει απόδειξη σημαντικής μεταβολής του pH, συνιστάται επανέλεγχος του ελέγχου με διάφωση του pH και αναφορά των αποτελεσμάτων που θα ληφθούν. Σ' αυτή την περίπτωση, η τιμή pH του αρχικού διαλύματος πρέπει να διαρρυθφεί στο pH του νερού αραιώσεως, εκτός αν ειδικά λόγια δεν το επιτρέπουν. Για το σκοπό αυτό προτιμώνται το HCl και το NaOH. Η διάφωση αυτή του pH πρέπει να γίνει έτσι, που να μην αλλάξει σημαντικά τη συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας στο αρχικό διάλυμα. Εάν από τη διάφωση του pH προκληθεί κάποια χημική αντίδραση ή φυσική καθίζηση της ουσίας, ο έλεγχος πρέπει να επαναληφθεί.

1.6.1.2. Νερό συντηρήσεως και αραιώσεως

Σ' αυτό τον έλεγχο μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε νερό κατάλληλο για καλλιέργεια των *Daphnia*, είτε φυσικής προέλευσης είτε από αναστάση (βλέπε προσάρτημα 1). Προς αποφυγή της αναγνώσεως της προσομοίωσης πηγ. από τον έλεγχο, συνιστάται το νερό καλλιέργειας να είναι ίδιο με το νερό του ελέγχου.

1.6.2. Σημειώσεις

- συγκεντρώσεις των τυτών βοηθητικών ουσιών (οργανικοί διαλύτες, παράγοντες διασποράς κ.λπ.),
- περιόδους φωτισμού ημερησίως,
- υψηλότερες συγκεντρώσεις από αυτές που ελέγχθηκαν, που δεν προκαλούν ακινητοποίηση μέσα στην περίοδο του ελέγχου,
- χειρωνακτικές συγκεντρώσεις από αυτές που ελέγχθηκαν, που προκαλούν ακινητοποίηση μέσα στην περίοδο του ελέγχου 100 %,
- στατιστική ακινητοποίηση στον έλεγχο συγκρίσιμος με τις βοηθητικές ουσίες και σε κάθε ελεγχόμενη συγκέντρωση, στους χρόνους παρατήρησης που έχουν υποδειχθεί (24 ώρες ή 24 και 48 ώρες),
- τιμές EC₅₀ σε καθέναν από τους χρόνους παρατήρησης που έχουν υποδειχθεί (με όριο εμπιστοσύνης 95 % αν είναι δυνατόν),
- γραφική παράσταση της καμπύλης αυτής σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση στο τέλος του ελέγχου,
- στατιστικές διαδικασίες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των τιμών EC₅₀,
- κλίση της καμπύλης σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις, αν είναι δυνατόν, στις 24 ώρες και τα όρια εμπιστοσύνης της 95 %,
- τις συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου, τιμές pH και θερμοκρασία των διαλυμάτων ελέγχου,
- αν χρησιμοποιήθηκε όσια αναφοράς, το όνομά της και τα αποτελέσματα που προέκυψαν πρέπει να αναφερθούν,
- ενδείξεις για την εκκλήρωση των κριτηρίων ποιότητας,

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, *Test Guideline 202, Decision of the Council C(81) 30 final.*
- (2) ISO *Inhibition of mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera-crustacea) ISO/6341.*
- (3) AFNOR *Inhibition of mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera-crustacea) NFT 90 301 (April 1974).*
- (4) DIN *Testverfahren mit Wasserorganismen 38412 (L1) und (L11).*

Προσάρτημα I

Νερό από ανασύσταση

Ποσότητα ενός κατάλληλου νερού αραιώσεως

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού. Το νερό πρέπει να είναι καλής ποιότητας απεσταγμένο νερό, ή ακιονιομένο νερό, με σκληρότητα μικρότερη από 5 μScm⁻¹.

Αρχικό διάλυμα

CaCl₂·2H₂O (δεν-ενδεδειγμένο σφραγισμένο) 11,76 g
 διαλύονται σε νερό και συμπληρώνεται μέχρι 1 λίτρο:
 MgSO₄·7H₂O (επεί-ενδεδειγμένο σφραγισμένο) ίδια διαδικασία: 4,91 g
 NaHCO₃ (όξινο ανθρακικό νάτριο) ίδια διαδικασία: 2,59 g
 KCl (ζωοτροφικό κάλιο) ίδια διαδικασία: 0,21 g

Λεπιδόμορφοι:

Τα διαλύματα ελέγχου δεν πρέπει να αφιζονται με φασαλίδες σάβρα.

Διατροφή:

Καθόλου.

Το pH και η συγκέντρωση οξυγόνου στον έλεγχο συγκρίσιμος και στους ελέγχους όλων των συγκεντρώσεων πρέπει να μετράται στο τέλος του ελέγχου το pH του διαλύματος ελέγχου δεν πρέπει να τροποποιείται.

Πηγή ενόσας πρέπει να ελεγχθούν σε εντελώς γυμνά κλειστά δοχεία, αρκετά μεγάλα ώστε να μην παρατηρηθεί έλλειψη οξυγόνου.

Οι Daphnia επιθεωρούνται τουλάχιστον μετά από έκθεση 24 ωρών και ξανά μετά 48 ώρες, αν ο έλεγχος έχει εκτελεστεί.

2.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Σχεδιάζεται το στατιστικό ποσοστό ακινητοποίησης για κάθε συγκέντρωση μετά από έκθεση 24 ωρών τουλάχιστον, σαν συνάρτηση της συγκέντρωσης, σε λογαριθμικό χάρτι. Γίνεται η καλύτερη προσαρμογή γραμμής στα σημεία και βλάσεται η συγκέντρωση που αντιστοιχεί σε ακινητοποίηση 50 %.

Όταν τα δεδομένα είναι αρκετά, η μέση συγκέντρωση και τα όρια εμπιστοσύνης ($p = 0,05$) μπορεί να εκτιμηθούν με τη χρήση προτύπων διαδικασιών.

Η τιμή EC₅₀ πρέπει να στρωγγυλεύεται σε ένα (ή το κού σε δύο) σημαντικό ψηφίο.

Στις περιπτώσεις που η κλίση της καμπύλης συγκεντρώσεων είναι πολύ μεγάλη για να εκτιμηθεί τον υπολογισμό της τιμής EC₅₀, είναι αρκετή μια γραφική εκτίμηση της τιμής αυτής.

Όταν δύο συνεκτιμώμενες συγκεντρώσεις με σχέση 1,8 δίνουν μόνο 0 και 100 % ακινητοποίηση, οι δύο αυτές τιμές είναι αρκετές να δείξουν την περιοχή μέσα στην οποία πέφτει η EC₅₀.

Αν παρατηρηθεί ότι η σταθερότητα ή η ομοιογένεια της ελεγχόμενης ουσίας δεν μπορεί να διατηρηθεί, αυτό θα πρέπει να αναφερθεί και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων να γίνει με προσοχή.

3.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει:

- πληροφορίες για τους οργανισμούς ελέγχου (επιστημονική ονομασία, είδος, προηγουμένη ή πατή, αποδοτικότητα προετοιμασίας, μέθοδος καλλιέργειας, περιλαμβανομένης της πατή, είδος και ποσότητα της τροφής, συχνότητα διατροφής),
- αριθμό των Daphnia που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε συγκέντρωση ελέγχου,
- κατάλογο των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν και ομοιοδότητες διαθέσιμες πληροφορίες για τη σταθερότητα της ελεγχόμενης ουσίας στις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τα διαλύματα ελέγχου,
- περιγραφή των δοχείων ελέγχου, όγκοι διαλύματος στο καθένα, αριθμός ζώων ανά δοχείο,
- αν εκτελέστηκαν χημικές αναλύσεις, τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν και τα αποτελέσματα,
- κριτική του νερού αραιώσεως και τα κυριότερα χημικά χαρακτηριστικά του,
- μεθόδους παρασκευής του αρχικού διαλύματος και των διαλυμάτων ελέγχου,

1.2.

Ορισμοί και μονάδες

Η διασπασιμότητα καθορίζεται σαν το ποσοστό DOC που καταναλώνεται σε σχέση με την ελεγχόμενη ουσία.

$$D_1 = \left[1 - \frac{C_1 - C_{300}}{C_0 - C_{300}} \right] \times 100$$

όπου:

- D_1 = διασπασιμότητα σε % DOC που καταναλώνεται σε χρόνο t
- C_0 = αρχική συγκέντρωση DOC του μέσου καλλιέργειας (mg DOC/l)
- C_1 = συγκέντρωση DOC του μέσου καλλιέργειας σε χρόνο t (mg DOC/l)
- C_{300} = αρχική συγκέντρωση DOC του τυφλού (mg DOC/l)
- C_{300} = συγκέντρωση DOC του τυφλού σε χρόνο t (mg DOC/l).

1.3.

Ουσίες αναφοράς

Η χρήση κατάλληλων χημικών ουσιών για τον έλεγχο της δραστηριότητας του εμβόλιου είναι επιθυμητή. Γι' αυτό το σκοπό μπορεί να χρησιμοποιηθεί, π.χ., η ανιλίνη, το οξικό νάτριο ή το βενζοϊκό νάτριο που παρουσιάζουν καταπόληση DOC ≥ 70 % μέσα σε 10 ημέρες, υπολογίζοντας από την ημέρα που για πρώτη φορά παρατηρείται επίπεδο βιοδιασπασιμότητας μεγαλύτερο του 10 %. Τα αποτελέσματα αυτά πρέπει να ληφθούν κατά τη διάρκεια του ελέγχου των 28 ημερών, ελλείως ο έλεγχος θεωρείται άκυρος και θα πρέπει να επαναληφθεί χρησιμοποιώντας ένα εμβόλιο που προέρχεται από διαφορετική πηγή.

1.4.

Αρχή της μεθόδου

Μια προκαθορισμένη ποσότητα της ουσίας διαλύεται σε ένα ενόργανο μέσο (θρεπτικό διάλυμα ανοργάνων, ενσχυμένο με ιννοσιτόλη και διάλυμα ουσιών βιταμινών), παρέρχοντας μια συγκέντρωση αντίστοιχη του 5 έως 40 mg DOC/l. Το διάλυμα εμβολιάζεται με μικρό αριθμό μικροοργανισμών διαφόρων ειδών και αφήζεται στους 20 έως 25 °C, στο σκοτάδι ή τουλάχιστο μόνο σε διάχυτο φως.

Η διάσπαση παρακολουθείται με αναλύσεις του DOC για μια περίοδο 28 ημερών.

Η διαδικασία ελέγχεται χρησιμοποιώντας σαν μέσο μια ουσία συγκρίσεως.

Σ' έναν παράλληλο έλεγχο που δεν περιέχει ελεγχόμενη ουσία ή ουσία συγκρίσεως πρέπει να γίνεται κι ένας τυφλός προσδιορισμός του DOC.

1.5.

Κριτήρια ποιότητας

Η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου έχει καθορισθεί από διασυγκριτικά περάσματα του ΟΟΣΑ και της ΕΟΚ.

Η χαμηλότερη συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας για την οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτή η μέθοδος καθορίζεται, κυρίως, από το όριο ανιχνεύσεως της αναλύσεως του οργανικού άνθρακα (0,5 mg C/l στην παρούσα φάση της τεχνολογίας) και τη συγκέντρωση του διαλυμένου οργανικού άνθρακα στο θρεπτικό διάλυμα.

1.6.

Περιγραφή της μεθόδου

Νερό αραιώσεως από αναδίσπαση

Ανακατεύονται 25 ml από καθένα από τα τέσσερα αρχικά διαλύματα και συμπληρώνονται με νερό μέχρι 1 λίτρο.

Αφήζεται μέχρις ότου η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου εξισωθεί με την τιμή κορεσμού με αέρα.

Το pH πρέπει να είναι $7,9 \pm 0,3$.

Το pH διορθώνεται, αν είναι ανάγκη, με NaOH (καυστικό νάτριο) ή HCl (υδροχλωρικό οξύ).

Το νερό αραιώσεως που παρασκευάζεται έτσι αφήνεται για 12 περίπου ώρες, και δεν χρειάζεται περαιτέρω αερισμό.

Το σύνολο των ιόντων Ca και Mg σε αυτό το διάλυμα είναι 2,5 mmol/l. Η σχέση των ιόντων Ca : Mg είναι 4:1 και των Na : K 10 : 1. Η συνολική αλκαλικότητα του διαλύματος είναι 0,8 mmol/l.

Οποιαδήποτε εκτροπή στην παρασκευή του νερού αραιώσεως δεν πρέπει να αλλάζει τη σύσταση ή τις ιδιότητες του νερού.

Γ. 3. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

ΒΙΟΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΒΑΣΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ OECD

1.

ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1.

Εισαγωγή

Ο σκοπός της μεθόδου αυτής είναι η μέτρηση της βιοδιασπασιμότητας υδατοδιαλυτών, μη πτητικών οργανικών ενώσεων σε ένα αερόβιο υδατικό μέσο με αρχική συγκέντρωση της ουσίας αντίστοιχη με 5 έως 40 mg DOC/l (διαλυμένου οργανικού άνθρακα ανά λίτρο). Αν η ευαισθησία στα όρια ανιχνεύσεως των αναλυτών οργανικού άνθρακα είναι προημιμή, η χρήση χαμηλότερων συγκεντρώσεων ελέγχου μπορεί να είναι κλινοκεντρική, ειδικά στις τοξικές ουσίες. Η περιεκτικότητα του οργανικού άνθρακα της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει να καθορισθεί.

Η μέθοδος έχει εφαρμογή μόνο σε εκείνες τις ελεγχόμενες οργανικές ουσίες, που για τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιούνται στον έλεγχο:

- είναι υδατοδιαλυτές, τουλάχιστον στις συγκεντρώσεις που πρόκειται να ελεγχθούν (5–40 mg DOC/l),
- έχουν εσμηνητή τέση ατμών,
- δεν δρουν παρεμποδιστικά στα βακτηρίδια,
- δεν απορροφώνται σημαντικά σε γυάλινες εκφάνσεις.

Πληροφορίες για τις σχετικές αναλογίες των κυριότερων συστατικών της ελεγχόμενης ουσίας είναι χρήσιμες για την ερμηνεία των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων, ιδίως στις περιπτώσεις εκείνες όπου τα αποτελέσματα είναι χαμηλά ή περιθωριακά.

Πληροφορίες για την τοξικότητα των χημικών ουσιών στους μικροοργανισμούς μπορεί να είναι χρήσιμες για την ερμηνεία χαμηλών αποτελεσμάτων και για την εκλογή των κατάλληλων συγκεντρώσεων ελέγχου.

1.6.1.	Αντιόξειστα				1,0 mg AK 5,0 mg AK 2,0 mg AK 5,0 mg AK
1.6.1.1.	Μερό	Αποιονισμένο ή απεσταγμένο νερό, ελεύθερο τοξικών ουσιών (ιδικά χλωκός) για γενική χρήση σαν διαλύτης. Νερό που προκύπτει από αποιονισμό με απόσταξη ή ανταλλαγή ιόντων είναι κατάλληλο. Το απεσταγμένο νερό δεν πρέπει να περιέχει περισσότερο από 10 % του οργανικού άνθρακα που εισάγεται με την ελεγχόμενη ουσία.			Παντοθενικό οξύ: Πυριδοξίνη: Κυανοκοβαλαμίνη: Φολικό οξύ: Διαλύονται και συμπληρώνονται μέχρι 100 ml με νερό (1.6.1.1). Το διάλυμα διηθείται με συνήθεις αποστειρωσές από φίλτρα μεμβράνης 0,2 μm. Αντί του διαλύματος 1.6.1.2 [στ] μπορεί να χρησιμοποιηθεί εκχύλισμα 15 mg ζύμης ανά 100 ml νερού (1.6.1.1).
1.6.1.2.	Θρεπτικό διάλυμα				Ουσίες συγκρισεως (ελέγχου) Ανάληψη (πρόσφατα απεσταγμένη), οξικό νάτριο, βενζοϊκό νάτριο. Διάλυμα χλωριούχου υδραργύρου HgCl ₂ 1 % σε νερό (1.6.1.1).
		Το θρεπτικό διάλυμα περιέχει ανά λίτρο, 1 ml από καθένα από τα ακόλουθα διαλύματα α) έως στ) σε νερό (1.6.1.1) (AK σημαίνει αντιδραστήριο αναλυτικής καθαρότητας):			
		α) KH ₂ PO ₄ (διοξένο φωσφορικό κάλιο): K ₂ HPO ₄ (όξινο φωσφορικό κάλιο): NH ₄ HPO ₄ · 2H ₂ O (δι-ένυδρο όξινο φωσφορικό νάτριο): NH ₄ Cl (ζωοτροφικό αμμώνιο): Διαλύονται και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1). Το pH πρέπει να είναι 7,2.	8,50 g AK 21,75 g AK 31,40 g AK 20,00 g AK		
		β) MgSO ₄ · 7H ₂ O (επτα-ένυδρο θεικό μαγνήσιο): Διαλύονται και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1).	22,50 g AK		
		γ) CaCl ₂ (ζωοτροφικό ασβέστιο): Διαλύονται και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1).	27,50 g AK		
		δ) FeCl ₃ · 6H ₂ O (έξα-ένυδρο τριχλωριούχος σίδηρος): Διαλύονται και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1). Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται αμέσως πριν από τη χρήση του.	0,25 g AK		
		ε) Διάλυμα ιγνοστοιχείων MnSO ₄ · 4H ₂ O (II) (τετρα-ένυδρο θεικό μαγγάνιο): H ₂ BO ₃ (βορικό οξύ): ZnSO ₄ · 7H ₂ O (επτα-ένυδρο θεικός γαδολίνιο): (NH ₄) ₂ MoO ₇ · 2H ₂ O (= 36,85 mg (NH ₄) ₂ MoO ₇ · 4H ₂ O) [μολυβδικό αμμώνιο (vii)]: Fe-χλωρίδιο (FeCl ₃ · EDTA): Διαλύονται και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1). Η απεστείρωση του αρχικού διαλύματος ιγνοστοιχείων γίνεται στους 120 °C, υπό 2 atm., επί 20 λεπτά.	39,9 mg AK 57,2 mg AK 42,8 mg AK 34,7 mg AK 100 mg AK		
		στ) Διάλυμα βιταμινών Βιοτίνη: Νικοτινικό οξύ: Θεαμίνη: P-αμινοβενζοϊκό οξύ:	0,2 mg AK 2,0 mg AK 1,0 mg AK 1,0 mg AK		
1.6.1.3.					
1.6.1.4.					
1.6.2.	Συνταγή				
1.6.2.1.		Συνεκτική αναταράξεως που παίρνει κωνικές φιάλες (Erlenmeyer) 2 λίτρων είτε με αυτόματο έλεγχο θερμοκρασίας είτε σ' ένα δωμάτιο σταθερής θερμοκρασίας (20 έως 25 °C).			
1.6.2.2.		Κωνικές φιάλες 2 λίτρων με στενό στόμιο (συνιστώνται φιάλες με πτυγές ή ραβδώσεις). Οι φιάλες πρέπει να καθαριστούν προσεκτικά πριν από τη χρήση, π.χ. με αλκοολικό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος, να ξεπλυθούν και να ξηραθούν, ούτως ώστε να αποφευχθεί μόλυνση από κατάλοιπα προηγούμενων ελέγχων. Οι φιάλες πρέπει να καθαρισθούν επίσης και πριν από την πρώτη τους χρήση γιατί μπορεί να είναι ήδη μολυσμένες.			
1.6.2.3.		Συνεκτική διηθήσεως με μεμβράνη.			
1.6.2.4.		Φίλτρα μεμβράνης 0,2 μm.			
1.6.2.5.		Αναλυτής άνθρακας.			
1.6.3.	Προετοιμασία εμφύλου				
		Ομοιάστε από τις ακόλουθες τέσσερις πιπές μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν εμφύλιο, του οποίου η ζωτικότητα ελέγχεται με τη χρήση μιας ορισμένης ουσίας ελέγχου (1.6.1.3).			
1.6.3.1.		Εμφύλιο από δευτερογενή λύματα			
		Το εμφύλιο λαμβάνεται κατά κρίση από δευτερογενή λύματα καλής ποιότητας, που συλλέγονται από μία εγκατάσταση βιολογικού καθαρισμού, που δέχεται κυρίως αστικά λύματα. Τα συλλεγμένα λύματα μέχρι τη χρήση τους πρέπει να συντηρούνται υπό συνθήκες αερόβιες. Για την προετοιμασία του εμφύλου το δείγμα διηθείται από σκληρό φίλτρο και τα πρώτα 200 ml απορρίπτονται. Το δείγμα συντηρείται υπό συνθήκες αερόβιες μέχρι τη χρήση του. Το εμφύλιο πρέπει να χρησιμοποιηθεί κατά την ημέρα της συλλογής του.			

Αν παρατηρηθεί κατάσταση ισορροπίας πριν από την 28η ημέρα, ο έλεγχος μπορεί να σταματήσει. Αν η διάσπαση αρχίσει την 28η ημέρα αλλά δεν κληθείσει την κατάσταση ισορροπίας, θεωρείται «κακή πρακτική η επέκταση του περιβάματος για μία έως δύο εβδομάδες περισσότερο».

Όλα τα στάδια απαιτούν εξαιρετική προσοχή και πρέπει να είναι σίγουρη η καθαρότητα (όχι ακουστίραση) των δοχείων, σφονών κλπ.

Προεδρισμοί DOC

Τα φίλτρα μεμβράνης είναι κατάλληλα, εφόσον διαπιστωθεί ότι ούτε ελευθερώνουν άνθρακα ούτε προσροφούν την ουσία στο στάδιο της διηθήσεως.

Αν τα δείγματα ψυροκνέρονται, η ψυροκνέτριση πρέπει να γίνει για 15 λεπτά σε 40 000 ml⁻¹ (- 4 000 g), κατά προτίμηση σε ψυθόμενη ψυθόκνέτρο και εν πάση περιπτώσει < 40 °C.

Σημείωση: η διαφοροποίηση TOC:DOC κατά τη ψυροκνέτριση δεν φαίνεται να είναι επιτυχής για πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, επειδή είτε δεν απομακρύνονται όλα τα βακτηρίδια ή άνθρακας σαν μέρος του κλάσματος των βακτηριδίων εσκανδαλιάζεται. Για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (> 10 mg C/l) και το ίδιο μικρό εμβόλιο, το λάθος ψυροκνέτρισεως φαίνεται να είναι συγκριτικά μικρό.

Το δείγμα που εξάγεται από το μέσο καλλιέργειας (περίπου 30 ml) ψυροκνέτριται ή διηθείται ούτως ώστε να αποκτήσει διηθήσεως (1.6.2.3) με χρήση των φίλτρων μεμβράνης σύμφωνα με το 1.6.2.4. Τα πρώτα 20 ml του διηθήματος απορρίπτονται.

Η συγκέντρωση του DOC προσδιορίζεται εις διπλούν στο δείγμα που απομένει (περίπου 10 ml) σε αναλυτή TOC/DOC (1.6.2.5). Αν το δείγμα δεν μπορεί να αναλυθεί την ίδια ημέρα, πρέπει να διατηρηθεί σύμφωνα με το 1.6.4.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Τα αναλυτικά αποτελέσματα καταγράφονται στη συνημμένη έντυπη σελίδα (προσάρτημα 1) και οι τιμές της βιοδραστικότητας υπολογίζονται σύμφωνα με το σημείο 1.2.

Οι συγκεντρώσεις του DOC υπολογίζονται στο κλάσματο 0,1 mg/l. Οι μέσες τιμές του D₁ απορροφούνται στον κλαστικότερο ακέραιο επί τρις εκάτω.

Η κορεία της διασπάσεως ακολουθείται γραφικώς σε διάγραμμα, όσως φαίνεται στο σημειωμένο παράδειγμα (προσάρτημα 2).

Τα αποτελέσματα του ελέγχου διασπάσεως είναι έγκυρα αν κληρούνται οι ακόλουθες συνθήκες:

ότι στην ίδια σειρά ελέγχου, η ουσία συγκρίσεως παρουσιάζει μείωση του DOC της τάξεως του > 70 % μέσα σε 10 ημέρες, αρχίζοντας από την ημέρα του παρατηρήθηκε για πρώτη φορά επίκεδο βιοδραστικότητα υπερβαίνουν το 10 %. Το αποτέλεσμα αυτό πρέπει να ληφθεί μέτα στη διάρκεια των 28 ημερών του ελέγχου, αλλιώς όλη η σειρά απορρίπτεται.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΗΣ

Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει:

— τα δεδομένα που πρέπει να αναφέρονται σύμφωνα με την έντυπη σελίδα (προσάρτημα 1).

1.6.3.2. Εμβόλιο από χώμα

100 g χώματος (γρήνο, όχι άρνο) εμφορτώνται σε 1 000 ml πόσιμου νερού χωρίς χλώριο (χώματα με μεγάλη περιεκτικότητα σε άργιλλο, σε άμμο ή σε οργανικό άνθρακα είναι ακατάλληλα). Αφού αναθεωθεί καλά, το αώρημα αφήνεται να καθιζάνει για 30 λεπτά.

Το υπερκείμενο υγρό διηθείται από σκληρό χάρτινο φίλτρο και τα πρώτα 200 ml απορρίπτονται. Το δείγμα αφιέρται εμφορτά και ο αερισμός συνεχίζεται μέχρι τη χρήση του. Το εμβόλιο πρέπει να χρησιμοποιηθεί κατά την ημέρα της συλλογής του.

1.6.3.3. Εμβόλιο από επιφανειακά νερά

Ένα εμβόλιο μπορεί να παραχθεί από ένα κατάλληλο επιφανειακό νερό. Το δείγμα διηθείται από σκληρό χάρτινο φίλτρο και τα πρώτα 200 ml απορρίπτονται. Το δείγμα συντηρείται αερόβια μέχρι τη χρήση του. Το εμβόλιο πρέπει να χρησιμοποιηθεί κατά την ημέρα της συλλογής του.

1.6.3.4. Σύνθετο εμβόλιο

Ίσοι όγκοι από τα τρία δείγματα εμβολίων ανακατεύονται καλά και το τελικό εμβόλιο εξάγεται από το μέγμα αυτό.

Η κατάλληλότητα του εμβολίου ελέγχεται με τη χρήση μιας ορισμένης ουσίας ελέγχου (1.6.1.3).

1.6.4. Διαδικασία ελέγχου

Οι ελεγχόμενες ουσίες εκτιμώνται συγχρόνως, εις διπλούν, μαζί και με μια ουσία συγκρίσεως (1.6.1.3). Ένας τυφλός έλεγχος σύγκρισης με εμβόλιο αλλά χωρίς ελεγχόμενη ουσία ή ουσία συγκρίσεως και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του DOC σαν τυφλό πείραμα διεξάγεται επίσης.

Παρασκευάζεται ένα αρχικό διάλυμα της ελεγχόμενης ουσίας σε νερό (1.6.1.1). Ένας όγκος του αρχικού αυτού διαλύματος προστίθεται στο θρακτικό διάλυμα (1.6.1.2), ούτως ώστε να επιτυχθεί μια συγκέντρωση άνθρακα 5 έως 40 mg DOC/l. Η ουσία συγκρίσεως (1.6.1.3) ελέγχεται σε μια αρχική συγκέντρωση που αντιστοιχεί σε 20 mg DOC/l.

900 ml θρακτικό διαλύματος τοποθετούνται σε δύο φιάλες αντιδράσεως (1.6.2.2) και εμβολιάζονται με 0,5 ml/l εμβολίου (1.6.3). Το άνωγμα των φιαλών καλύπτεται, π.χ. με φύλλο αλουμινίου, ούτως ώστε η ανταλλαγή αέρα της φιάλης και της ατμόσφαιρας να μην εμποδίζεται (το βαμβάκι είναι ακατάλληλο λόγω της ανάλωσής του). Εν συνεχεία οι φιάλες εισάγονται στη συσκευή αναταράξεως. Η θερμοκρασία των 20 έως 25 °C πρέπει να διατηρηθεί σταθερή κατά τη διάρκεια του ελέγχου και οι φιάλες πρέπει να προφυλάσσονται από το φως. Ο αέρας πρέπει να μην περιέχει ρύπους και τοξικές ουσίες (χλωριωμένους διαλύτες κλπ.).

Κατά την κορεία του ελέγχου βιοδραστικότητας γίνονται προσδιορισμοί DOC εις διπλούν την πρώτη ημέρα και την 27η και 28η ημέρα. Τρεις τουλάχιστον πρόσθετες αναλύσεις (γύρω στην έβδομη, την 14η και την 21η ημέρα) πρέπει να εκτελεστούν για την παρακολούθηση της κορείας της διασπάσεως.

Για κάθε προσδιορισμό πρέπει να εξεχθούν μόνο οι απαραίτητοι όγκοι του μέσου καλλιέργειας. Η ψυροκνέτριση ή η διήθηση από φίλτρο μεμβράνης, που κορηθεί από τον κορίως προσδιορισμό του άνθρακα, απαιτεί διαφορετικούς όγκους υγρού αναλύσεως με τη σκευή. Ακόμα και λόγω εξαιρέσεως του μέσου καλλιέργειας πρέπει να αποκαθαριώνται με προσθήκη των απαιτούμενων ποσοτήτων νερού (1.6.1.1). Το μέσο καλλιέργειας πρέπει να αναμιχθεί καλά πριν από την εξαγωγή του δείγματος. Το υλικό που προσκολλάται στα τοιχώματα του δοχείου πρέπει να διαλυτοποιηθεί ή να τρέξει σε σωήριση πριν τη διηθητικότητα. Η διήθηση από μεμβράνη ή ψυροκνέτριση πρέπει να γίνει ομίσως. Τα δείγματα ή ψυροκνέτριμένα δείγματα πρέπει να αναλυθούν την ίδια ημέρα, αλλιώς πρέπει να συντηρηθούν είτε με προσθήκη 0,05 ml διαλύματος HgCl₂ (1.6.1.4) για κάθε 10 ml του μέσου καλλιέργειας ή με ψύξη ή τους στους 2 έως 4 °C για 24 ώρες ή στους -18 °C για μακρότερες περιόδους.

- την κορία του ελέγχου διασασμότητας που να ανακαρίσταται γραφικά με ένα διάγραμμα που δείχνει τη φάση καθυστέρησης, τη φάση διάσασμης, την κλίση και τον χρόνο-παράθυρο («χρόνος-παράθυρο» εδώ σημαίνει ένα χρονικό διάστημα 10 ημερών που αρχίζει την ημέρα όπου το παρατηρούμενο επίπεδο διασασμότητας κατ' αρχήν φθάνει το 10 %),
- απόδειξη της εγκυρότητας του ελέγχου (ουσία συγκρίσιως ≥ 70 % μείωση του DOC σε 10 ημέρες, αρχίζοντας από την ημέρα που η διάσασση υπερβαίνει το 10 %, και ότι το αποτέλεσμα αυτό λήφθηκε μέσα στη διάρκεια των 28 ημερών του ελέγχου).

3.2.

Ετήμνητα των αποτελεσμάτων

Λόγω της ανατορότητας του ελέγχου αυτού, ένα χαμηλό αποτέλεσμα δεν σημαίνει απαραίτητα ότι η ελεγχόμενη ουσία δεν είναι βιοδιασάσιμη σε συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά ότι θα χρειαστεί περυσσότερη δουλειά για τον καθορισμό της βιοδιασασμότητας της.

Ελεγχόμενες χημικές ουσίες που δείχνουν υψηλή μείωση DOC στον έλεγχο αυτό, θα πρέπει να θεωρηθούν εύκολα βιοδιασάσιμες, με την προϋπόθεση ότι το επίπεδο αυτό επιτεύχθηκε μέσα σε διάστημα 10 ημερών, υπολογίζοντας από την ημέρα που παρατηρήθηκε για πρώτη φορά επίκεδο βιοδιασασμότητας μεγαλύτερο από 10 %.

4.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 301E, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Gerike P., Fischer W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety* Vol. 3, No 2, 1979, p. 159-173.
- (3) Gerike P., Fischer W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests II. Additional results and conclusions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* vol. 5, No 1, 1981, p. 45-55.

Προσάρτημα 1

Βιοδιασασμότητα: Τροποποιημένος βεβαιός έλεγχος του OECD

Εργαστήριο ελέγχου:

Ελεγχόμενη ουσία:

Πόρμα αριθ.:

Δεδομένα ελέγχου

Θεωρητική συγκέντρωση: mg/l DOC

Προσάρτημα 2

Φάση ελεγχ.	Συντελεστής DOC μετά από x ημέρες (mg/l)	0 (C ₀)		
			1	2
Έλεγχος: Θεωρητικό διάγραμμα με ελεγχόμενη ουσία και με εμπόδιο	b ₁			
	b ₂			
	$C_{(x)} = \frac{b_1 + b_2}{2}$			
2	b ₁			
	b ₂			
	$C_{(x)} = \frac{b_1 + b_2}{2}$			
3	b ₁			
	b ₂			
	$C_{(x)} = \frac{b_1 + b_2}{2}$			

Τηλέ: Θεωρητικό διάγραμμα χωρίς ελεγχόμενη ουσία αλλά με εμπόδιο

Αξιολόγηση ανατορότητας δεδομένων

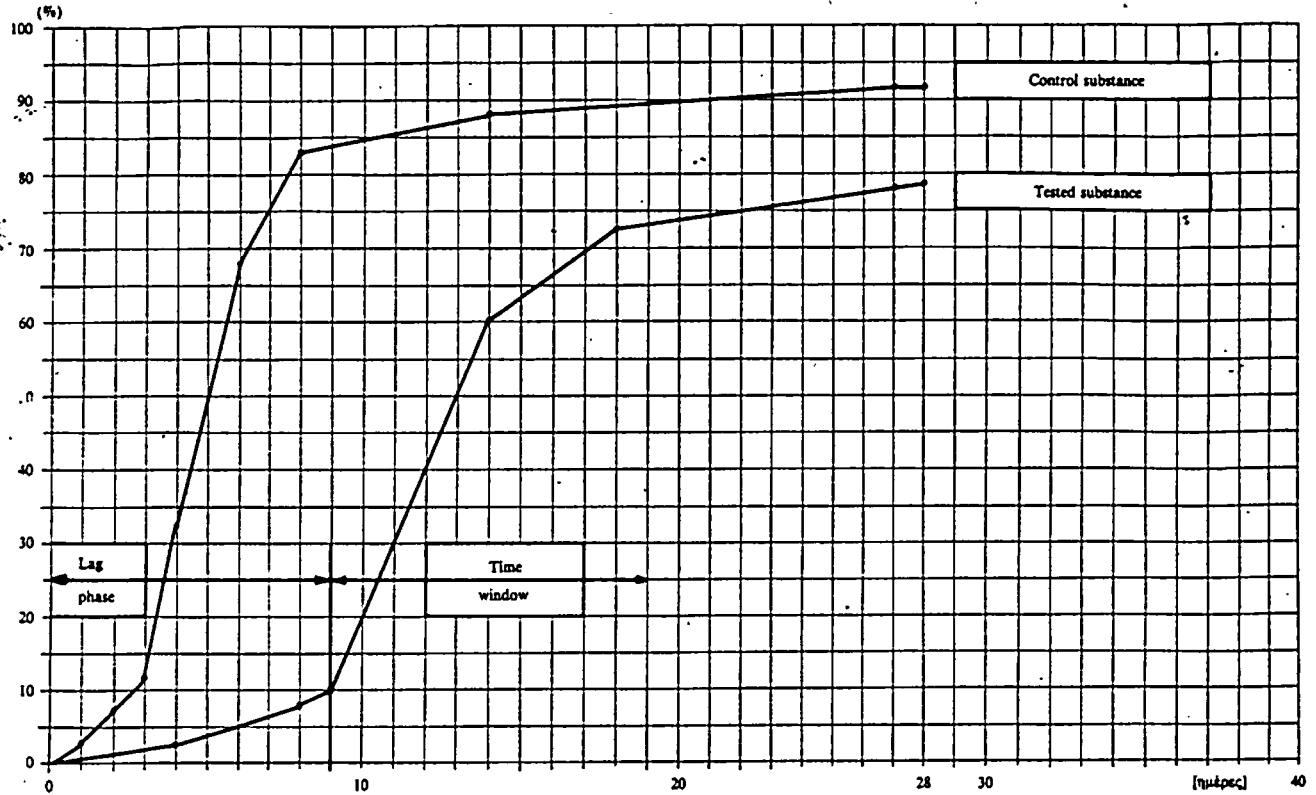
Φάση ελεγχ.	Υπολογισμός των αποτελεσμάτων	% κατακλιση DOC μετά από x ημέρες		
		0	1	2
1	$D_1 = \left(1 - \frac{C_{(x)} - C_{(0)}}{C_0 - C_{(x)}}\right) \times 100$	0		
2	$D_2 = \left(1 - \frac{C_{(x)} - C_{(x)}}{C_0 - C_{(x)}}\right) \times 100$	0		
Μέσος όρος	$D_i = \frac{D_1 + D_2}{2}$	0		

(*) Ο μέσος όρος των τιμών D₁ και D₂ δεν πρέπει να εξετασθεί αν υπάρχει μετατόπιση μιας σημαντικής διαφοράς.

Προσάρτημα 2

Τροποποιημένος βασικός έλεγχος του OECD

Εργαστήριο ελέγχου: Κατανάλωση DOC Ελεγχόμενη ουσία: Πείραμα αριθ.:



Βιοδιαθεσιμότητα: Τροποποιημένος βασικός έλεγχος του OECD (Ένωση σελίδα)

Εργαστήριο ελέγχου:
 Διαθέσιμος της έρευνας:
 Ημερομηνία ενάρξεως του ελέγχου: Πείραμα αριθ.:
 Ελεγχόμενη ουσία:
 Χημική σύνταξη:

Αρχικό διάλυμα:	mg/l	mg/l TOC (*)	mg/l DOC (**)
Συγκεντρώση ελεγχόμενης ουσίας			

(*) Αποφωσμένα μεταξύ των τιμών DOC και TOC συνηγορεί για μικτερή διαλυτότητα της ελεγχόμενης ουσίας.
 (**) Όλες οι τιμές DOC που προσδιορίσθηκαν μετά από διήθηση από φίλτρο μεμβράνης ή φυγοκέντρηση.

Αναλυτής άνθρακα:
 Εμπόδιο:

Αποτέλεσμα ελέγχου

D_1 = % κατανάλωση DOC μετά από ημέρες

Αξιολόγηση του αποτελέσματος

Ουσία συγκρίσιμος:

Αποτέλεσμα: % κατανάλωση DOC μετά από ημέρες.

Αναφορά στο πείραμα έρευνας:
 Παρατηρήσεις:

Ημερομηνία: Υπογραφή:

Γ. 4. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

ΒΙΟΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΛΓΝΟΡ ΝF T 90/302

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Εισαγωγή

Σκοπός της μεθόδου είναι η μέτρηση της βιοδιασπασιμότητας υδατοδιαλυτών, μη κητηκίων οργανικών ενώσεων, σε ένα αερόβιο, υδαρές μέσο και για αρχική συγκέντρωση ελέγχου αντίστοιχη με 40 mg DOC/l (διαλυμένος οργανικός άνθρακας ανά λίτρο). Αν τα όρια ευαισθησίας των αναλυτών οργανικού άνθρακα είναι βελτιωμένα, αυτό είναι ελεγχόμενο για τη χρησιμοποίηση χαμηλότερων συγκεντρώσεων ελέγχου, ειδικά στην περίπτωση τοξικών ουσιών.

Πρέπει να προσδιορισθεί ο περιεχόμενος οργανικός άνθρακας στην ελεγχόμενη ουσία.

Η μέθοδος εφαρμόζεται μόνο στις οργανικές ουσίες που για τις ελεγχόμενες συγκεντρώσεις:

- είναι υδατοδιαλυτές τουλάχιστον στις συγκεντρώσεις που πρόκειται να ελεγχθούν (40 mg DOC/l),
- έχουν ασήμαντη τάση ατιμών,
- δεν παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων,
- δεν προσροφούνται σημαντικά σε επιφανείες υάλου.

Πληροφορίες για τη σχετική αναλογία των κυριότερων ανατοικών της ελεγχόμενης ουσίας θα αποβούν χρήσιμες στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων που θα ληφθούν, και ειδικότερα στις περιπτώσεις όπου τα αποτελέσματα είναι χαμηλά.

Πληροφορίες για την τοξικότητα της ουσίας για μικροοργανισμούς θα αποβούν χρήσιμες στην ερμηνεία χαμηλών αποτελεσμάτων.

Ορισμοί και μονάδες

Σαν βιοδιασπασιμότητα ορίζεται η επί τοις εκατό κατανάλωση του DOC σε σχέση με την ελεγχόμενη ουσία:

$$D_i = \left[1 - \frac{C_0 - C_{i(48)}}{C_0 - C_{i(0)}} \right] \times 100$$

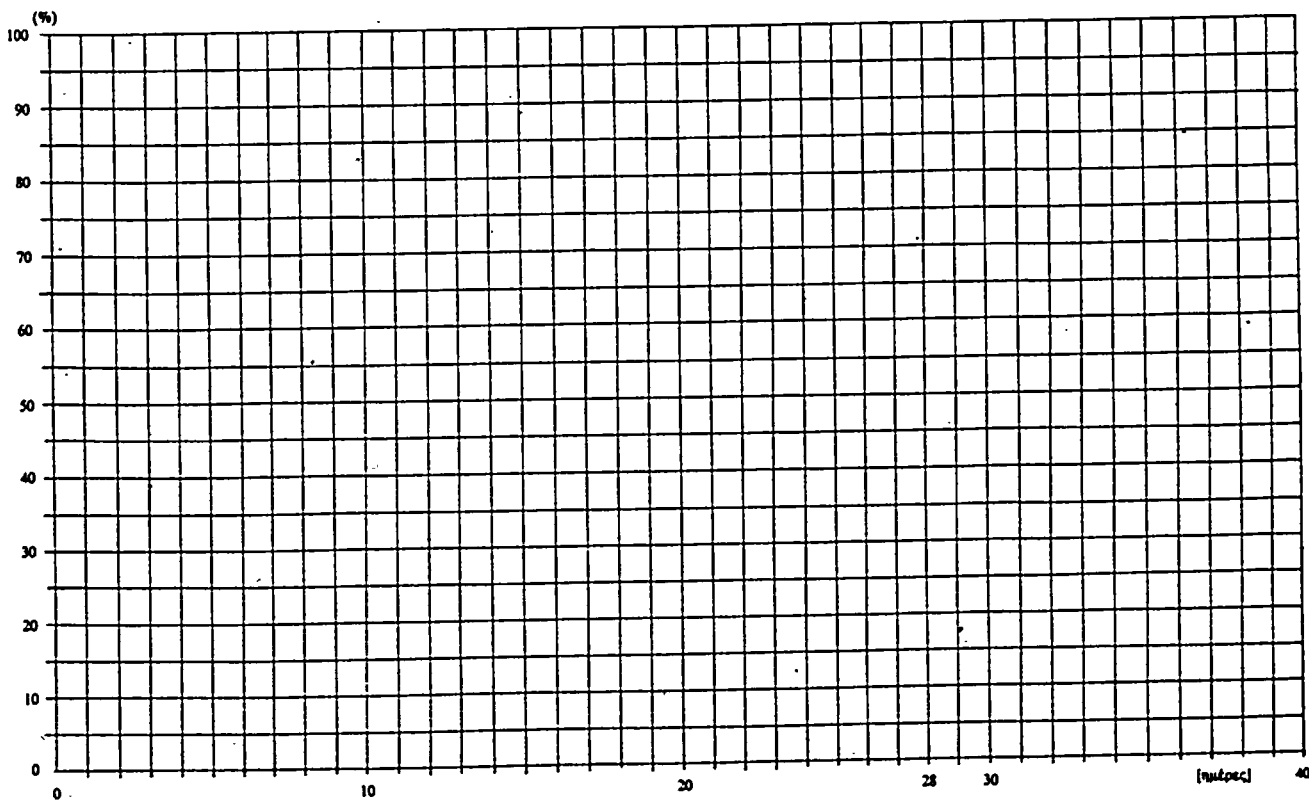
όπου:

- D_i = διασπασιμότητα, σε κατανάλωση επί τοις % ποσοστού DOC, σε χρόνο t
- C_0 = αρχική συγκέντρωση DOC του μέσου καλλιέργειας (mg DOC/l)
- C_t = συγκέντρωση DOC του μέσου καλλιέργειας, σε χρόνο t (mg DOC/l)
- $C_{i(48)}$ = αρχική συγκέντρωση DOC του τυφλού, (mg DOC/l)
- $C_{i(t)}$ = συγκέντρωση DOC του τυφλού, σε χρόνο t (mg DOC/l).

Τροποποιημένος βασικός έλεγχος του OECD

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πείραμα αριθ.:

Κατανάλωση DOC



- 1.3. **Ουσίες αναφορές**
Είναι εκδιμητή η χρήση ουσιών συγκρίσεως (ελέγχου) για τη διαπίστωση της δραστηριότητας του εμβόλου.
- Η ανάλυση του οξικού νατρίου ή το βενζοϊκό νάτριο, κ.λ., μπορούν να χρησιμοποιηθούν γι' αυτό το σκοπό και αυτές πρέπει να προκαλέσουν κατανώσεις DOC $\geq 70\%$ μέσα σε 28 ημέρες, αλλιώς ο έλεγχος θεωρείται άκυρος και πρέπει να επαναληφθεί με χρήση εμβόλου από άλλη πηγή.
- Σ' αυτή τη συγκεκριμένη μέθοδο, χρησιμοποιείται ειδικά η γλυκόζη για τον έλεγχο παρεμποδίσσεως της αναπτύξεως βακτηριδίων και της δραστηριότητας του εμβόλου, που επίσης μπορεί να ελεγχθεί με ανιλίνη, οξικό νάτριο και βενζοϊκό νάτριο.
- 1.4. **Αρχή της μεθόδου**
Οργανικές ουσίες διαλυμένες σε νερό, βιοδιασπώνται από χημειοοργανοτροφικούς μικρο-οργανισμούς, που χρησιμοποιούν τις ουσίες σαν τη μοναδική πηγή άνθρακα και ενέργειας. Τα προϊόντα αυτά εξετάζονται σαν τέτοιες συγκεντρώσεις ώστε η αρχική συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα να είναι 40 mg/l. Ο οργανικός άνθρακας που απομένει στο διάλυμα προσδιορίζεται τουλάχιστον μετά από 3, 7, 14 και 28 ημέρες. Παρόλ'αυτα η ελεγχόμενη ουσία δοκιμάζεται για πιθανή παρεμποδοτική δράση στο εμβόλιο. Η διαδικασία ελέγχεται με τη χρήση μιας ουσίας συγκρίσεως (ελέγχου).
- 1.5. **Κριτήρια ποιότητας**
Η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου έχει καθορισθεί από τα διασυγκριτικά περάσματα του ΟΟΣΑ και της ΕΟΚ.
- Η χαμηλότερη συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας, για την οποία μπορεί η μέθοδος αυτή να χρησιμοποιηθεί, καθορίζεται κυρίως από το όριο ευαισθησίας της αναλύσεως του οργανικού άνθρακα που στο σημειωμένο στάδιο της τεχνολογίας είναι 0,5 mg C/l καθώς και από τη συγκέντρωση του διαλυμένου οργανικού άνθρακα στο θρεπτικό διάλυμα.
- 1.6. **Πιπρωσκή της μεθόδου**
- 1.6.1. **Αντιδραστήρια**
Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.
- 1.6.1.1. **Λεσταταμένο νερό**
Το λεσταταμένο νερό δεν πρέπει να περιέχει περισσότερο του 10 % από τον οργανικό άνθρακα που εισάγεται με την ελεγχόμενη ουσία.
- 1.6.1.2. **Θρεπτικό διάλυμα**
Το μέσο ελέγχου παρασκευάζεται όπως δίδεται παρακάτω, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα υλικά. Για ένα λίτρο διαλύματος, τα ακόλουθα διαλύονται σε λεσταταμένο νερό (ΑΚ σημαίνει αντιδραστήρια αναλυτικής καθαρότητας):
- (NH₄)₂SO₄ (θειικό αμμώνιο): 0,300 g AK
NH₄NO₃ (νιτρικό αμμώνιο): 0,150 g AK
KH₂PO₄ (δισόξιο φωσφορικό κάλιο): 0,300 g AK
Na₂HPO₄·12H₂O (δωδεκα-ένδρο όξινο φωσφορικό νάτριο): 2,000 g AK
MgSO₄·7H₂O (επτα-ένδρο θειικό μαγνήσιο): 0,050 g AK
CaCl₂·2H₂O (δι-ένδρο χλωριούχο ασβέστιο): 0,050 g AK
Εκχύλισμα ζύμης: 0,005 g AK
Το pH είναι 7,5 ± 0,1.
- Προστίθεται 1 ml διαλύματος ιχνοστοιχείων της κατωτέρω συνθέσεως:
- FeSO₄·7H₂O (επτα-ένδρος θειικός σίδηρος (II)): 0,100 g AK
MnSO₄·H₂O (ενδρο-θειικό μαγγάνιο): 0,100 g AK
K₂MnO₄ (ισοβραδικό κάλιο): 0,025 g AK
Na₂B₄O₇·10H₂O (τετρα-ένδρο τριβασικό νάτριο): 0,025 g AK
Co(NO₃)₂·6H₂O (έξα-ένδρο νιτρικό κοβάλτιο (II)): 0,025 g AK
CuCl₂·2H₂O (δι-ένδρος χλωριούχος χαλκός): 0,025 g AK
ZnCl₂ (χλωριούχος ψευδάργυρος): 0,025 g AK
NH₄VO₃ (μεταβανταδικό αμμώνιο): 0,010 g AK
Λεσταταμένο νερό μέχρι 100.
- (Το διάλυμα ιχνοστοιχείων μπορεί να συντηρηθεί επί ένα μήνα σε θερμοκρασία μεταξύ + 1 και + 4 °C).
- Ο όγκος συμπληρώνεται (μέχρι 1 λίτρο) και ανακατεύεται. Το μέσο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μέσα σε 12 ώρες.
- Ουσίες συγκρίσεως (έλεγχου)
- Ανιλίνη (πρόφατα ακεσταταμένη), οξικό νάτριο, βενζοϊκό νάτριο, γλυκόζη.
- Σησκευή
- Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός και:
- συσκευή για την ανάδραση οργανικού άνθρακα,
 - φασματοφωτόμετρο,
 - φυγόκεντρος 4 000 g.
 - συσκευή αναταράξεως που επιτρέπει επαρκή αερισμό και ανατάραξη,
 - συσκευή αναλύσεως διαλυμένου οξυγόνου, πεζόμετρο, κωνικές συσκευές 500 ml με ευρύ στόμιο, αποστειρωμένες,
 - συσκευή για διήθηση υπό συνθήκες αποστειρώσεως (φίλτρα μεμβράνης, με πόρους των 0,22 μm).
- Ο γυάλινος εξοπλισμός πρέπει να καθαριστεί πολύ καλά και να είναι απολύτως ελεύθερος από κάθε ίχνος οργανικής ή τοξικής ουσίας.
- Παρασκευή του εμβόλου
- Λαμβάνεται ένας επαρκής όγκος από το μείγμα τριών δεγμάτων από επιφανειακά ύδατα με ρύπανση και

Τα υπερκείμενα υγρά συλλέγονται για ανάλυση οργανικού άνθρακα σε χρόνο 0.

Οι φιάλες τοποθετούνται στη συσκευή αναταράξεως, όπου και αφήνονται καθ' όλη τη διάρκεια του ελέγχου: η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου κατά την τρίτη ημέρα στη φιάλη 3 πρέπει να είναι τουλάχιστο 5 mg/l.

Κατά τον ίδιο τρόπο με την ανάλυση οργανικού άνθρακα σε χρόνο 0, εκτελείται ανάλυση στις φιάλες αριθ. 1, 2, 3, 6 και 7 τουλάχιστον μετά από 3, 7, 14, 28 ημέρες εκπόσεως. Πάντως, αν η μείωση του περιεχόμενου άνθρακα πλησιάζει το 95 % της αρχικής περιεκτικότητας στις φιάλες αριθ. 1, 2 και 3, ο έλεγχος θεωρείται τελεωμένος.

Ο έλεγχος μπορεί να τελειώσει πριν από την 28η ημέρα αν παρατηρηθεί νοτίτερα κατάσταση ισορροπίας.

Αν μία διάσπαση φαίνεται να αρχίζει την 28η ημέρα, αλλά δεν πλησιάζει μια κατάσταση ισορροπίας, θεωρείται καλή πρακτική η επέκταση του περιόριστου για μία έως δύο εβδομάδες περισσότερο.

Στο τέλος του ελέγχου, εκτελείται και μια ανάλυση οργανικού άνθρακα στη φιάλη αριθ. 4, κατά τον ίδιο τρόπο όπως σε χρόνο 0, και ελέγχονται οι συνθήκες αποστείρωσης, εμβολιάζοντας υγρό μέσο καλλιέργειας μέσα σε σωλήνα, το οποίο και εκωάρει για πέντε ημέρες στους 25 °C.

Μέσο καλλιέργειας:

Αφυδατωμένο εκχύλισμα ζύμης	3 g
Πεντόνη παγκρεατικής καζείνης	6 g
Νερό	1 000 ml.

Τα συστατικά του εντέλους σφραγισμένου προϊόντος διαλύονται σε νερό που βράζει. Αν είναι απαραίτητο, το pH ρυθμίζεται ούτως ώστε μετά την αποστείρωση να είναι $7,2 \pm 0,2$ στους 20 °C.

Αν οι αναλύσεις του οργανικού άνθρακα πρέπει να αναβληθούν, τα υπερκείμενα υγρά φυλάγονται στους 4 °C, στο σκοτάδι, σε ερμητικά σφραγισμένες γυάλινες φιάλες: η μέγιστη αποδεκτή διάρκεια φυλάξεως είναι 24 ώρες. Αν οι αναλύσεις δεν μπορεί να εκτελεστούν σε 24 ώρες, τα δείγματα καταψύχονται σε θερμοκρασία χαμηλότερη από - 18 °C.

Για την εξισορρόπηση ακωλύων νερού λόγω εξάτμισης, πριν από κάθε δειγματοληψία, ελέγχεται ο όγκος του μέσου στη φιάλη και, αν είναι ανάγκη, ο όγκος συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό, αποστειρωμένο με διήθηση από φίλτρο μεμβράνης πόρων μεγέθους 0,22 μm, για την αποκατάσταση του όγκου στο μέτρο που ήταν μετά την προηγούμενη δειγματοληψία.

ΔΕΛΤΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΛΕΙΟΛΟΓΗΣΗ

Τα αναλυτικά αποτελέσματα καταγράφονται στη συνημμένη έντυπη οαλίδα (προσάρτημα 1) και οι τιμές της βιοδραστικότητας υπολογίζονται σύμφωνα με το σημείο 1.2.

Τα αποτελέσματα του ελέγχου της διασποσιμότητας είναι έγκυρα, υπό τις ακόλουθες προϋποθέσεις:

- το επίπεδο της διασποσιμότητας της γλυκόζης στη φιάλη αριθ. 5 πρέπει να είναι 80 % τουλάχιστο κατά την έβδομη ημέρα,
- στο τέλος του ελέγχου η φιάλη αριθ. 4 πρέπει να είναι ακόμη σε κατάσταση αποστείρωσης,
- η συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου την τρίτη ημέρα στη φιάλη αριθ. 5 πρέπει να είναι τουλάχιστο 5 mg/l.

Το επίπεδο βιοδραστικότητας της γλυκόζης στη φιάλη αριθ. 6 πρέπει κατά την έβδομη ημέρα να είναι 75 % τουλάχιστο αυτής που παρατηρήθηκε στη φιάλη αριθ. 5. Αν το όριο αυτό δεν προσεγγισθεί, πρέπει να υποσέβεται ότι η ελεγχόμενη ουσία που υποκείται στον έλεγχο, ασεί παρεμποδιστική δράση στην ανάπτυξη των παρόντων βακτηρίων και, ως εκ τούτου, η μέθοδος δεν είναι εφαρμόσιμη στις συγκεντρώσεις που έχουν καθορισθεί.

από το προϊόν εξόδου εγκαταστάσεως βιολογικού καθαρισμού αστικών λυμάτων, αλλαγήμένα από τους κυριότερους ειδικούς ρυκεντές. Ο αριθμός των βακτηρίων σε κάθε δείγμα πρέπει να είναι τουλάχιστον 10^8 βακτηρίδια/ml.

Τα δείγματα πρέπει να χρησιμοποιούνται για εμβολιασμό σε μια περίοδο 12 ωρών, περιλαμβανομένης και της μεταφοράς και δεν πρέπει να παραμένουν χωρίς αερισμό πάνω από 6 ώρες.

Διηθείται από χάρτινο φίλτρο για την απομάκρυνση των μεγαλύτερων αδαλύτων σωματιδίων, το διήθημα συγκεντρώνεται και διήθεται από φίλτρο μεμβράνης με πόρους μεγέθους 0,22 μm.

Εκτελείται με ένα ισοτονικό διάλυμα. Τα βακτηρίδια που ανακατεύθηκαν στο φίλτρο μεμβράνης συλλέγονται με μικρό όγκο ενός ισοτονικού διαλύματος. Ανακατεύονται καλά. Μεταίεται η απορρόφηση στα 620 nm και από αυτήν εξάγεται η συγκέντρωση βακτηρίων σε σχέση με μια πρότυπη καμπύλη, που έτσι γίνεται προγνωστικός με τη χρήση ποσοτήτων κοκκίας της *Pseudomonas fluorescens* ATCC 15453, σε στερεό μέσο. Προστίθεται ο απαιτούμενος όγκος διαλύματος για τη ρύθμιση της συγκεντρώσεως των βακτηρίων σε $(5 \pm 3) \times 10^7$ /ml. Το εμβόλιο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μέσα στην επόμενη ώρα.

1.6.4.

Διαδικασία ελέγχου

Η εκπόση πρέπει να γίνει μακριά από έντονο φως, σε ένα επωαστή θερμοκρασίας 20 έως 25 °C ακαλλιημένο από αιτιούς τοξικών ουσιών.

Παρασκευάζονται τα ακόλουθα διαλύματα:

1. Διάλυμα της ελεγχόμενης ουσίας στο μέσο ελέγχου έτσι ώστε να ληφθεί συγκέντρωση οργανικού άνθρακα 40 mg/l.
2. Διάλυμα γλυκόζης στο μέσο ελέγχου έτσι ώστε να ληφθεί συγκέντρωση οργανικού άνθρακα 40 mg/l.
3. Διάλυμα που να περιέχει στο μέσο ελέγχου τις συγκεντρώσεις ελεγχόμενης ουσίας και γλυκόζης που χρησιμοποιήθηκαν.
4. Επαρκής όγκος του μέσου ελέγχου πρέπει να υπάρχει διαθέσιμος.

Τα τέσσερα διαλύματα αναταράσσονται και αποστειρώνονται χωριστά με διήθηση από φίλτρο μεμβράνης.

Τα φίλτρα μεμβράνης είναι κατάλληλα αν είναι βέβαιο ότι ούτε ελαιθερώνων άνθρακα ούτε προσοφών την ουσία κατά το στάδιο της διήθησεως.

Όλοι οι απαραίτητοι χειρισμοί πρέπει να γίνουν υπό συνθήκες αποστείρωσεως. Κατανέμονται τα διαλύματα στις φιάλες ελέγχου (που προηγουμένως έχουν αποστειρωθεί) σύμφωνα με τα ακόλουθα:

φιάλη αριθ. 1 (έλεγχος)	150 ml διάλυμα 1
φιάλη αριθ. 2 (έλεγχος)	150 ml διάλυμα 1
φιάλη αριθ. 3 (έλεγχος)	150 ml διάλυμα 1
φιάλη αριθ. 4 (αποστειρωμένος μέτρος)	150 ml διάλυμα 1
φιάλη αριθ. 5 (μέτρος γλυκόζης)	150 ml διάλυμα 2
φιάλη αριθ. 6 (ανίχνευση παρεμποδιστικής δράσεως)	150 ml διάλυμα 3
φιάλη αριθ. 7 (τυπλό)	150 ml διάλυμα 4

Εμβολιάζονται οι φιάλες αριθ. 1, 2, 3, 5, 6 και 7 με 1,5 ml εμβόλιου και αναμεγνύονται καλά με ανατάραξη με τα χέρια.

Λαμβάνεται ένα κλάσμα 3 έως 5 ml από κάθε φιάλη.

Τα κλάσματα ψυχοκοντρώνονται επί 15 λεπτά στα 4 000 g, ενώ η θερμοκρασία διατηρείται κάτω των 26 °C.

Προσδιορισμοί άνθρακα

Μέσο καλλιέργειας	Φύλλα αριθ.	Συγκεντρώσεις DOC μετά από x ημέρες (mg/l)						
		t = 0	3	7	14	21	28 (ημέρες)	
Test	1	1 _C	1 _C	1 _C	1 _C	1 _C	1 _C	
Test	2	2 _C	2 _C	2 _C	2 _C	2 _C	2 _C	
Test	3	3 _C	3 _C	3 _C	3 _C	3 _C	3 _C	
Test mean	1-3	C ₀	C ₁	C ₁	C ₁₄	C ₂₁	C ₂₈	
Sterile control	4	4 _C	X	X	X	X	4 _C	
Glucose control	5	5 _C	5 _C	5 _C	5 _C	5 _C	5 _C	
Inhibitory control	6	6 _C	6 _C	6 _C	6 _C	6 _C	6 _C	
Blank	7	C ₀₍₀₎	C ₃₍₀₎	C ₇₍₀₎	C ₁₄₍₀₎	C ₂₁₍₀₎	C ₂₈₍₀₎	

Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Test	t = 0	3	7	24	28 (ημέρες)
$\left[\frac{1 - C_1 - C_{2(0)}}{C_0 - C_{2(0)}} \right] \times 100$	0				
Glucose control $\left[\frac{1 - \frac{5_C - C_{5(0)}}{5_C - C_{5(0)}}}{5_C - C_{5(0)}} \right] \times 100$	0				
Inhibitory controls $\left[\frac{1 - \frac{6_C - C_{6(0)}}{6_C - C_{6(0)}}}{6_C - C_{6(0)}} \right] \times 100$	0				

Εγκυρότητα:

- Διαλυμένο οξυγόνο στη φύλλα αριθ. 5, την τρίτη ημέρα: mg/l
- Βιοδιασπαιμότητα % στη φύλλα αριθ. 5, την έβδομη ημέρα: %
- Βιοδιασπαιμότητα % στη φύλλα αριθ. 6, την έβδομη ημέρα: %
- Ελέγχος ακοαταρρώσεως στη φύλλα αριθ. 4:

Σημειώσεις:

Η σύγκριση της ποσότητας αφώσεως του άνθρακα, στις φύλλες αριθ. 1, 2 και 3 αφενός και στη φύλλα αριθ. 4 αφετέρου, εκτελείται τη διαφοροποίηση των αιτιών της διασπαιμότητας που παρατηρήθηκε σύμφωνα με:

- το φυσικοχημικό μηχανισμό στη φύλλα αριθ. 4
- το φυσικοχημικό και το βιολογικό μηχανισμό στις φύλλες αριθ. 1, 2 και 3.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει όλα τα παραματρικά αποτελέσματα που αφορούν την ελεγχόμενη ουσία, την ουσία αναφοράς και τα τυπικά περιβάλλοντα.

Ιδιαίτερα πρέπει να μνημονευθούν τα ακόλουθα σημεία:

- έκταση της εξοφάνσεως του προϊόντος στη φύλλα αριθ. 4 κατά το τέλος του ελέγχου,
- οποιαδήποτε παρεμποδοιστικά φαινόμενα που παρατηρήθηκαν,
- απόδειξη εγκυρότητας.

Η πορεία του ελέγχου διασπαιμότητας φαίνεται γραφικά σε ένα διάγραμμα που δείχνει τη φάση καθυστέρησης, τη φάση της διασπαιμότητας, την κλίση και τον χρόνο-παράθυρο (εχρόνος-παράθυρο) εδώ σημαίνει το χρονικό διάστημα 10 ημερών αρχίζοντας από την ημέρα όπου το παρατηρούμενο επίπεδο διασπαιμότητας φθάνει κατ' αρχήν το 10 %).

Εργασία των αποτελεσμάτων

Λόγω της αυστηρότητας του ελέγχου αυτού, χαμηλά αποτελέσματα δεν σημαίνουν απαραίτητα ότι η ελεγχόμενη ουσία δεν είναι βιοδιασπαιμική σε συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά ότι απαιτείται περαιτέρω δουλειά για τον καθορισμό της βιοδιασπαιμότητάς της.

Ελεγχόμενες ουσίες που δίνουν υψηλό αποτέλεσμα απόλυτης DOC κατά τον έλεγχο αυτό, πρέπει να θεωρηθούν ότι βιοδιασπαιμούνται εύκολα, με την προϋπόθεση ότι το επίπεδο αυτό διασπαιμότητας επιτεύχθηκε μέσα σε 10 ημέρες, υπολογίζοντας από την ημέρα που για πρώτη φορά το επίπεδο βιοδιασπαιμότητας που παρατηρήθηκε ήταν μεγαλύτερο του 10 %.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 301A, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Gerike, P., Fischer, W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 3, No 2, 1979, p. 159 - 173.
- (3) Gerike, P., Fischer, W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests. II. Additional results and conclusions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 5, No 1, 1981, p. 45 - 55.
- (4) AFNOR: Method for the evaluation in aqueous medium of the biodegradability of so called «total» of organic products, T 90-502.

Προσάρτημα 1

Έντυπο για την τροποποιημένη μέθοδο AFNOR

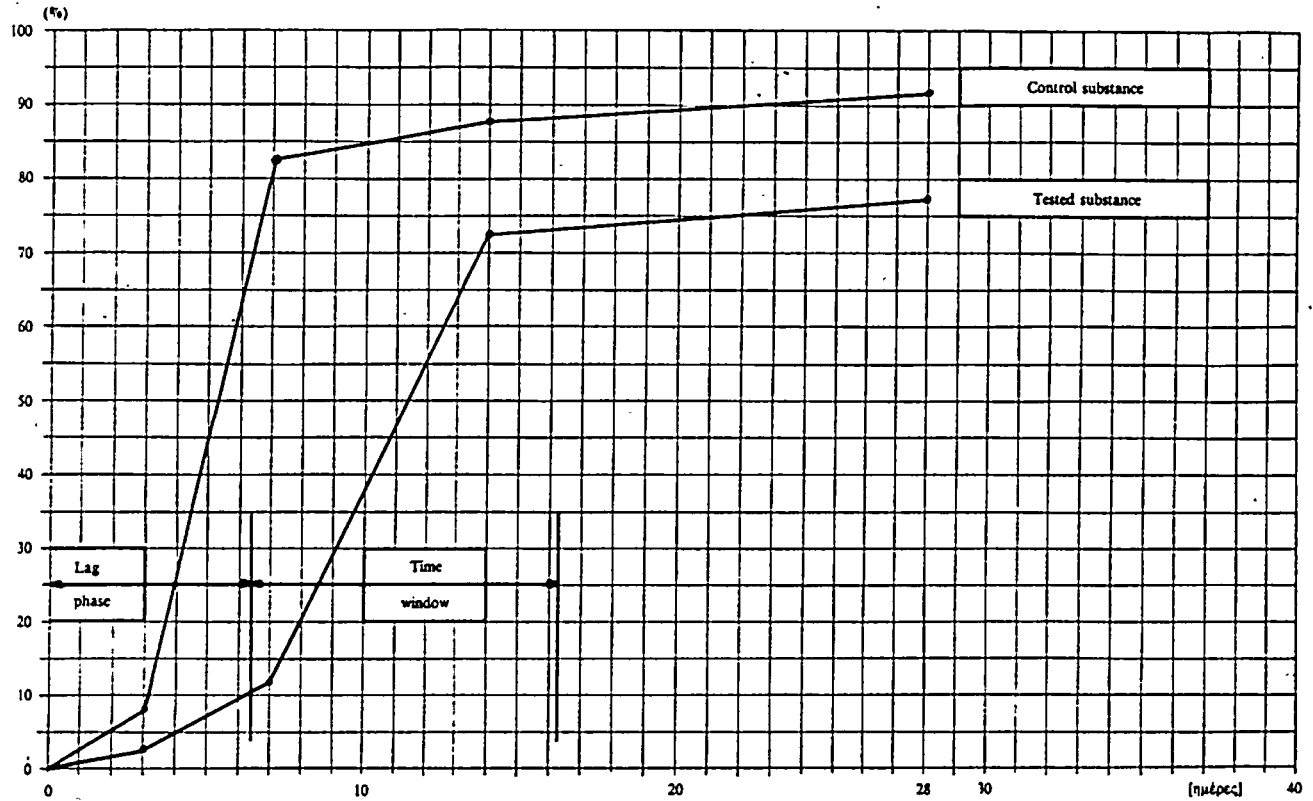
- Πείραμα αριθ.:
- Περιγραφή ενόρκως του ελέγχου:
- Ελεγχόμενη ουσία και ουσία συγκρίσεως:
- Θεωρητική συγκέντρωση ελέγχου:
- Ανάλυση άνθρακα:

Προσάρτημα 2

Τροποποιημένη μέθοδος ελέγχου AFNOR NF T 90/302

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πείραμα αριθ.:

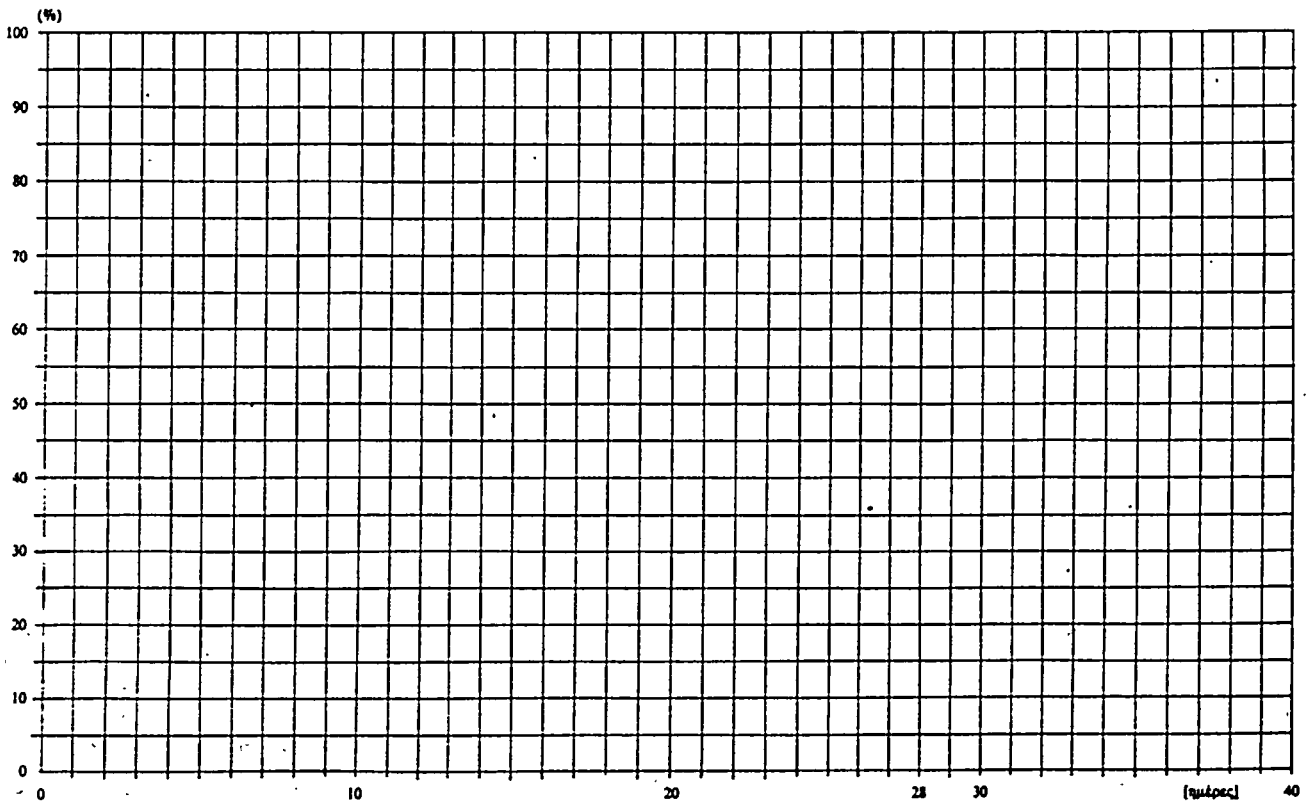
Κατανάλωση DOC



Τροποποιημένη μέθοδος ελέγχου AFNOR NF T 90/302

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πείραμα αριθ.:

Κατανάλωση DOC



Γ. 5. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

ΒΙΟΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ STURM

ΜΕΘΟΔΟΣ

1.

1.1.

Εισαγωγή

Ο σκοπός της μεθόδου είναι η μέτρηση της βιοδιασπασιμότητας των μη πτητικών οργανικών ουσιών, σε ένα αερόβιο, υδατικό μέσο, σε δύο αρχικές συγκεντρώσεις των 10 και 20 mg/l (πρότυπες συγκεντρώσεις).

Πρέπει να δίνεται η περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα του ελεγχόμενου υλικού. (Ανάλυση TOC ή εκτίμηση με χρησιμοποίηση του εμπειρικού τύπου που θα επιτρέψει τον υπολογισμό της θεωρητικής απόδοσης σε CO₂.)

Η μέθοδος είναι εφαρμόσιμη μόνον για εκείνα τα ελεγχόμενα οργανικά υλικά τα οποία στην χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση:

- έχουν αμελητέα τάση αιμών,
- δεν παρεμποδίζουν τη δράση των βακτηριδίων.

Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμόζεται τουλάχιστον κατ' αρχήν για ουσίες οι οποίες είναι λίγο διαλυτές στις συγκεντρώσεις της μεθόδου.

Πληροφορίες για τις σχετικές αναλογίες των σημαντικότερων συστατικών του ελεγχόμενου υλικού θα είναι χρήσιμες στην ερμηνεία των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων, ιδιαίτερα σε εκείνες τις περιπτώσεις όπου τα αποτελέσματα είναι χαμηλά.

Πληροφορίες για την τοξικότητα της χημικής ουσίας επί των μικροοργανισμών μπορεί να είναι χρήσιμες για την ερμηνεία των χαμηλών αποτελεσμάτων και στην εκλογή των κατάλληλων συγκεντρώσεων ελέγχου.

1.2.

Ορισμοί και μονάδες

Η διασπασιμότητα ορίζεται σαν το CO₂ που παράγεται από την ουσία, σαν το επί τοις εκατό ποσοστό του CO₂ που θα έλεγε θεωρητικά να είχε παραχθεί (απThCO₂), υπολογιζόμενο από τον οργανικό άνθρακα που περιέχεται στην ουσία.

1.3.

Ουσίες αναφοράς

Είναι επιθυμητή η χρησιμοποίηση μιας κατάλληλης χημικής ουσίας ελέγχου συγκρίσεως για τη διακρίση της θραυστικότητας του εμβόλου.

Η ανάλυση και το οξικό νάτριο ή το βενζοϊκό νάτριο μπορούν, π.χ., να χρησιμοποιηθούν για το σκοπό αυτό και θα πρέπει να παράγουν CO₂ ≥ 60 % εντός 28 ημερών. Διαφορετικά ο έλεγχος θεωρείται άεργος και θα πρέπει να επαναλαμβάνεται χρησιμοποιώντας ένα εμβόλο από διαφορετική πηγή.

1.4.

Αρχή της μεθόδου

Το ελεγχόμενο υλικό προστίθεται σε ένα χημικό καθορισμένο υγρό μέσο, που έχει εμβολιασθεί με μικροοργανισμούς λυμάτων και έχει αεριαστεί σε 20 έως 23 °C. Η θερμοκρασία καταγράφεται κατά τη διάρκεια της περιόδου ελέγχου.

Το εκλύμενο CO₂ δεσμεύεται σαν BaCO₃ και η διασπασιμότητα ακολουθείται από ανάλυση του CO₂ για περίοδο πάνω από 28 ημέρες. Μετά από αναφορά σε κατάλληλους τυφλούς έλεγχους, η ολική ποσότητα του παραγόμενου από την ελεγχόμενη ένωση CO₂ προσδιορίζεται για την περίοδο ελέγχου και υπολογίζεται σαν επί τοις εκατό ποσοστό του ολικού CO₂, που το ελεγχόμενο υλικό, βάσει της περιεκτικότητάς του σε άνθρακα, θα μπορούσε θεωρητικά να είχε παραγάγει.

Η μέθοδος ελέγχεται με τη βοήθεια μιας συγκριτικής ουσίας ελέγχου του εμβόλου (βλέπε σημείο 1.6.1.3).

1.5.

Κριτήρια ποιότητας

Η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου έχει καθοριστεί από τα διασυγκριτικά περιγράμματα του ΟΟΣΑ και της ΕΟΚ.

Η ενδογενής παραγωγή CO₂ του εμβόλου, που έχει μετρηθεί στη φάση του τυφλού πειράματος, είναι ο κύριος λόγος για τον οποίο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας μικρότερη των 5 mg/l. (Όταν η μέθοδος ελέγχου αναφέρεται σε ελεγχόμενη ουσία μαρκαρισμένη με ¹⁴C, η συγκέντρωση μπορεί να είναι πολύ μικρότερη.)

1.6.

Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1.

Αντιδραστήρια

1.6.1.1.

Νερό υψηλής ποιότητας (ΝΥΠ)

Διακτά απεσταγμένο νερό, ελεύθερο τοξικών ουσιών (ιδιαίτερα χλωρού), με μικρή περιεκτικότητα σε άθρακα (< 2,0 mg/l TOC) και ειδική αντίσταση ≥ 18 megohms.cm. Το απεσταγμένο νερό δεν θα πρέπει να περιέχει περισσότερο από 10 % οργανικό άνθρακα, που να έχει εισαχθεί με το ελεγχόμενο υλικό.

1.6.1.2.

Θρεπτικό διάλυμα

α) Αρχικό διάλυμα

FeCl₃ · 6H₂O [εξα-ένυδρος τριχλωριούχος σίδηρος (III)]:
διαλύεται και συμπληρώνεται στα 1 000 ml με νερό 1.6.1.1. 0,250 g

MgSO₄ · 7H₂O [επτα-ένυδρο θειικό μαγνήσιο]:
διαλύεται και συμπληρώνεται στα 1 000 ml με νερό 1.6.1.1. 22,50 g

CaCl₂ [χλωριούχο ασβέστιο]:
διαλύεται και συμπληρώνεται στα 1 000 ml με νερό 1.6.1.1. 27,50 g

KH₂PO₄ [διόξινο φωσφορικό κάλιο]:
8,50 g

K₂HPO₄ [όξινο φωσφορικό κάλιο]:
21,75 g

Na₂HPO₄ · 2H₂O [δι-ένυδρο όξινο φωσφορικό νάτριο]:
33,40 g

<p>NH₄Cl (χλωρίδιο αμμώνιο): διαλύονται και συμπληρώνονται στα 1 000 ml με νερό 1.6.1.1. (NH₄)₂SO₄ (θειικό αμμώνιο): διαλείεται και συμπληρώνεται στα 1 000 ml με νερό 1.6.1.1.</p> <p>β) Μέσο ελέγχο</p> <p>Το μέσο αυτό πρέπει να περιέχει τα ακόλουθα αντιδραστήρια ανά λίτρο νερού (1.6.1.1):</p> <ul style="list-style-type: none"> — 4 ml του ανωτέρω διαλύματος τριχλωροϋξου οξέως, — 1 ml του ανωτέρω διαλύματος θεικού μαγνησίου, — 1 ml του ανωτέρω διαλύματος χλωριούχου αββατίου, — 2 ml του ανωτέρω φωσφορικού διαλύματος, — 1 ml του ανωτέρω διαλύματος θεικού αμμωνίου. <p>Η τιμή του pH πρέπει να είναι pH = 7,2 ± 0,2.</p>	<p>1.6.2.3. Φιάλες απορροφήσεως CO₂</p> <p>Φιάλες απορροφήσεως με υδροξείδιο του βαρίου των 100 ml.</p>	<p>1.70 g</p> <p>40,00 g</p>	<p>1.6.2.3.</p>	<p>Φιάλες απορροφήσεως CO₂</p> <p>Φιάλες απορροφήσεως με υδροξείδιο του βαρίου των 100 ml.</p>
<p>β) Μέσο ελέγχο</p> <p>Το μέσο αυτό πρέπει να περιέχει τα ακόλουθα αντιδραστήρια ανά λίτρο νερού (1.6.1.1):</p> <ul style="list-style-type: none"> — 4 ml του ανωτέρω διαλύματος τριχλωροϋξου οξέως, — 1 ml του ανωτέρω διαλύματος θεικού μαγνησίου, — 1 ml του ανωτέρω διαλύματος χλωριούχου αββατίου, — 2 ml του ανωτέρω φωσφορικού διαλύματος, — 1 ml του ανωτέρω διαλύματος θεικού αμμωνίου. <p>Η τιμή του pH πρέπει να είναι pH = 7,2 ± 0,2.</p>	<p>1.6.1.3. Ουσίες συγκρίσεως (ελέγχου)</p> <p>Ανθίνη (ερδωφατα απεσταγμένη), οξικό νάτριο, βενζοϊκό νάτριο.</p>	<p>1.6.1.4. Υδροξείδιο του βαρίου 0,025 N (0,0125 M)</p> <p>Διαλύονται 4,0 g Ba(OH)₂·8H₂O ανά λίτρο ΝΥΠ. Δηιθώνεται διά μέσου διηθητικού χάρτου και σφραγίζεται το διαυγές διάλυμα, για να αποφευχθεί απορρόφηση CO₂ από τον αέρα. Είναι ουσία να παρασκευάζονται περισσότερο από 5 λίτρα τη φορά όταν υπάρχουν κολλές σαφές.</p>	<p>1.6.4.1.</p>	<p>Παρασκευάζεται αρχικό διάλυμα της ουσίας που πρόκειται να ελεγχθεί με διάλυση της σε νερό υψηλής κοιλότητας, συγκεντρώσεως 1 000 mg/l.</p>
<p>1.6.2.1. Συσκευή παρατηρήσεως του CO₂</p> <p>Μια σειρά από 12 carbonyls (3 ελεγχόμενα υλικά) (Σαν «carbonyls» εννοούνται εδώ γυάλινες φιάλες των 4 έως 5 λίτρων, κστανού τύπου). Εάν χρησιμοποιούνται λευκά γυάλινα δοχεία, η μέθοδος πρέπει να διεξάγεται στα σκοτεινά.)</p> <p>Τέσσερις πλαστικές φιάλες ενός λίτρου, γεμάτες με 700 ml 10 N (10 M) NaOH.</p> <p>Μια φιάλη Erlenmeyer του ενός λίτρου περιέχουσα 700 ml 0,025 N (0,0125 M) διαλύματος Ba(OH)₂.</p> <p>Μια άδεια φιάλη Erlenmeyer του ενός λίτρου για να προλαμβάνεται η μεταφορά του υγρού.</p> <p>Οι φιάλες αυτές συνδέονται σε σειρά, χρησιμοποιώντας σωληνώσεις από αδρανές υλικό προς μια πιπή κενερισμένου αέρα, και εμφυσάται αέρας με σταθερή ταχύτητα διά μέσου των διαλυμάτων παραρατη- σεως.</p> <p>Για κάθε πρόσθετη ομάδα τεσσάρων carbonyls, προστίθεται μια πρόσθετη πλαστική φιάλη του ενός λίτρου γεμάτη με 700 ml 10 N (10 M) NaOH.</p>	<p>1.6.4.2. Συσκευή παραγωγής CO₂</p> <p>Τέσσερις διαθέσιμες καστανοχρωμες carbonyls των 4 έως 5 λίτρων.</p> <p>Βόματα, εύκαμπτοι σωλήνες, πλαστικοί σωλήνες.</p>	<p>1.6.4.1.</p> <p>1.6.4.2.</p>	<p>1.6.4.1.</p> <p>1.6.4.2.</p>	<p>Αρχικό διάλυμα</p> <p>Παρασκευάζεται αρχικό διάλυμα της ουσίας που πρόκειται να ελεγχθεί με διάλυση της σε νερό υψηλής κοιλότητας, συγκεντρώσεως 1 000 mg/l.</p> <p>Τα αρχικά διαλύματα γίνονται με βάση το ποσοστό οργανικού άνθρακα στο ελεγχόμενο υλικό. Εάν η εκατοστιαία σύσταση του υλικού είναι άγνωστη, τα αρχικά διαλύματα συμπληρώνονται σε κάποια συγκέντρωση επί τη βάση βάρους. Για να ληφθεί ένα ομοιογενές δείγμα, είναι αναγκαία καλή ανάμιξη, με αποφυγή κάθε αφρισμού, που θα μπορούσε να προκαλέσει συμπύκνωση της ουσίας ελέγχου. Για στερέα δείγματα μπορεί να είναι αναγκαίο να τακούν και το σύνολο του περιεχομένου της φιάλης να αναμιχθεί πριν ληφθεί μέρος απ' αυτό. Το μέρος αυτό της διαδικασίας είναι εξαιρετικά σημαντικό γιατί οι υκολογησίοι του ποσοστού βιοδιασπασιμότητας εξαρτώνται από το πόσο υπάρχει η ουσία ποσότητα άνθρακα στο ελεγχόμενο σύστημα.</p> <p>Το pH του αρχικού διαλύματος δεν χρειάζεται να ρυθμισθεί, εκτός εάν είναι έξω από την περιοχή του 3-10 αφού θα το ελέγξει το φωσφορικό διάλυμα στο μέσο ελέγχου. Εάν το pH είναι έξω από την περιοχή αυτή, ρυθμίζεται ένα μέρος του αρχικού διαλύματος σε pH 7,0 (± 1,0) με IN (1M) HCl ή NaOH εξοφθαλίζοντας ότι το διάλυμα αναμιγνύεται καλά κατά την προσθήκη του οξέος ή της βάσεως.</p> <p>Για επιβεβαίωση της ονομαστικής συγκεντρώσεως ή του οργανικού άνθρακα της ελεγχόμενης ουσίας, το αρχικό παρασκεύασμα (ή το εξοδωτερωμένο μέρος) μπορεί να αναλυθεί για τον ολικό οργανικό άνθρακα. Μια ανάλυση TOC απαιτείται επίσης και για τον συγκριτικό έλεγχο του αρχικού διαλύματος.</p> <p>Εάν ένα ελεγχόμενο υλικό είναι αδιάλυτο στο νερό, προστίθεται η κατάλληλη ποσότητα απ' αυτό ακουθέντας στη φιάλη εμβογ με βάση το βάρος ή τον όγκο.</p> <p>Εάν το ελεγχόμενο υλικό δεν είναι διαλυτό στη συγκέντρωση του ελέγχου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ειδικές διαδικασίες, όπως η χρήση διασποράς με υπερήχους, για να επιτευχθεί μια καλή διασπορά του ελεγχόμενου υλικού.</p>

1.6.4.2. Συνθήκες

Από τη μέθοδο CO₂ χρησιμοποιείται εμπόδιο 1 %, είναι αναγκαίο να γίνουν αραιώσεις στο μέσο ελέγχου του CO₂.

Αυτό επιτυγχάνεται πολύ εύκολα όπως κατωτέρω:

- α) Σε καθεμία από τις φιάλες ελέγχου των 4 έως 5 λίτρων, προστίθενται 2 470 ml του νερού υψηλής κορύφησης (ΝΥΠ, βλ.λες σημείο 1.6.1.1).
- β) Σε καθεμία από τις φιάλες ελέγχου των 4 έως 5 λίτρων προστίθενται 3 ml από καθεμία από τα αρχικά διαλύματα θετικού εμπορίου, θετικού μεγηρίου και χλωριούχου αμμοξείου, προστίθενται 6 ml φωσφορικού αρχικού ρυθμιστικού διαλύματος και 12 ml διαλύματος τριχλωροχού οξιδίου.
- γ) Σε καθεμία από τις φιάλες ελέγχου των 4 έως 5 λίτρων, προστίθενται 30 ml από το ενεργοποιημένο εμπόδιο λάσπης.

Το μέγιστο αυτό επιμείγεται επί 24 ώρες με αέρα αεραλλογμένο από CO₂, προκειμένου να καθορισθεί το σύστημα του διοξειδίου του άνθρακα.

Μετά την περίοδο αερισμού, τρεις φιάλες απορροφησώς CO₂ γεμίζονται με 100 ml 0,025 N (0,0125 M) Ba(OH)₂ και συνδέονται σε σειρά με τη γραμμή εξόδου του αέρα από καθεμία από τις φιάλες ελέγχου carboy.

1.6.4.3. Εκτέλεση του ελέγχου

Το ελεγχόμενο υλικό προστίθεται σε δύο από τις τέσσερις φιάλες carboys και αρχίζει η περίοδος ελέγχου. Κάθε υλικό ελέγχεται σε δύο συγκεντρώσεις: 10 και 20 mg/l.

Η ποσότητα αρχικού διαλύματος του ελεγχόμενου υλικού που απαιτείται στην φιάλη carboy υπολογίζεται ως ακολούθως:

$$\text{ml του αρχικού διαλύματος ανά carboy} = \frac{B \times C}{A}$$

όπου:

B είναι η συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας στη φιάλη ελέγχου (mg/l)

A είναι η συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας στο αρχικό διάλυμα (mg/l)

C είναι ο τελικός όγκος του μέσου ελέγχου στη φιάλη carboy (ml).

Στις κατάλληλες φιάλες carboy προστίθεται αρκετό αρχικό διάλυμα μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση ελέγχου, όπως υπολογιστήκε ανωτέρω, και επακόλουθον αραιό απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 473 ml (αρχικό διάλυμα + ΝΥΠ). Στην τρίτη φιάλη carboy που χρησιμοποιείται σαν τυπικό πείραμα και δεν περιέχει ελεγχόμενο υλικό, προστίθενται 473 ml ΝΥΠ. Ο τελικός όγκος τώρα σε κάθε φιάλη είναι 1 000 ml.

Προστίθεται μια ουσία συγκέντρωσης σε συγκέντρωση 20 mg/l, στην τελευταία από τις τέσσερις φιάλες carboy.

Ο έλεγχος αρχίζει με την εμφύσηση αέρα διά μέσου του διαλύματος, αεραλλογμένου από CO₂, με ταχύτητα 50 έως 100 ml/min ανά carboy (= 1 έως 2 ψωαλλίδες/δευτερόλεπτο).

Αδιάλυτα στο νερό ελεγχόμενα υλικά μπορούν να τοποθετηθούν έληρά στη φιάλη carboy CO₂ και να αναδεύονται με μηχανικό αναδευτήρα. Για χημικές ουσίες που αφρίζουν, η εμφύσηση αέρα απαλατρεύου CO₂ μπορεί να αντικατασταθεί με αερισμό του νερού χάρου και μηχανική ανάδευση.

Το παραγόμενο CO₂ σε κάθε φιάλη αντιδρά με το υδροξείδιο του βαρίου και καταβυθίζεται σαν ανθρακικό βάριο. Η ποσότητα CO₂ που παράγεται προσδιορίζεται με τιτλοδότηση του αναοξειδωμένου Ba(OH)₂ με 0,05N (0,05M) HCl. Περιοδικά (κάθε δύο ή τρεις ημέρες) αφαιρείται ο απορροφητής CO₂ κοντά στη φιάλη carboy για τιτλοδότηση. Οι δύο απορροφητές που παραμένουν μετακινούνται ο καθένας μια θέση πιο κοντά στη φιάλη carboy και ένας νέος απορροφητής τοποθετείται στο τέλος της σειράς με 100 ml πρόσφατου 0,025 N (0,0125 M) Ba(OH)₂.

Οι τιτλοδοτήσεις γίνονται όταν χρειάζονται (πριν εμφανισθεί στη δεύτερη παγίδα ίζημα BaCO₃) κατά προσέγγιση ημέρα παρά ημέρα για τις πρώτες 10 ημέρες και κάθε πέντε ημέρες μέχρι την 28η ημέρα.

Την 27η ημέρα μετράται πάλι το pH του περιεχομένου στη φιάλη carboy και προστίθεται 1 ml πυκνού HCl σε καθεμία από τις φιάλες ελέγχου, για την απομάκρυνση ανθρακικών ανθρακικών αλάτων. Οι carboy αφρίζονται όλη τη νύχτα και λαμβάνονται δείγματα από κάθε φιάλη για ανάλυση DOC. Η τελική τιτλοδότηση γίνεται την 28η ημέρα.

Γίνονται τιτλοδοτήσεις στο διάλυμα 100 ml Ba(OH)₂ μετά την αφαίρεση των ψαλών που βρίσκονται πλησιέστερα στις carboy. Το Ba(OH)₂ τιτλοδοτείται με 0,05 N (0,05 M) HCl με δείκτη φαινολοφθαλίνη.

Η μέθοδος διεξάγεται στη θερμοκρασία δομαίου 20 έως 25 °C και η θερμοκρασία καταγράφεται κατά τη διάρκεια της περιόδου ελέγχου.

Εάν πριν από την 28η ημέρα παρατηρηθεί ένα κλατιώ, ο έλεγχος μπορεί να θεωρηθεί τελεωμένος.

Εάν προφανώς η βιοδιάσπαση έχει αρχίσει περί από την 28η ημέρα, αλλά δεν έχει φθάσει ένα πλατύ την 28η ημέρα, θεωρείται ότι είναι καλή πρακτική η παράταση του περιβάματος για μια έως δύο εβδομάδες περιασσότερο.

Προσδιορισμός CO₂

Θα μπορούσε να ληφθούν υπόψη άλλοι τρόποι μέτρησης της εκλάσεως CO₂ εκτός από την τιτλοδότηση της περισεως Ba(OH)₂ σε παγίδες. Αυτό δεν αλλάζει την αρχή της μεθόδου αυτής και είναι δυνατόν να μπορούσε να οδηγήσει σε συνεχή ανάλυση της βιοδιασπασώς όπως αυτή εξελίσσεται.

Το πρώτο βήμα στον υπολογισμό της ποσότητας του CO₂ που παράγεται είναι η διάφωση του ελεγχόμενου υλικού των ψαλών carboy για ενδογενή παραγωγή CO₂. Η carboy που συγκριτικού ελέγχου χρησιμοποιεί σαν τυπικό πείραμα για τη διάφωση του CO₂ που μπορεί να παράγεται μέσω ενδογενούς αναπνοής των βακτηριδίων. Η ποσότητα CO₂ που παράγεται από ένα ελεγχόμενο υλικό προσδιορίζεται από τη διαφορά (σε ml διαλύματος) μεταξύ του πειραματικού και του τυπικού Ba(OH)₂ των περιών.

Όταν χρησιμοποιείται 0,05 N (0,05 M) HCl στην τιτλοδότηση της φιάλης στην οποία γίνεται η απορρόφηση, κάθε ml HCl αντιστοιχεί σε 1,1 mg παραγόμενου CO₂.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ

Τα αναλυτικά αποτελέσματα καταγράφονται στο συνημμένο ειδικό φύλλο (προσάρτημα 1) και οι τιμές βιοδιασπασιότητας υπολογίζονται σύμφωνα με το σημείο 1.2.

Οι συγκεντρώσεις CO₂ υπολογίζονται στο πλησιέστερο 0,1 mg/l. Οι τιμές βιοδιασπασιότητας στρωτηγώνονται στην πλησιέστερη επί τους εκατό μονάδα.

Η πορεία του ελέγχου διασπασιότητας παρακολουθείται γραφικά σε ένα διάγραμμα, όπως φαίνεται στο συνημμένο παράδειγμα (προσάρτημα 2).

Τα αποτελέσματα του ελέγχου διασπασιότητας ισχύουν, αν πληρούνται οι ακόλουθες συνθήκες:

Προσάρτημα Ι

Ειδικό φύλλο για την τροποποιημένη μέθοδο Sturm

Πείραμα αριθ.:

Ημερομηνία ενάρξεως του ελέγχου:

Υλικό ελέγχου συγκρίσεως:

Θεωρητική συγκέντρωση ελέγχου:

Ανάλυση άνθρακα:

Θεωρητικό ThCO₂:

Περιοχή θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του ελέγχου:

Παραγωγή CO₂:

Ημέρες	Ευρέθην CO ₂ mg	Συνωφρητικό CO ₂ mg	% ThCO ₂
28			

Εγκυρότητα:

- % βιοδιασπασσιμότητα του υλικού συγκρίσεως,
- συνολικό εκλύθην ποσό CO₂ στη φάση του τυφλού.

— ότι στις σειρές του ίδιου ελέγχου το υλικό συγκρίσεως περιέχει βιοδιασπασσιμότητα $\geq 60\%$ μέσα σε 28 ημέρες (Αν δεν συμβαίνει αυτό, όλες οι σειρές απορρίπτονται και επαναλαμβάνονται με εμβόλιο από άλλη πηγή.)

— ότι δεν εκλύεται σημαντική ποσότητα CO₂ από τη φάση του τυφλού κατά τη διάρκεια του ελέγχου (μείωση του μέσου, των γυάλινων σκευών και εξαρτημάτων και του αέρα). Η συνολική έκλυση CO₂ στο τέλος του ελέγχου δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 50 mg CO₂/3 l μέσου.

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ*

3.1.

*Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει:

- τα δεδομένα που πρέπει να αναφέρονται σύμφωνα με το ειδικό φύλλο (προσάρτημα 2),
- την κορεία του ελέγχου διασπασσιμότητας που να ανακαταστάται γραφικά σε ένα γράμμα που δείχνει τη φάση καθυστέρησης, τη φάση διασπασίας, την κλίση και το χρόνο-παράθυρο (επρόνος-παράθυρο) εδώ σημαίνει ένα χρονικό διάστημα 10 ημερών που αρχίζει από την ημέρα όπου το παρατηρούμενο επίπεδο διασπασσιμότητας φθάνει κατ' αρχήν το 10 %),
- τις συνθήκες διασποράς για ουσίες που δεν είναι διαλυτές υπό τις συνθήκες του ελέγχου,
- την ένδειξη της τροποποίησης και του τόπου όπου οι οργανισμοί δειγματολήφθηκαν και της μεταχείρισής που έλαβαν πριν τον εμπλουτισμό,
- η περιοχή θερμοκρασίας που έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια της περιόδου ελέγχου,
- τον αριθμό των μικροοργανισμών ανά ml (μονάδες σιγματισμού αποικιών — ΜΕΑ/ml), εάν έχουν μετρηθεί, όπως έχει υποδειχθεί στο σημείο 1.6.2,
- απόδειξη εγκυρότητας του ελέγχου (ουσία συγκρίσεως 60 %, διασπασσιμότητα σε 28 ημέρες).

3.2.

Εξηγήσεις των αποκλισημάτων

Ένεκα της αυστηρότητας του ελέγχου αυτού, χαμηλό αποτέλεσμα δεν σημαίνει ότι η ελεγχόμενη ουσία δεν είναι βιοδιασπασίμη υπό συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά δείχνει ότι χρειάζεται περισσότερη δουλειά για να αποδειχθεί αυτό.

Χημικές ουσίες που δίνουν υψηλό αποτέλεσμα βιοδιασπασσιμότητας στον έλεγχο αυτό πρέπει να θεωρούνται σαν εύκολα βιοδιασπασίμες, αρκεί να φθάσουν σ' αυτό το αποτέλεσμα εντός 10 ημερών από την ημέρα που η στάθμη βιοδιασπασσιμότητας ξεκρίσει για πρώτη φορά το 10 %.

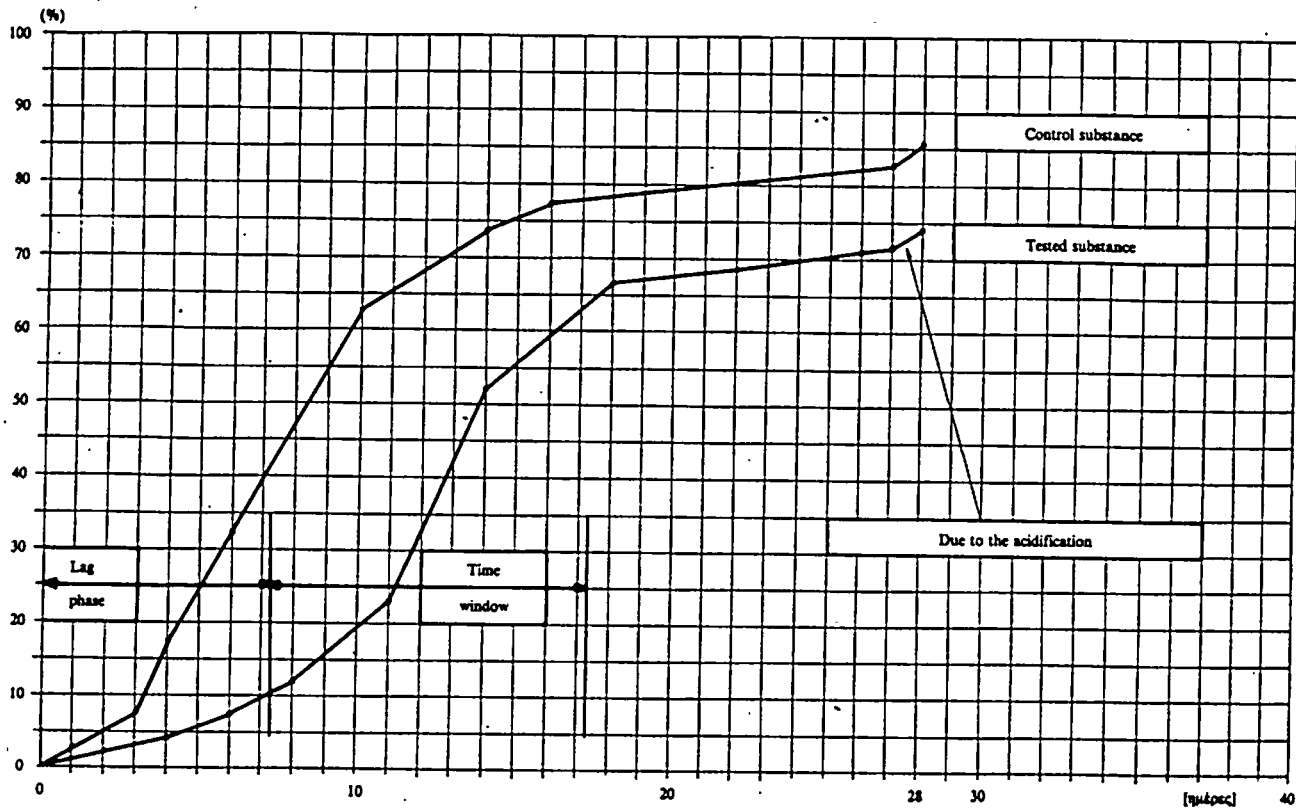
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 301B, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Gerite, P., Fisher, W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 3, No 2, 1979, p. 159-173.
- (3) Gerite, P., Fisher, W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests II. Additional results and conclusions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 5, No 1, 1981, p. 45-55.
- (4) Larson, R. J., Estimation of biodegradation potential of xenobiotic organic chemicals. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 36, 1979, p. 1153-1161.

Προσάρτημα 2

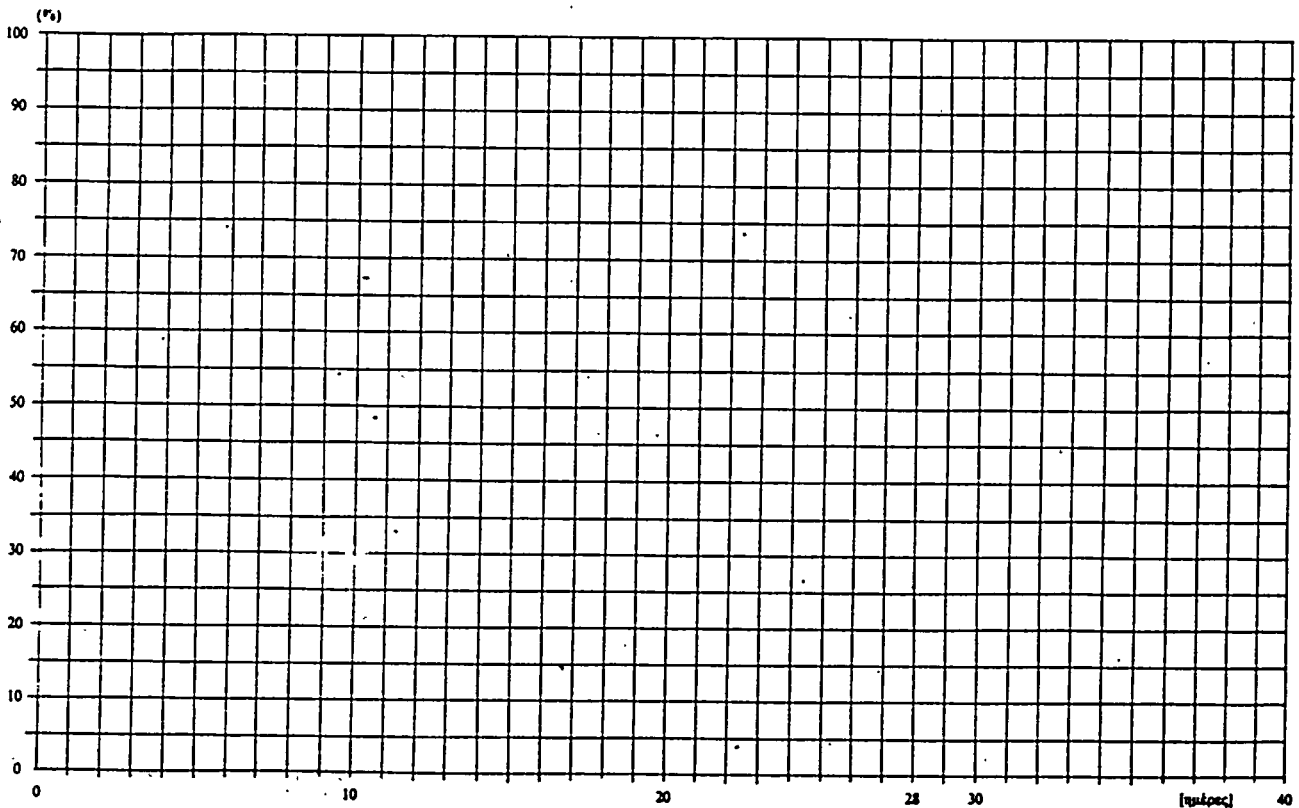
Τροποποιημένη μέθοδος Sturm

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πείραμα αριθ.:
Βιοδιασπασσιμότητα



Τροποποιημένη μέθοδος Sturm

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πείραμα αριθ.:
Βιοδιασπασσιμότητα



Γ. 6. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

ΒΙΟΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ: ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΦΙΛΛΗΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Σκοπός της μεθόδου είναι η μέτρηση της βιοδιασπασιμότητας των οργανικών ουσιών σε αερόβιο υδατικό μέσο, σε συγκέντρωση 2 (ερότυπη συγκέντρωση) έως 10 mg/l της ελεγχόμενης ουσίας.

Στην παρούσα κατάσταση αναπτύξεως, ο έλεγχος είναι ειδικά κατάλληλος για την εκτίμηση της βιοδιασπασιμότητας των υδατοδιαλυτών ενώσεων. Πάντως, μπορούν να ελεγχθούν επίσης, τουλάχιστον κατ' αρχήν, τόσο οι κτηνικές ενώσεις όσο και οι λίγο διαλυτές ενώσεις.

Ακατάλλητο ο εμπειρικός τύπος του ελεγχόμενου υλικού για να μπορεί να υπολογισθεί το θεωρητικό απαιτούμενο οξυγόνο (ThOD). Εάν δεν είναι γνωστό, μπορεί να χρησιμοποιήσει σαν τιμή αναφοράς, το χημικώς απαιτούμενο οξυγόνο (COD), (προσάρτημα 1).

Η μέθοδος είναι εφαρμοσμένη μόνο για τα ελεγχόμενα οργανικά υλικά, τα οποία, στη συγκέντρωση που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο, δεν παρεμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων. Εάν το ελεγχόμενο υλικό δεν είναι διαλυτό στη συγκέντρωση του ελέγχου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ειδικές μετρήσεις, όπως η χρήση διασποράς με υπερήχους, για να επιτευχθεί καλή διασπορά του ελεγχόμενου υλικού.

Είναι χρήσιμες, για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται, πληροφορίες για τις σχετικές αναλογίες των σκοτεινότερων συστατικών του ελεγχόμενου υλικού, ιδιαίτερα για τις περιπτώσεις όπου τα αποτελέσματα είναι χαμηλά.

Πληροφορίες για την τοξικότητα της χημικής ουσίας στους μικροοργανισμούς μπορεί να είναι χρήσιμες για την ερμηνεία χαμηλών αποτελεσμάτων και για την επιλογή κατάλληλων συγκεντρώσεων ελέγχου.

Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του BOD.

1.2.

Όργανο και μονάδες

Το βιοχημικώς απαιτούμενο οξυγόνο (BOD) υπολογίζεται ως η διαφορά της ελαττώσεως του οξυγόνου, μεταξύ ενός υψηλού και ενός χαμηλού του ελεγχόμενου υλικού κάτω από τις συνθήκες της μεθόδου. Μετά από διάθεση με τη συγκέντρωση (W/V) της ουσίας, λαμβάνεται η καθαρή ελάττωση του οξυγόνου σε mg BOD/mg ουσίας.

Η διασπασιμότητα καθορίζεται ως ο λόγος του βιοχημικώς απαιτούμενου οξυγόνου είτε προς το θεωρητικώς απαιτούμενο οξυγόνο (ThOD) είτε προς το χημικώς απαιτούμενο οξυγόνο (COD), εκφρασμένος επί τοις εκατό.

Παρατήρηση:

Πολλές φορές οι δύο τρόποι υπολογισμού (επί τοις % του ThOD ή επί τοις % του COD) δεν δίνουν τα ίδια αποτελέσματα.

$$\% \text{ βιοδιασπασιμότητα (ThOD)} = \frac{\text{mg O}_2/\text{mg ελεγχόμενης ουσίας}}{\text{ThOD}} \times 100$$

$$\% \text{ βιοδιασπασιμότητα (COD)} = \frac{\text{mg O}_2/\text{mg ελεγχόμενης ουσίας}}{\text{mg COD/mg ελεγχόμενης ουσίας}} \times 100$$

ή

όπου:

ThOD = θεωρητικώς απαιτούμενο οξυγόνο (για τον υπολογισμό βλέπε προσάρτημα 1)

COD = χημικώς απαιτούμενο οξυγόνο, προσδιοριζόμενο πειραματικά.

Ουσίες αναφοράς

Είναι επιθυμητή η χρήση κατάλληλων χημικών ουσιών συγκρίσεως για τη δραστηκότητα του εμβόλιου. Η ανάλυση, το οξικό νάτριο ή το βενζοϊκό νάτριο (για παράδειγμα) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σκοπό αυτό και θα πρέπει να παράγουν διασπασιμότητα $\geq 60\%$ σε 28 ημέρες, διαφορετικά ο έλεγχος θεωρείται άκυρος και θα πρέπει να επαναλαμβάνεται χρησιμοποιώντας ένα εμβόλιο από διαφορετική πηγή.

Αρχή της μεθόδου

Γνωστή ποσότητα ουσίας διαλύεται σε ένα ανόργανο μέσο (θεραπευτικό διάλυμα ανοργάνων αλάτων), παρέχουσα συγκέντρωση ελεγχόμενης ουσίας συνήθως 2 mg ανά λίτρο. Το διάλυμα εμβολιάζεται με μικρό αριθμό μικροοργανισμών από ανάμικτο κλήθρο και διατηρείται στα σκοτεινά, σε κλειστή φιάλη και σε λουτρό σταθερής θερμοκρασίας ή θάλαμο (20 έως 21 °C).

Η διασπασιμότητα ακολουθείται από αναλύσεις οξυγόνου για περίοδο άνω των 28 ημερών. Η πορεία ελέγχεται μέσω μιας συγκριτικής ουσίας εμβόλιου.

Πρέπει να γίνεται παράλληλα ένα υψηλό πείραμα οξυγόνου, στο οποίο δεν θα περιέχεται ούτε το ελεγχόμενο υλικό ούτε το υλικό συγκρίσεως.

Ταυτόχρονα η ελεγχόμενη ουσία μπορεί να ελέγχεται για πιθανή παρεμποδιστική επίδραση πάνω στο εμβόλιο.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου έχει καθορισθεί από τα διασυγκριτικά πειράματα του ΟΟΣΑ και της ΕΟΚ.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

1.6.1. Αντιδραστήρια

1.6.1.1. Αεραταγμένο ή ακτιονισμένο νερό

Αεραταγμένο ή αποστειρωμένο νερό, που περιέχει όχι περισσότερο του 0,01 mg Cu/l πεκτορισμένο αέρα. Ο όγκος, σύμφωνα με τις ανάγκες της ημέρας (π.χ. 30 l), φυλάσσεται στη θερμοκρασία δοματίου όσο το

- δυνατό πλησιέστερα στους 20 °C και αφιέρζεται δυνατά για 20 λεπτά με καθαρό συμπιεσμένο αέρα. Γενικά, το νερό είναι έτοιμο για χρήση μετά από παραμονή 20 ωρών στους 20 °C. Το οξυγόνο προσδιορίζεται για λόγους συγκριτικού ελέγχου. Η συγκέντρωση στους 20 °C πρέπει να είναι 9,09 mg O₂/l. Κάθε εργασία μεταφοράς και συμπληρώσεως του κεκορησμένου με αέρα νερού, πρέπει να γίνεται χωρίς καφλασμό, με σιφόνιο.
- 1.6.1.2. Θρεπτικό διάλυμα
- α) Αρχικά διαλύματα:
- | | |
|---|---------|
| KH ₂ PO ₄ (δισόξινο φωσφορικό κάλιο): | 8,50 g |
| K ₂ HPO ₄ (δύο-φωσφορικό κάλιο): | 21,75 g |
| NH ₄ HPO ₄ ·2H ₂ O (δι-ένυδρο-δύο-φωσφορικό νάτριο): | 33,30 g |
| NH ₄ Cl (χλωριούχο αμμώνιο): | 1,70 g |
- διαλύονται και συμπληρώνονται σε 1 000 ml με αποσταγμένο νερό.
- Η τιμή pH πρέπει να είναι pH = 7,2
- MgSO₄·7H₂O (επτα-ένυδρο θειικό μαγνήσιο):
- 22,50 g
- διαλύεται και συμπληρώνεται με αποσταγμένο νερό στα 1 000 ml.
- CaCl₂ (χλωριούχο ασβέστιο):
- 27,50 g
- διαλύεται και συμπληρώνεται με αποσταγμένο νερό στα 1 000 ml.
- FeCl₃·6H₂O (εξα-ένυδρο τριχλωριούχος σίδηρος (III)):
- 0,25 g
- διαλύεται και συμπληρώνεται με αποσταγμένο νερό στα 1 000 ml.
- β) Μέσο ελέγχου
- Το μέσο ελέγχου θα περιέχει 1 ml από καθένα από τα παραπάνω αρχικά διαλύματα ανά λίτρο νερού.
- Η τιμή pH πρέπει να είναι pH = 7,2 ± 0,2.
- 1.6.1.3. Ουσίες συγκρίσεως (ελέγχου)
- Ανλία (πρόσφατα αποσταγμένη), οξικό νάτριο, βενζοϊκό νάτριο.
- 1.6.2. Συσκευή
- 1.6.2.1. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν βαθμονομημένες φιάλες BOD, 250 έως 300 ml, με γυάλινα πόματα, ή μη βαθμονομημένες φιάλες με στενό λαιμό των 250 ml, με γυάλινα πόματα των οποίων ο όγκος έχει προσδιορισθεί.
- 1.6.2.2. Αρκετές φιάλες των 2, 3 και 5 l, με σημείο χαραγής του λίτρου, για την προετοιμασία του περιβάλλοντος και για το γέμισμα των φιαλών του BOD.
- 1.6.2.3. Σιφόνια όγκου 1 μέχρι 10 ml
- Χωνά και κοινό διηθητικό χαρτί.
- Φιάλες για την παρασκευή του εμβόλιου.
- 1.6.2.4. Υδρόλυτρο για τη διατήρηση των φιαλών σε σταθερή θερμοκρασία και με αποκλεισμένο φως.
- 1.6.3. Παρασκευή του εμβόλιου
- Ομοιάχστε από τις ακόλουθες τίσαιρις πιτές μικροβών να χρησιμοποιηθούν σαν εμβόλιο του οποίου η βιωσιμότητα ελέγχεται μέσω των συγκριτικών ουσιών ελέγχου (1.6.1.3).
- 1.6.3.1. Εμβόλιο από το έδαφος
- Υδατικό αιώρημα εδάφους από κήπο που δεν έχει λικανθεί, 100 g εδάφους κήπου που δεν έχει πρόσφατα λιπανθεί (είναι ιδιαίτερα προτιμώσιμο το έδαφος από θερμοκήπιο, σταθερής θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του έτους) διασπείρονται σε 1 λίτρο ύδατος υδρόθετος, όχι χλωριωμένο. Μετά από 30 λεπτά το αιώρημα διηθείται από κοινό διηθητικό χαρτί και τα πρώτα 200 ml του διηθήματος απορρίπτονται. Το εκόμενο μεγαλύτερο μέρος του διηθήματος χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό (μία σταγόνα από ένα αιχμηρό σπώνιο ανά λίτρο τελικού όγκου). Το εμβόλιο παρασκευάζεται αμέσως πριν από το πέραςμα. Πρέπει να αφαιρεθεί, εάν πρόκειται να μείνει για μερικές ώρες. Ο αριθμός των βακτηριδίων μπορεί να προσδιορισθεί με δίσκο αριθμήσεως ή με ειδικές διατάξεις με θρεπτικό υλικό. Δεν πρέπει να είναι περισσότερα από 10⁷ έως 10⁸ βακτηρίδια ανά χιλιοστόλιτρο τελικού όγκου.
- 1.6.3.2. Εμβόλιο από δευτερογενή ακόβλητα
- Το εμβόλιο παρασκευάζεται κατά προτίμηση από δευτερογενή εγκατάσταση (εγκατάσταση ενεργοποίηση-μίνης λάσπης ή από βραδέως ρέον φίλτρο συνδεδεμένο με οικιακά κυκλώματα). Τα ακόβλητα στην περίοδο μεταξύ δεγματοληψίας και χρησιμοποιήσεως πρέπει να διατηρούνται κάτω από αερόβιες συνθήκες. Για την παρασκευή του εμβόλιου το δείγμα διηθείται μέσω κοινού διηθητικού χαρτί. Τα πρώτα 200 ml απορρίπτονται. Το υπόλοιπο του διηθήματος ψύσσεται κάτω από αερόβιες συνθήκες μέχρι της χρησιμοποιήσεώς του. Το εμβόλιο πρέπει να χρησιμοποιηθεί την ημέρα της συλλογής.
- 1.6.3.3. Εμβόλιο από εργαστηριακά ενεργοποιημένη λάσπη
- Χρησιμοποιούνται τα ακόβλητα από ισχυρώς αερόβια και εργαστηριακά ενεργοποιημένη λάσπη. Το εμβόλιο παρασκευάζεται όπως περιγράφεται στο 1.6.3.2.
- 1.6.3.4. Συνθετο εμβόλιο
- Ίσοι όγκοι από τρία δείγματα εμβόλιου (1.6.3.1 έως 1.6.3.3) αναμειγνύονται καλά και το τελικό εμβόλιο λαμβάνεται από το μείγμα αυτό.
- 1.6.4. Πορεία ελέγχου
- Όλοι οι αναγκαίοι χειρισμοί πριν από την εκόωση εκτελούνται περίπου στους 20 °C.
- Ετοιμάζονται ομάδες φιαλών (1.6.2.1) για τον προσδιορισμό του BOD της ελεγχόμενης ουσίας και της ουσίας συγκρίσεως σε ταυτίστους περιστατικές αερίες. Εάν εκτελούνται συγχρόνως και χημικές αναλύσεις, πρέπει να ετοιμασθεί επαρκής αριθμός φιαλών (συμπεριλαμβανομένων των συγκριτικών ελέγχων για το εμβόλιο και το τυφλό) π.χ. ετοιμάζονται εκτά ή 15 παράλληλες φιάλες για κάθε ελεγχόμενο υλικό για τους ελέγχους των 0, 5, 15 και 28 ημερών αφού ετοιμασθεί σε μεγάλες φιάλες ένας επαρκής όγκος νερού (1.6.2.2).

Οι μεγάλες αυτές φιάλες γερμίζονται πρώτα με σιρόνιο κατά το ένα τρίτο του όγκου τους με αποστειρωμένο νερό (1.6.1.1). Μετά, τα ατομικά ελαστούχα αρχικά διαλύματα (1.6.1.2) μεταφέρονται στις φιάλες αυτές σύμφωνα με τον τελικό όγκο και προστίθεται το αντίστοιχο ελεγχόμενο υλικό ή το υλικό συγκρίσεως, σε τέτοιες ποσότητες, ώστε οι τελικές συγκεντρώσεις να φθάσουν τα 2 και καμιά φορά τα 5 ή 10 mg/l.

Η συγκέντρωση των 9 mg περίπου διαλυμένου οξυγόνου ανά λίτρο ύδατος αραιώσεως, στους 20 °C, περιφέρει την πιθανή αρχική συγκέντρωση του ελεγχόμενου υλικού σε 2 mg/l περίπου, προκειμένου να εξασφαλισθεί μια σημαντική συγκέντρωση καριμίνοντος οξυγόνου μετά από την οξείδωση της ελεγχόμενης ουσίας.

Οι ουσίες που είναι λίγο διασκάσιμες ή είναι χειμώλο ThOD ελεγχονται κατά τρόπο κλωνοεικό εκ παραλλήλου, σε υψηλές συγκεντρώσεις. Ακολούθως γίνεται ο εμβολισμός των διαλυμάτων με μία στεγνή, με τη βοήθεια σιρόνιου, για κάθε λίτρο τελικού όγκου και κατά τον ίδιο τρόπο το τυφλό.

Τελικά το δόλυμα συμπληρώνεται στον κανονικό όγκο με σιρόνιο, το οποίο φθάνει στον πυθμένα της φιάλης. Αυτό εξασφαλίζει επαρκή ανάμειξη. Μετά κάθε τομωζόμενο διάλυμα, συμπληρώνεται αμέσως στην αντίστοιχη ομάδα φιαλών, με σιρόνιο, από το χειμώλο τέταρτο της φιάλης (όχι από τον πυθμένα).

Περαιτέρω, γίνονται ή φιλιάσσονται για τη μετέπειτα ανάλυση οι έλεγχοι του μηδενός (για τον προσδιορισμό του O₂ με καταβύθιση με MnCl₂ (ζωροόχοιο μετρίνο) και NaOH (υδροξείδιο νατρίου)).

Οι υπολοίπες φιάλες τοποθετούνται σε υδρόλουτρο στους 20 °C, φιλιάσσονται στα σκοτεινά, κερνώνται από το λουτρό ή το δόλυμα δωτερα από 5, 15 και 28 ημέρες, αντίστοιχα, και μετά αναλύονται.

Κάθε σειρά συνοδεύεται από μια κλίση παράλληλη σειρά για τον προσδιορισμό του τυφλού, της ελαττώσεως του οξυγόνου χωρίς εμβολιασμό και της ουσίας συγκριτικού ελέγχου.

Έλεγχος καριμινώσεως

Οι ουσίες μπορούν εύκολα και απλά να ελεγχθούν για φαινόμενα καριμινώσεως στη μέθοδο της κλαστικής φιάλης:

- σερά αριθ. 1: 2 mg/l μιας καλά διασκάσιμης ουσίας, π.χ. λιπαρές αλκοόλης συμπεκνωμένης με αιθυλενοξείδιο, σε μοριακή αναλογία 1/10, ή οποιαδήποτε από τις χημικές ουσίες συγκρίσεως
σερά αριθ. 2: x mg/l ελεγχόμενου υλικού (x είναι συνήθως 2)
σερά αριθ. 3: 2 mg/l της καλά διασκάσιμης ουσίας και x mg/l ελεγχόμενου υλικού.

Εάν οι τιμές του BOD της σεράς αριθ. 3 είναι μικρότερες από το άθροισμα των σερών αριθ. 1 και 2, το ελεγχόμενο υλικό μπορεί να θεωρηθεί ότι δόρα, γ' αυτή τη συγκέντρωση, καριμινωδιστικά για τα βακτηρίδια. Αυτό το συγκριτικό πείραμα είναι πάντα αναγκαίο, εάν φαίνεται παράλογο ένα αποτέλεσμα αρνητικό ή κτώζο σε διασκάσιμτητα, ενώπι της δομής του ελεγχόμενου υλικού, εάν υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτό μπορεί να προέρχεται από καριμινωδιστική δράση.

1.6.5. Προσδιορισμός διαλυμένου οξυγόνου

Το διαλυμένο οξυγόνο προσδιορίζεται σύμφωνα με μια διεθνώς ή εθνικώς αναγνωρισμένη χημική ή ηλεκτροχημική μέθοδο.

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Τα αναλυτικά αποτελέσματα καταγράφονται στο συνημμένο ειδικό φύλλο (προσάρτημα 3).

Η πορεία της μεθόδου διασκάσιμότητας ακολουθείται γραφικά σε ένα διάγραμμα, όπως φαίνεται στο προσαρτημένο παράδειγμα (προσάρτημα 4).

Τα αποτελέσματα του ελέγχου διασκάσιμότητας είναι έγκυρα εάν πληρούνται οι ακόλουθες συνθήκες:

- ότι στην ίδια σειρά ελέγχου το υλικό συγερλώως δίνει βιοδιασκάσιμότητα $\geq 60\%$ εντός 28 ημερών. Εάν δεν συμβαίνει αυτό, το σύνολο της σεράς απορρίπτεται
- ότι η ελάττωση του οξυγόνου στη φιάλη χωρίς εμβολιασμό δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,3 mg O₂/l μετά 5 ημέρες και 0,4 mg O₂/l μετά 28 ημέρες, αντίστοιχα. το τυφλό με εμβολιασμό δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,5 mg O₂/l μετά πέντε ημέρες και 0,6 mg O₂/l μετά 15 και 28 ημέρες.

ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει:

- τα δεδομένα που πρέπει να καταγράφονται σύμφωνα με το ειδικό φύλλο (βλ.λε προσάρτημα),
- την πορεία ελέγχου διασκάσιμότητας που αναπαριστάται γραφικά σε ένα διάγραμμα που δείχνει τη φάση καθυστέρησης, τη φάση διάσπασης, την κλίση και το χρόνο-καρέθρο (εργόνοσ-παράθρο) εδώ σημαίνει μια περίοδο 10 ημερών αρχίζοντας από την ημέρα όπου το παρατηρούμενο επίπεδο διασκάσιμότητας φθάνει κατ' αρχήν 10 %),
- τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για τον προσδιορισμό του COD,
- τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για τις μετρήσεις οξυγόνου,
- τη διαδικασία διασπαράς για τις μετρήσεις στις συνθήκες του ελέγχου,
- απόδειξη εγκυρότητας του ελέγχου.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η δυνατότητα που έχουν ενόσας που περιέχουν άζωτο να μπορούν να εκπνέσουν τα αποτελέσματα.

Εκτίμηση της αναπρότητας του ελέγχου αυτού, ένα χαμηλό αποτέλεσμα δεν σημαίνει αναγκαστικά ότι η ελεγχόμενη ουσία δεν είναι βιοδιασκάσιμη υπό συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά δείχνει ότι για να επιτευχθεί αυτό είναι αναγκαία περισσότερο εργασία.

Ελεγχόμενες χημικές ουσίες με υψηλό αποτέλεσμα προσλήψεως οξυγόνου, με τον έλεγχο αυτό, πρέπει να θεωρούνται σαν εύκολα βιοδιασκάσιμες, αρκεί να έχει επιτευχθεί η στάθμη αυτή εντός χρονικού διαστήματος 10 ημερών από την ημέρα που παρατηρήθηκε για πρώτη φορά υπέρβαση κατά 10 % της στάθμης βιοδιασκάσιμότητας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981 Test Guideline 301 D, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Gerike, P., Fischer, W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 3, No 2, 1979, p. 159—173.
- (3) Gerike P., Fischer, W. K., A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests II. Additional results and conclusions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 5, No. 1, 1981, p. 45—55.

Προσάρτημα 2

Σχήμα για τη διάταξη των φιαλών στη μέθοδο κλειστής φιάλης

(* = ειδική ανάλυση, εάν υπάρχει)

	Έλεγχος				Προσδιορισμοί			
	Αεσταγμένο νερό Διαλύματα άλατος ↓ Διάλυμα βρεπτικών αλάτων (συγκριτικός έλεγχος του οξυγόνου του τυφλού)		Αεσταγμένο νερό Διαλύματα άλατος Εμβολιασμός ↓ Εμβολιασμός τυφλού		Αεσταγμένο νερό Διαλύματα άλατος Εμβολιασμός Ουσία βαθμονόμησης ↓ Ουσία συγκριτικού ελέγχου		Αεσταγμένο νερό Διαλύματα άλατος Εμβολιασμός Ελεγχόμενο υλικό ↓ Ελεγχόμενα υλικά	
Αναλύσεις	Προσδιορισμός - O ₂	* - προσδιορισμός	Προσδιορισμός - O ₂	* - προσδιορισμός	Προσδιορισμός - O ₂	* - προσδιορισμός	Προσδιορισμός - O ₂	* - προσδιορισμός
αμέσως								
5 ημερών								
15 ημερών								
28 ημερών								

Προσάρτημα 1

Υπολογισμός του θεωρητικού βιοχημικού απαιτούμενου οξυγόνου

Το ThOD της ουσίας C_aH_bCl_cN_dNa_eO_fP_g του μοριακού βάρους MW υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$ThOD_{theor} = \frac{16 \left[2c + \frac{1}{2} (b - d - 3n) + 3s + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{MW}$$

Ο υπολογισμός αυτός προϋποθέτει μετατροπή του C προς CO₂, του H προς H₂O, του P προς P₂O₅ και του Na προς Na₂O.
Το ελλογόνιο απομακρύνεται σαν υδρολόγιο και το άζωτο σαν αμμωνία.

Παράδειγμα:

Γλυκόζη C₆H₁₂O₆, MW = 180.

$$ThOD = \frac{16 \left(2 \times 6 + \frac{1}{2} \times 12 - 6 \right)}{180} = 1,07 \text{ mg O}_2/\text{mg γλυκόζης.}$$

Τα μοριακά βάρη των αλάτων, εκτός των αλκαλίων, υπολογίζονται με την προϋπόθεση ότι τα άλατα αυτά έχουν υδρολυθεί.

Το δέο θεωρείται ότι είναι οξείδωμένο στην κατάσταση + 6.

Παράδειγμα:

n-αλκυλοβενζοσουλφοονικό νάτριο, C₁₁H₁₃SO₃Na,

MW = 348

$$ThOD = \frac{16 \left(36 + \frac{29}{2} + 3 + \frac{1}{2} - 3 \right)}{348} = 2,34 \text{ mg O}_2/\text{mg ουσίας.}$$

Στην περίπτωση ουσίας που περιέχει άζωτο, τούτο μπορεί να απομακρυνθεί σαν αμμωνία, νιτρούλη ή νιτρίδα, που αντιστοιχεί σε διαφορετικό θεωρητικό βιοχημικό απαιτούμενο οξυγόνο.

$$ThOD_{theor} = \frac{16 \left[2c + \frac{1}{2} (b - d) + 3s + \frac{3}{2} n + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{MW}$$

$$ThOD_{theor} = \frac{16 \left[2c + \frac{1}{2} (b - d) + 3s + \frac{5}{2} n + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{MW}$$

Εάν υποθέτουμε είχε παρατηρηθεί πλήρης σχηματισμός νιτρικών στην περίπτωση μιας δευτεροταγούς αμίνης:

(C₂H₅)₂NH, MW: 353

$$ThOD_{theor} = \frac{16 \left(48 + \frac{51}{2} + \frac{5}{2} \right)}{353}$$

Βιοδιασποστικότητα: Μέθοδος κλασικής φιάλης
 Ινστιτούτο ελέγχου:
 Ελεγχόμενο υλικό:
 Πείραμα αριθ.:

Α: Προσδιορισμός O₂

	Φύλλα οφθ.	mg O ₂ /l μετά από x ημέρες			
		0	5	15	28
Διάλυμα θρεπτικών αλάτων χωρίς ελεγχόμενο υλικό και χωρίς τριβόλιο	O ₂ -συντηρητικού υλικού		c ₁		
	μέση τιμή		$m_0 = \frac{c_1 + c_1}{2}$		
Διάλυμα θρεπτικών αλάτων χωρίς ελεγχόμενο υλικό αλλά με τριβόλιο	1		c ₂		
	2		c ₄		
Διάλυμα θρεπτικών αλάτων με ελεγχόμενο υλικό και με τριβόλιο	1		$m_1 = \frac{c_2 + c_2}{2}$		
	2		a ₁		
	μέση τιμή ελεγχόμενου υλικού		$m_2 = \frac{a_1 + a_1}{2}$		

Β: Ελεγχόμενες O₂ (mg BOD/l) μετά από x ημέρες

$BOD_x = (m_0 - m_x) - (m_l - m_x) \cdot (*)$

mg BOD/l μετά από x ημέρες	
5	
15	
28	

(*) Αυτή η διαφορά είναι σημαντική σαν έλεγχος για την εγκυρότητα της μεθόδου.

Γ: Εκτίμηση:

$D_1 = \frac{mg\ BOD_1/l}{mg_{\theta\theta\theta\theta\theta\theta}/l} \cdot 100$ ή $\% BOD_1/COD = \frac{mg\ BOD_1/l}{mg_{\theta\theta\theta\theta\theta\theta}/l} \cdot 100$

μετά από ημέρες	
5	
15	
28	
%	
BOD/ThOD	
%	
BOD ₁ /COD	

Προσάρτημα 3

Βιοδιασποστικότητα: Μέθοδος κλασικής φιάλης (ειδικό φύλλο)

Ινστιτούτο ελέγχου:
 Διευθυντής μελετών:
 Ημερομηνία ενάρξεως του ελέγχου: Πείραμα αριθ.:
 Ελεγχόμενο υλικό:
 Χημική σύνταξη:
 Ανάλυση (μέθοδος Winkler ή ηλεκτρόδιο οξυγόνου):
 ThOD ή COD του ελεγχόμενου υλικού: mg O₂/mg
 Θερμοκρασία του νερού αραιώσεως μετά τον αερισμό:
 Συγκέντρωση O₂ στο νερό μετά τον αερισμό και την περίοδο προέμεσης πριν από την έναρξη της μεθόδου: mg O₂/l

Αποτέλεσμα ελέγχου

D₁ = BOD εκφρασμένο σε επί τοις % ThOD μετά από 28 ημέρες, ή
 D₁ = BOD εκφρασμένο σε επί τοις % COD μετά από 28 ημέρες.

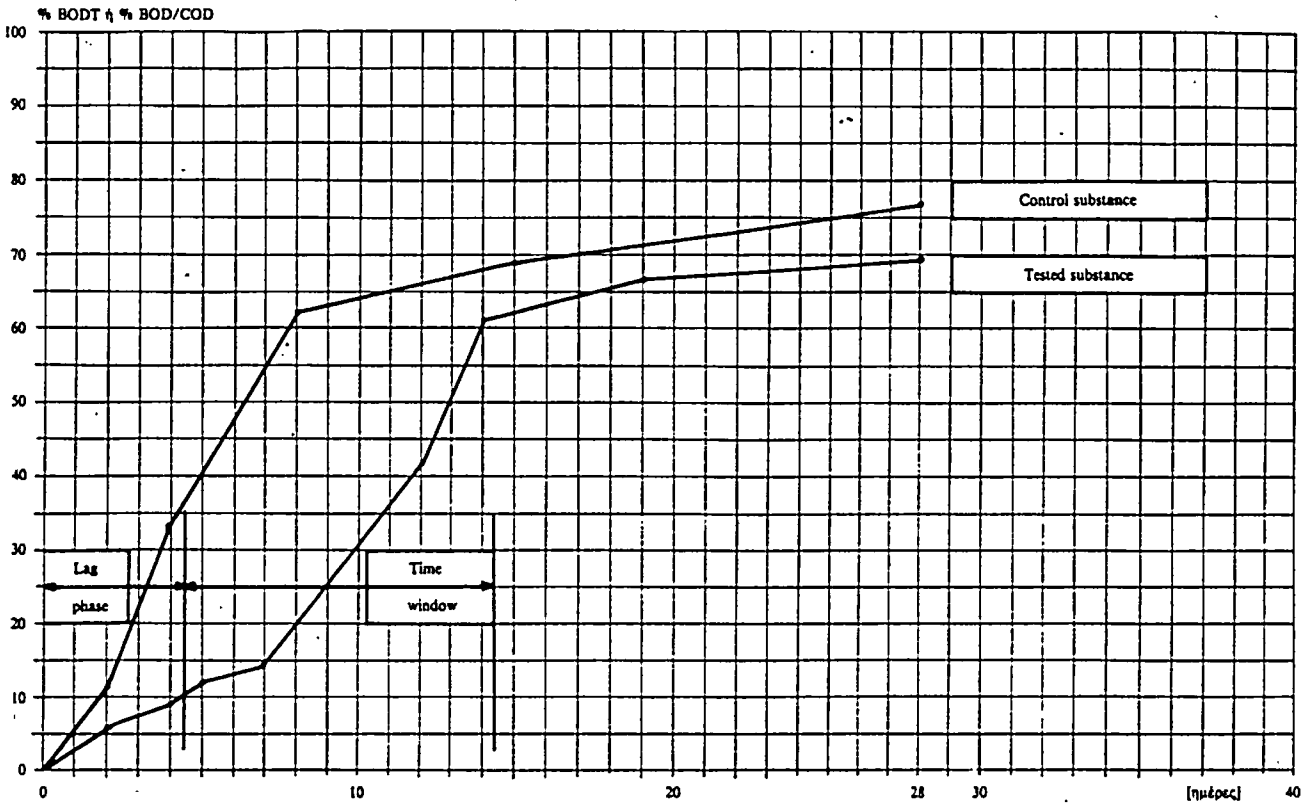
Εγκυρότητα αποτελέσματος

Χημική ουσία συγκρίσεως:
 Αποτέλεσμα: BOD εκφρασμένο σε επί τοις % ThOD μετά από 28 ημέρες.
 Αναφορά: Πείραμα αριθ.:

Παρατηρήσεις:

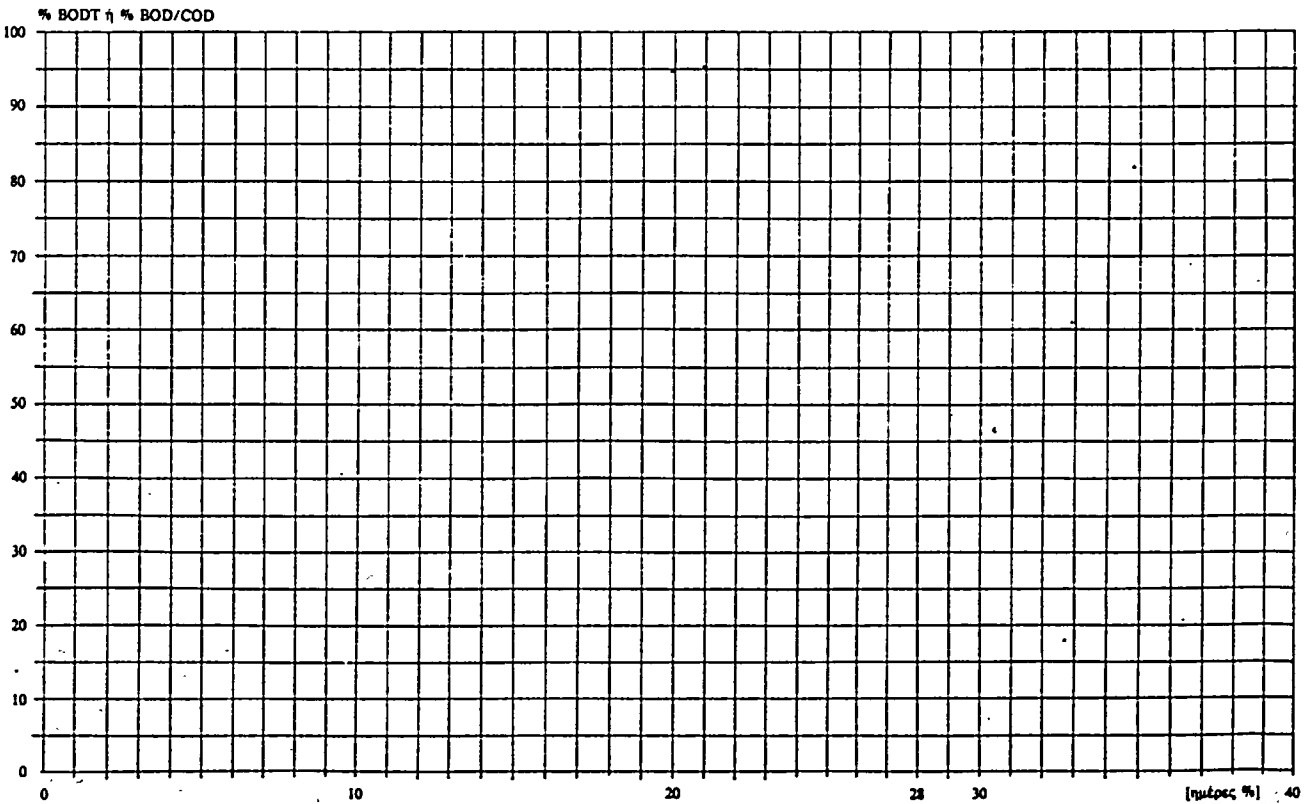
Προσάρτημα 4
Μέθοδος κλειστής φάλης

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενο υλικό: Πείραμα αριθ.:



Μέθοδος κλειστής φάλης

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενο υλικό: Πείραμα αριθ.:



Sa: υπόλοιπο κατά της ελεγχόμενης ουσίας μετά τη συμπύκνωση του ελέγχου βιοδιασπασιμότητας (περαματικό) (mg)

Sb: υπόλοιπο κατά της ελεγχόμενης ουσίας στον τυφλό έλεγχο με νερό, στο οποίο έχει προστεθεί μόνο η ελεγχόμενη ουσία (περαματικό) (mg).

1.3. Ουσίες αναφοράς

Για τον έλεγχο της δραστηριότητας του εμβολίου, είναι επιθυμητή η χρησιμοποίηση ουσιών συγκρίσεως. Για το σκοπό αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθούν ανιλίνη, οξικό νάτριο ή βενζοϊκό νάτριο. Εάν το εκατοστιαίο ποσοστό βιοδιασπασιμότητας της ανιλίνης, υπολογιζόμενο από την κατανάλωση του οξυγόνου, δεν υπερβαίνει το 40 % μετά εκτά ημέρες και το 65 % μετά 14 ημέρες, ο έλεγχος θεωρείται άκυρος.

Εάν η ταχύτητα ανακτήσεως του Sb βρεθεί μείλλον χαμηλή, ο έλεγχος θεωρείται επίσης άκυρος.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Οι χημικές ουσίες ελέγχου είναι αποκλειστικά πηγές οργανικού άνθρακα και δεν είναι παραδεκτή η παρουσία μικροοργανισμών σ' αυτές.

Χρησιμοποιείται σαν ανακωχή μετρήσεως της κατανάλωσης οξυγόνου ένα αυτόματο κλειστό σύστημα (μετρητής BOD). Οι υπό έλεγχο χημικές ουσίες εμβολιάζονται με μικροοργανισμούς στα δοχεία ελέγχου. Κατά τη διάρκεια της περιόδου του ελέγχου το βιοχημικό απαιτούμενο οξυγόνο μετρείται συνεχώς με τον μετρητή BOD. Η βιοδιασπασιμότητα υπολογίζεται με βάση το BOD και γίνεται συμπληρωματική χημική ανάλυση, όπως η μέτρηση της συγκέντρωσεως του διαλυμένου οργανικού άνθρακα, της συγκέντρωσεως των υπολειμμάτων χημικών ουσιών, κλπ.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

1.5.1. Αναπαραγωγιμότητα

Γενικά καλή, ειδικότερα για χημικές ουσίες με διαλυτότητα στο νερό μεγαλύτερη από 0,1 g/l.

1.5.2. Ευαισθησία

A. Κατανάλωση οξυγόνου: όριο ανιχνέσεως = 1 mg (κατανάλωση οξυγόνου από μικροοργανισμούς).

B. Χημική ανάλυση: εξαρτάται από την ευαισθησία των μεθόδων ανάλυσεως.

1.5.3. Ειδική εφαρμογή

Εφαρμοσμένη για κάθε είδος χημικών ουσιών για τις οποίες $(C_{\text{BOD}}/C_{\text{BOD}})_{\text{μπαρ}} \geq 1$. Για χημικές χημικές ουσίες πρέπει να χρησιμοποιείται ένας εγκεκριμένος μετρητής BOD₅, αποτελούμενος από τριχοειδείς σωληνώσεις, και κανονικό μετρητή BOD (βλέπε κροσόγραμμα 1).

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

Γ. 7. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

ΒΙΟΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ: ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΠΤ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Σκοπός αυτής της μεθόδου ελέγχου είναι η μέτρηση της βιοδιασπασιμότητας οργανικών ουσιών σε υδατικό μέσο με ένα αναπνευστήρα-μετρητή, που είναι ενδεδειγμένος για το βιοχημικό απαιτούμενο οξυγόνο.

Για τον υπολογισμό του θεωρητικού απαιτούμενου οξυγόνου (ThOD) είναι απαραίτητος ο εμπειρικός τύπος του ελεγχόμενου υλικού, διαφορετικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί το COD.

Η μέθοδος εφαρμόζεται μόνο σ' εκείνες τις οργανικές ελεγχόμενες ουσίες, που στη συγκέντρωση που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο:

- έχουν αμελητέα τάση αιμών,
- δεν εμποδίζουν την ανάπτυξη των βακτηριδίων,
- δεν έρχονται σε επαφή και δεν αντιδρούν με τον προσαρτητή CO₂.

Εάν το ελεγχόμενο υλικό δεν είναι διαλυτό στη συγκέντρωση του ελέγχου, πρέπει ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν ειδικές τεχνικές τέτοιες όπως η χρήση διασκορπιστή υπερήχων, για να επιτευχθεί καλή διασπορά της ελεγχόμενης ουσίας.

Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και για την εμπίσθητη κατάλληλων συγκεντρώσεων ελέγχου μπορεί να είναι χρήσιμες οι πληροφορίες για την τοξικότητα των χημικών ουσιών στους μικροοργανισμούς.

Για την ερμηνεία των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων είναι χρήσιμες οι πληροφορίες για τις σχετικές αναλογίες των κυρίων συστατικών της ελεγχόμενης ουσίας.

1.2. Ορισμοί και μονάδες

$$\text{Επί τοις } \% \text{ βιοδιασπασιμότητα} = \frac{(\text{BOD} - \text{B})}{\text{ThOD (ή COD)}} \times 100 \%$$

ή

$$\text{Επί τοις } \% \text{ βιοδιασπασιμότητα} = \frac{(\text{Sb} - \text{Sa})}{\text{Sb}} \times 100 \%$$

όπου:

BOD: βιοχημικός απαιτούμενος οξυγόνο της ελεγχόμενης ουσίας (περαματικό) (mg) μετρούμενο στην καμπύλη BOD

B: κατανάλωση οξυγόνου του βασικού καλλιερητικού μέσου, στο οποίο έχει προστεθεί εμβόλιο (περαματικό) (mg) μετρούμενο στην καμπύλη BOD

ThOD: θεωρητικός απαιτούμενος οξυγόνο χρησιμοποιούμενο όταν η ελεγχόμενη ουσία έχει τελείως οξειδωθεί (περαματικό) (mg)

από 10 τοκοθεσίες από όλη τη χώρα, κυρίως από εστέινες τις περιοχές όπου μπορεί να θεωρηθεί ότι κοινά χημικών ουσιών καταναλώνονται και απορρίπτονται.

Π.χ.: στην Ιακωνία, η πρότυπη ενεργοποιημένη λάσπη του Ιακωνικού Χημικού Κέντρου Βιολογικού Ελέγχου λαμβάνεται από τις ακόλουθες τοποθεσίες και αναμεγνύεται:

- κοινοτική εγκατάσταση αποχετεύσεως: τρεις εγκαταστάσεις που λειτουργούν στο βόρειο, κεντρικό και νότιο τμήμα της Ιακωνίας·
- βιομηχανική εγκατάσταση αποχετεύσεως: μία εγκατάσταση που χρησιμοποιείται για την εξεργασία υδατικών αποβλήτων χημικών βιοχημικών·
- κοιμητός: τρεις κοιμητοί βρισκόμενοι στο βόρειο, κεντρικό και νότιο τμήμα της Ιακωνίας·
- λίμνη: μία λίμνη που βρίσκεται στη μέση της Ιακωνίας·
- θάλασσα: δύο θάλασσες νησιών της Ιακωνίας.

Συχνότητα δειγματοληψίας λάσπης: Η δειγματοληψία λάσπης πρέπει να γίνεται, κατά κανόνα, τέσσερις φορές το χρόνο, τον Μάρτιο, τον Ιούνιο, τον Σεπτέμβριο και τον Δεκέμβριο.

Μέθοδοι δειγματοληψίας λάσπης

- κοινοτική αποχέτευση: 1 λίτρο λάσπης από ανακόλλωση σε μία εγκατάσταση εξεργασίας λυμάτων·
- κοιμητοί, λίμνες και βάλτοι ή θάλασσα: 1 λίτρο επιφανειακού νερού και 1 λίτρο επιφανειακού εδάφους της ακτής, που βρίσκεται σε επαφή με την ατμόσφαιρα.

Παρασκευή:

Τα δείγματα λάσπης που συλλέγονται από τις περιοχές δειγματοληψίας αναμεγνύονται με ανάδευση στο ίδιο δοχείο και το μέγιστο αφήνεται να παραμείνει. Απομακρύνονται τα επιπλέοντα ξένα σώματα και το υπερκείμενο υγρό διηθείται από χάρτινο φίλτρο αριθ. 2. Το διήθημα ρυθμίζεται σε pH 7,0 ± 1,0 με υδροξείδιο του νατρίου ή φωσφορικό οξύ, μεταφέρεται σε δοχείο καλλιέργειας και αερίζεται.

Καλλιέργεια:

30 λεπτά μετά τη λήξη του αερισμού του ανατερό διαλύματος απομακρύνεται το 1/3 περίπου του συνολικού όγκου του υπερκείμενου υγρού. Προστίθεται στην υπόλοιπη ποσότητα του υπερκείμενου υγρού ίσος όγκος 0,1 % συνθετικού λυμά: 1 g συνθετικό λύμα: 1 g γλυκόζης, 1 g πεκτόνης και 1 g φωσφορικού μονοκαλίου διαλύονται σε 1 λίτρο νερού και το διάλυμα ρυθμίζεται σε pH 7,0 ± 1,0 με υδροξείδιο του νατρίου) και το μέγιστο αερίζεται καλά. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται μία φορά κάθε μέρα. Η καλλιέργεια γίνεται στους 25 ± 2 °C.

Έλεγχος:

Για τον έλεγχο της καλλιερητικής βαθμίδας ελέγχονται τα ακόλουθα σημεία και γίνονται οι αναγκαίες ρυθμίσεις:

- εμφάνιση του υπερκείμενου υγρού: το υπερκείμενο υγρό της ενεργοποιημένης λάσπης πρέπει να είναι διαυγές·
- ιδιότητες καθίζσεως της ενεργοποιημένης λάσπης: η ενεργοποιημένη λάσπη, υπό τη μορφή μεγάλων θύσανων, πρέπει να έχει καλές ιδιότητες καθίζσεως·

1.5.1. Αντιβιοαίτηρα

Το απεσταγμένο νερό δεν πρέπει να περιέχει αντιβιοαίτηρα περισσότερο από το 10 % του άθρακα που εισάγεται με την ελεγχόμενη ουσία.

1.6.1.2.

Βασικό καλλιερητικό μέσο

Σε 3 ml από καθένα από τα διαλύματα Α, Β, Γ και Δ προστίθεται νερό μέχρι 1 000 ml. (Σε όλα τα παράρτια χρησιμοποιείται νερό απιονισμένο.)

Α. K_2HPO_4 (όξινο φωσφορικό): 21,75 g

KH_2PO_4 (όσο-όξινο φωσφορικό κάλιο): 8,50 g

$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ (δωδεκα-ένυδρο όξινο φωσφορικό νάτριο): 44,60 g

NH_4Cl (χλωριούχο αμμώνιο): 1,70 g

Διαλύονται σε νερό και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1).

Η τιμή του pH πρέπει να είναι: pH = 7,2.

Β. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (επτα-ένυδρο θεικό μαγνήσιο): 22,50 g

Διαλύονται σε νερό και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1)

Γ. $CaCl_2$ (χλωριούχο ασβέστιο): 27,50 g

Διαλύονται σε νερό και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1)

Δ. $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (εξα-ένυδρο τριχλωριούχος σιδηρός (III)): 0,25 g

Διαλύονται σε νερό και συμπληρώνονται μέχρι 1 000 ml με νερό (1.6.1.1)

1.6.2.

Συσκευή

Μετρητής BOD εφοδιασμένος με έξι φιάλες (300 ml εκάστη):

φιάλες αριθ. 1 και 2:

αποσταγμένο νερό 300 ml + ελεγχόμενη χημική ουσία 30 mg

φιάλες αριθ. 3 και 4:

βασικό καλλιερητικό μέσο 300 ml + ενεργοποιημένη λάσπη 9 mg (σε ξηρή βάση) + ελεγχόμενη χημική ουσία 30 mg

φιάλη αριθ. 5:

βασικό καλλιερητικό μέσο 300 ml + ενεργοποιημένη λάσπη 9 mg (σε ξηρή βάση) + ανάλγη ή άλλη ουσία αναφοράς 30 mg

φιάλη αριθ. 6:

βασικό καλλιερητικό μέσο 300 ml + ενεργοποιημένη λάσπη 9 mg (σε ξηρή βάση).

1.6.3.

Παρασκευή του εμβολίου

1.6.3.1.

Ενεργοποιημένη λάσπη

Τοκοθεσίες δειγματοληψίας λάσπης: Η δειγματοληψία λάσπης γίνεται, κατά κανόνα, από όχι λιγότερες

Σεπτέμβριος	Οκτώβριος	Νοέμβριος
Ανάμειξη, καλλιέργεια		
Περίοδος χρησιμοποιήσεως		

(Ακολουθεί το ίδιο σχήμα παρασκευής και χρησιμοποιήσεως.)

1.6.4. Προκαταγραφή της ελεγχόμενης χημικής ουσίας

Εάν η ελεγχόμενη ουσία δεν είναι διαλυτή στο νερό μέχρι τη συγκέντρωση ελέγχου, πρέπει να κομποποιεί όσο το δυνατό περισσότερο λεπτά.

1.6.5. Προσθήκη της ελεγχόμενης ουσίας και παρασκευής για τον έλεγχο

Απαιτούνται τα ακόλουθα δοχεία ελέγχου (βλ. σημείο 1.6.2) και ρυθίζονται στη θερμοκρασία ελέγχου:

1. Δύο δοχεία ελέγχου, που περιέχουν νερό, στο οποίο προστίθενται 100 mg/l της ελεγχόμενης ουσίας (δοχεία αριθ. 1 και αριθ. 2).
2. Δύο δοχεία ελέγχου, που περιέχουν το βασικό καλλιερητικό μέσο, στο οποίο προστίθενται 100 mg/l της ελεγχόμενης ουσίας. Το pH του διαλύματος αυτού ρυθίζεται σε pH = 7, αν είναι ανάγκη, πριν από τον εμπλοιασμό με την ενεργοποιημένη λάσπη (δοχεία αριθ. 3 και αριθ. 4).
3. Δοχείο ελέγχου, που περιέχει βασικό καλλιερητικό μέσο, στο οποίο προστίθενται 100 mg/l ανάλξης ή οποιασδήποτε άλλης πρότυπης ουσίας (δοχείο αριθ. 5).
4. Δοχείο ελέγχου, για το τυφλό πείραμα ελέγχου, που περιέχει μόνο το βασικό καλλιερητικό μέσο (δοχείο αριθ. 6).

1.6.5.1. Εμβολιασμός με ενεργοποιημένη λάσπη

Στα δοχεία ελέγχου αριθ. 3, 4, 5 και 6, ανωτέρω, προστίθεται εμβόλιο, έτσι ώστε το αιωρούμενο υλικό που ορίζεται στα Ιαπωνικά Βιομηχανικά Πρότυκα (1), σαν παράδειγμα, να περιέχεται σε συγκέντρωση 30 mg/l.

1.6.5.2. Συνθήκες ελέγχου

- συγκέντρωση ελεγχόμενων χημικών ουσιών: 100 mg/l,
- συγκέντρωση ενεργοποιημένης λάσπης: 30 mg/l,
- θερμοκρασία ελέγχου: 20 έως 25 °C,
- περίοδος: 28 ημέρες,
- εκτέλεση στο σκοτάδι: κάθε μέρα πρέπει να ελέγχονται η θερμοκρασία και η αλλαγή του χρώματος του περιεχομένου του δοχείου καλλιέργειας,
- ισχυρή ανάδραση με μηχανικό αναδευτήρα.

1.6.6. Εκτίμηση του ελέγχου

Η καμιάλη BOD καταγράφεται ως συνεχής γραμμή για 28 ημέρες (βλ. σχήμα).

Μετά περίοδο ελέγχου 28 ημερών προσδιορίζονται το pH και η συγκέντρωση των υπολοίπων των χημικών ουσιών και των ενδιάμεσων στα δοχεία ελέγχου.

— κατάσταση σχηματισμού της ενεργοποιημένης λάσπης: σε περίπτωση όπου δεν παρατηρείται ανάπτυξη θυλάκων, αυξάνεται είτε ο όγκος του 0,1 % συνθετικού λύματος που προστίθεται είτε η συχνότητα προσθήκης του συνθετικού λύματος

— το pH του υπερκείμενου υγρού είναι $7,0 \pm 1,0$

— θερμοκρασία: η θερμοκρασία καλλιέργειας της ενεργοποιημένης λάσπης είναι 25 ± 2 °C.

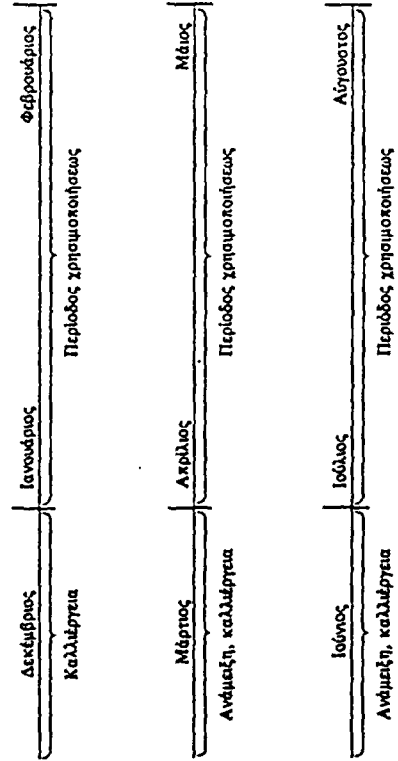
— ποσότητα αερισμού: κατά την αντικατάσταση του υπερκείμενου υγρού με το συνθετικό λύμα το αιώρημα στο δοχείο καλλιέργειας πρέπει να αερίζεται ικανοποιητικά, ώστε να διατηρείται η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου πάνω από 5 mg/l.

Μικροχλωρίδα ενεργοποιημένης λάσπης: Όταν παρατηρείται με μικροσκόπιο η ενεργοποιημένη λάσπη (σε μέγεθος $\times 100 - 400$), πρέπει να διακρίνονται αρκετά πρωτόζωα διαφόρων ειδών μαζί με νεφροειδείς θυλάκους.

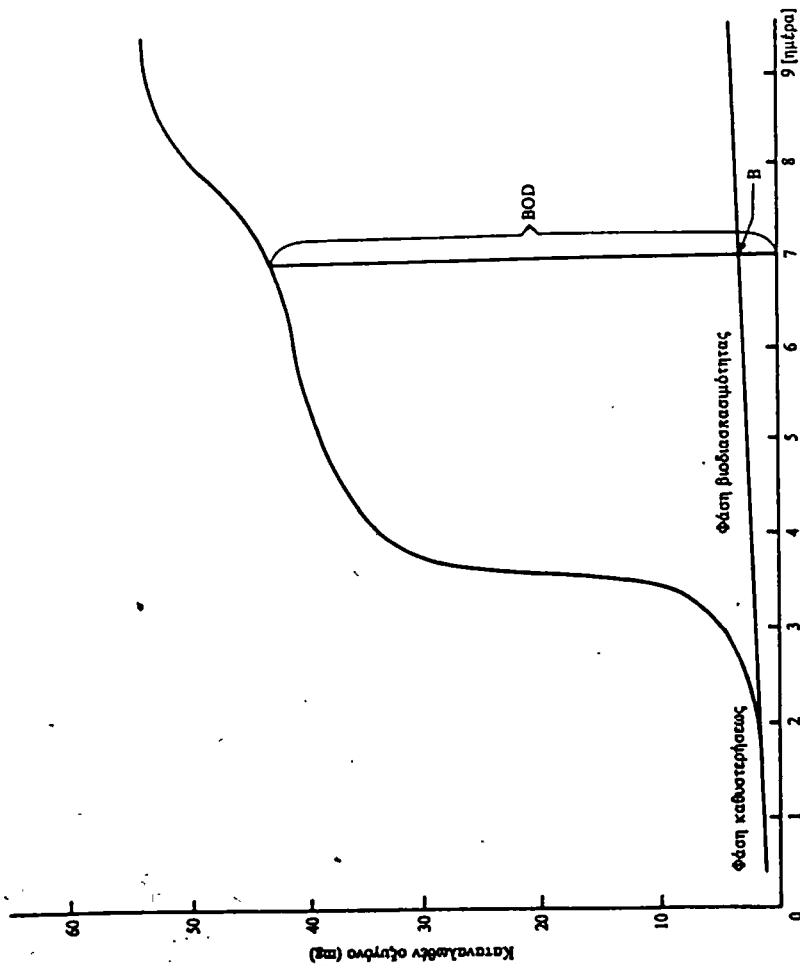
Ανάμειξη πρόσφατης και παλαιάς ενεργοποιημένης λάσπης: Για να διατηρηθούν η πρόσφατη και η παλαιά ενεργοποιημένη λάσπη στην ίδια δραστηριότητα, το μίγμα του υπερκείμενου υγρού μιας ενεργοποιημένης λάσπης που είναι σε χρήση, στον έλεγχο, αναμιγνύεται με ίσο όγκο του διηθημένου του υπερκείμενου υγρού μιας ενεργοποιημένης λάσπης που έχει συλλεχθεί πρόσφατα και το μίγμα καλλιερητείται.

Έλεγχος της δραστηριότητας της ενεργοποιημένης λάσπης: Πρέπει να ελέγχεται περιοδικά η δραστηριότητα της ενεργοποιημένης λάσπης, τουλάχιστον μία φορά κάθε τρεις μήνες, με πρότυπες ουσίες και κατά τη μέθοδο ελέγχου που δίνεται κατωτέρω. Ειδικά στην περίπτωση όπου αναμειγνύονται δείγματα πρόσφατης και παλαιάς ενεργοποιημένης λάσπης, πρέπει να γίνεται προσεκτικός έλεγχος σχετικά με την παλαιά ενεργοποιημένη λάσπη.

Παράδειγμα παρασκευής δειγμάτων ενεργοποιημένης λάσπης και περιόδου χρησιμοποιήσεως:



Σχήμα
Καμπύλη BOD ανιλίνης



Αναλύονται επίσης οι ελεγχόμενες χημικές ουσίες στο δοχείο ελέγχου χωρίς ενεργοποιημένη λάσπη, για να επιβεβαιωθεί κατά πόσο έχει γίνει οποιαδήποτε αλλαγή στην ελεγχόμενη χημική ουσία κατά τη διάρκεια της περιόδου ελέγχου ή οποιαδήποτε απόβλαση της αρχικής ελεγχόμενης χημικής ουσίας από εξάτμιση ή προσρόφηση στα τοιχώματα των δοχείων ελέγχου, κ.λπ.

1.6.7. Αναλυτικές συσκευές

Εάν η ελεγχόμενη ουσία είναι διαλυτή στο νερό, προσδιορίζεται επίσης στο τέλος του ελέγχου το υπόλοιπο κοσό του ολικού οργανικού άνθρακα.

α) Όταν χρησιμοποιείται αναλυτής ολικού οργανικού άνθρακα:

Λαμβάνεται δείγμα 10 ml του ελεγχόμενου διαλύματος από το δοχείο ελέγχου και ψυχοκοντρείται στα 3 000 g για πέντε λεπτά. Προσδιορίζεται με αναλυτή ολικού οργανικού άνθρακα το υπόλοιπο κοσό του ολικού οργανικού άνθρακα στο υπερκείμενο υγρό.

β) Όταν χρησιμοποιούνται άλλοι αναλυτές:

Εκχυλίζεται, με κατάλληλο για την ελεγχόμενη ουσία διάλυτο, το συνολικό κοσό ενός δοχείου ελέγχου και, κατόπιν κατάλληλης προκαταρτάσης, όπως η συμπύκνωση, προσδιορίζεται το υπόλοιπο κοσό της ελεγχόμενης ουσίας με κάποιο αναλυτικό όργανο (αεριοχρωματογράφος, φασματογράφος μάζας, φασματοφωτόμετρο, κ.λπ.).

Για κτηνικές χημικές ουσίες, το λουτρό ελέγχου θερμοκρασίας του μετρητή BOD πρέπει να ψυχθεί στους 10 °C και η θερμοκρασία αυτή να διατηρηθεί τουλάχιστον 30 λεπτά, για να εμποδισθεί η εξάτμιση. Τότε αρχίζουν οι αναλυτικές διαδικασίες α) και β).

2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΛΕΙΟΛΟΓΗΗ

2.1. Εκτελεργασία αποτελεσμάτων

Η μέθοδος για τον υπολογισμό του επί τοις % ποσοστού διασπασιμότητας από την κατανάλωση οξυγόνου και από το αποτέλεσμα της απευθείας ανάλυσης ορίζεται στο σημείο 1.2.

2.2. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

Το θεωρητικό απαιτούμενο οξυγόνο μπορεί να υπολογισθεί είτε όπως περιγράφεται στο προσάρτημα 2 είτε χρησιμοποιώντας την αρχική μέθοδο MITI:

Στοιχείο	Οξειδωμένη μορφή
C	CO ₂
H	H ₂ O
N	NO ₂
S	SO ₂
X (αλογόνο)	X ⁺

3. ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

3.1. Έκθεση ελέγχου

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τα ακόλουθα σημεία:

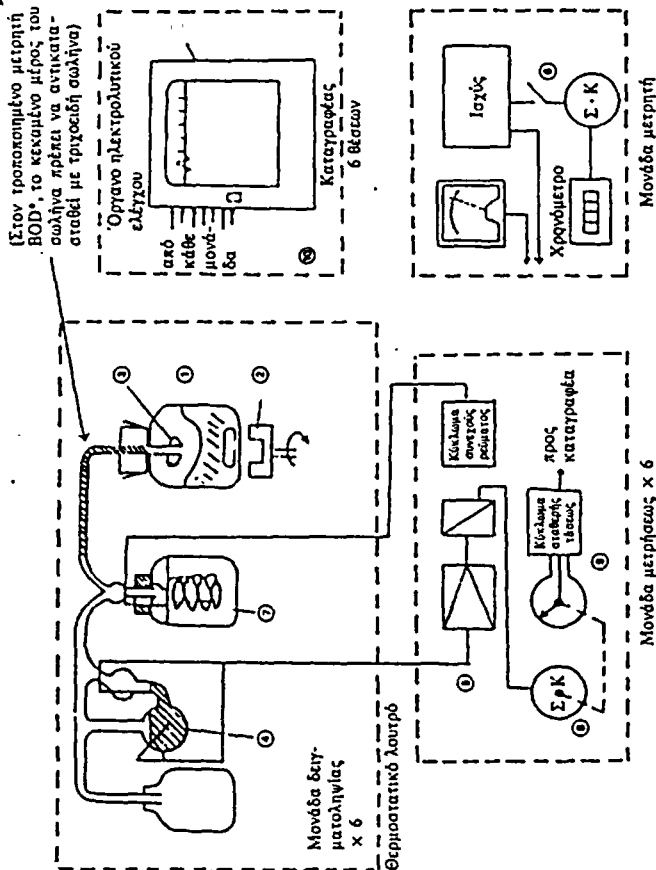
- πληροφορίες επί των ελεγχόμενων χημικών ουσιών: ονομασία, συντακτικός τύπος, μοριακό βάρος, καθαρότητα, φύση των ξένων προσμείξεων, φυσικοχημικές ιδιότητες της ελεγχόμενης χημικής ουσίας, στοιχεία ταυτοποίησης της ελεγχόμενης χημικής ουσίας,
- συνθήκες ελέγχου,
- ενεργοποιημένη λάσπη: τοποθεσία δειγματοληψίας και συγκέντρωση λάσπης,
- ελεγχόμενη χημική ουσία: συγκέντρωση,

Προσάρτημα 1

Αρχή λειτουργίας της συσκευής μέτρησης κλειστού συστήματος καταναλώσεως οξυγόνου

Η καταναλώση οξυγόνου από μικροοργανισμούς μπορεί να προσδιοριστεί χρησιμοποιώντας διαδικασία ηλεκτροχημικής αναλύσεως (π.χ. κουλόμετρία).

Το ακόλουθο είναι ένα παραστατικό διάγραμμα:



Το δείγμα που περιέχεται στη φιάλη καλλιέργειας (1) αναδύεται με μηχανικό αναδευτήρα (2). Κατά την πρόοδο της αντιδράσεως καταναλώνεται το διαλυμένο στο υγρό οξυγόνο. Το οξυγόνο (O₂) που βρίσκεται στο χώρο της φιάλης καλλιέργειας διαλύεται στο υγρό με αποτέλεσμα τη δημιουργία CO₂ στη θέση του.

Καθώς το CO₂ αυτό απορροφάται από νατράρβεστο (3), η μερική πίεση οξυγόνου στο χώρο και η ολική πίεση ελαττώνονται.

Η ελάττωση της πίεσεως ανιχνεύεται και μετατρέπεται σε ηλεκτρικό σήμα με τη βοήθεια μανόμετρου τύπου ηλεκτροδίου (4) και ενισχύεται με έναν ενισχυτή (5), για να θέσει σε λειτουργία ένα κύκλωμα μετροβόλου (6), που στη συνέχεια θέτει σε λειτουργία ένα σύστημα κινητήρα (8). Συγχρόνως, με διαίβαση συνεχούς ρευστάς, παράγεται ηλεκτρολυτικό οξυγόνο από διάλυμα χαλκού σε θετικό οξύ που βρίσκεται σε μία φιάλη ηλεκτρολύσεως (7).

Το οξυγόνο αυτό διαβιβάζεται στη φιάλη καλλιέργειας και ανιχνεύεται η αποκατάσταση της πίεσεως με το μανόμετρο, που διακόπτει τη λειτουργία του κυκλώματος του μετροβόλου και σταματά έτσι τον ηλεκτρολυτικό και τον σύγχρονο κινητήρα.

- περίοδος ελέγχου,
- θερμοκρασία ελέγχου,
- αναλυτική διαδικασία:
 - προκαταρτία
 - αναλυτικές συνθήκες οργάνου
 - ταχύτητα αποκαταστάσεως της αναλυτικής διαδικασίας
 - ταυτοποίηση ενδιαιμάτων,
- αποτελέσματα:
 - κριτικές βιοδιασπασιμότητας (έλεγχος της δραστηριότητας του εμβολίου + καμπύλη της ουσίας).
 - BOD (mg)
 - B (mg)
 - Sa (mg)
 - Sb (mg)
 - ThOD (mg)
- Επί τοις % ποσοστό διασπασιμότητας με βάση το BOD.
- Επί τοις % ποσοστό διασπασιμότητας με χημική ανάλυση.
- Χρωμάτογραφήματα ή φάσματα των ελεγχόμενων χημικών ουσιών που λήφθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για τους σκοπούς της αναλύσεως.
- απόδειξη εγκυρότητας (βλέπε σημείο 1.3).

Εργονεία των αποτελεσμάτων

Πρέπει να ληφθεί υπόψη η πιθανότητα ότι ενώσεις που περιέχουν άζωτο μπορεί να επηρεάζουν τα αποτελέσματα.

Αν βρεθεί ότι η ταχύτητα αποκαταστάσεως του Sb είναι της τάξεως του 10 % ή μικρότερη, αυτό μπορεί να οφείλεται σε αναλυτικά προβλήματα ή, π.χ., σε υδρόλυση στην περίπτωση αυτή, πρέπει να δοθεί ειδική προσοχή στην ερμηνεία.

Λόγω της αυστηρότητας του ελέγχου αυτού, ένα χαμηλό αποτέλεσμα δεν σημαίνει, κατ' ανάγκη, ότι η ελεγχόμενη ουσία δεν είναι βιοδιασπασίμη υπό συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά σημαίνει ότι είναι ανάγκη να γίνει περισσότερη εργασία για να επιβεβαιωθεί αυτό.

Ελεγχόμενες χημικές ουσίες που δέχονται υψηλό αποτέλεσμα προλήψεως οξυγόνου στον έλεγχο αυτό, πρέπει να θεωρούνται σαν εύκολα βιοδιασπασίμες, υπό την προϋπόθεση ότι το επίπεδο αυτό πραγματοποιείται σε χρονικό διάστημα 10 ημερών μετρώντας από την ημέρα από την οποία το παρατηρούμενο επίπεδο βιοδιασπασιμότητας ξεπέρασε για πρώτη φορά το 10 %.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) OECD, Paris, 1981, Test Guideline 301C, Decision of the Council C(81) 30 final.
- (2) Biodegradability and bioaccumulation test of chemical substances (C-5/98/JAP), 1978.
- (3) The chemical substances control law in Japan (Chemical Products Safety Division, Basic Industries Bureau, MITI) (C-2/78/JAP), 1978.
- (4) The biodegradability and bioaccumulation of new and existing chemical substances, 5, 8 (C-3/78/JAP), 1978.

Προσάρτημα 3

Βιοδιασπασιμότητα: Τροποποιημένη μέθοδος ΜΠΠ

Ινστιτούτο ελέγχου:
 Διευθυντής μελετών:
 Ημερομηνία-ενάρξεως του ελέγχου: Πείραμα αριθ.:
 Ελεγχόμενο υλικό:
 Χημική σύνταξη:
 Αναλυτική διαδικασία:
 ThOD ή COD του ελεγχόμενου υλικού:
 Εμβόλιο:
 Θέση λαμβανομένου δείγματος:
 Συγκέντρωση:

Αποτελεσμα ελέγχου

..... επί τοις % διασπασιμότητα = $\frac{BOD - B}{ThOD} \times 100$ % μετά από 28 ημέρες
 ή
 επί τοις % διασπασιμότητα = $\frac{BOD - B}{COD} \times 100$ % μετά από 28 ημέρες
 επί τοις % διασπασιμότητα = $\frac{Sb - Sa}{Sb} \times 100$ % μετά από 28 ημέρες

Εγκυρότητα αποτελέσματος

Χημική ουσία συγκρίσεως:
 Αποτελεσμα: % διασπασιμότητα μετά από 28 ημέρες
 Αναφορά:
 Πείραμα αριθ.:
 Παρατηρήσεις:

Ο άνω χάρφος της ψήλης καλλέργειας διατηρείται πάντα υπό σταθερή πίεση οξυγόνου και η ποσότητα του οξυγόνου που καταναλώνεται στη ψήλη καλλέργειας είναι ανάλογη με την ποσότητα του ηλεκτρολυτικού οξυγόνου. Επειδή η ποσότητα αυτή του ηλεκτρολυτικού οξυγόνου είναι ανάλογη προς το χρόνο ηλεκτρολύσεως, παράγεται ένα σταθερό ρεύμα ηλεκτρολύσεως. Κατ' αυτό τον τρόπο η στροφακίγωνα ενός σύγχρονου κινητήρα (9) μετατρέπεται σε σήμα mV, μέσω του διασυνδεδεμένου ποτεναϊόμετρου, με αποτέλεσμα μία ένδειξη της ποσότητας του καταναλωθέντος οξυγόνου στον καταγραφέα (10).

Προσάρτημα 2

Υπολογισμός του θεωρητικού βιοχημικής απαιτούμενου οξυγόνου

Το ThOD της ουσίας $C_xH_yCl_zN_aNa_bO_cP_dS_e$ μοριακού βάρους MW, υπολογίζεται σύμφωνα με:

$$ThOD_{NH_4} = \frac{16 \left[2c + \frac{1}{2} (h - cl - 3n) + 3s + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{MW}$$

Ο υπολογισμός αυτός εξυπονεί ότι ο C μετατρέπεται σε CO₂, το H σε H₂O, ο P σε P₂O₅ και το Na σε Na₂O. Το αλογόνο απομακρύνεται σαν υδραλογόνο και το άζωτο σαν αμμωνία.

Παράδειγμα:

Γλυκόζη C₆H₁₂O₆, MW = 180

$$ThOD = \frac{16 \left(2 \times 6 + \frac{1}{2} \times 12 - 6 \right)}{180} = 1,07 \text{ mg O}_2/\text{mg γλυκόζης}$$

Τα μοριακά βάρη των αλάτων, εκτός των αλάτων των αλκαλιμετάλλων, υπολογίζονται με την υπόθεση ότι τα άλατα έχουν υδρολυθεί.

Το δέιο υποτίθεται ότι έχει οξειδωθεί στην κατάσταση + 6.

Παράδειγμα:

n-αλκυλοβενζοσουλφονικό νάτριο, C₁₁H₁₅SO₃Na, MW = 348

$$ThOD = \frac{16 \left(36 + \frac{29}{2} + 3 + \frac{1}{2} - 3 \right)}{348} = 2,34 \text{ mg O}_2/\text{mg ουσίας}$$

Στην περίπτωση ουσίας που περιέχει άζωτο, το άζωτο μπορεί να απομακρυνθεί σαν αμμωνία, νιτρώδες ή νιτρικό, με αντιστοιχία σε διάφορες τιμές θεωρητικού βιοχημικού απαιτούμενου οξυγόνου.

$$ThOD_{NO_2} = \frac{16 \left[2c + \frac{1}{2} (h - cl) + 3s + \frac{3}{2} n + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{MW}$$

$$ThOD_{NO_3} = \frac{16 \left[2c + \frac{1}{2} (h - cl) + 3s + \frac{5}{2} n + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{MW}$$

Εάν είχε παρατηρηθεί με ανάλυση πλήρης σχηματισμός νιτρικών στην περίπτωση δευτεροταγούς αμίνης:

(C₂H₅)₂NH, MW = 353.

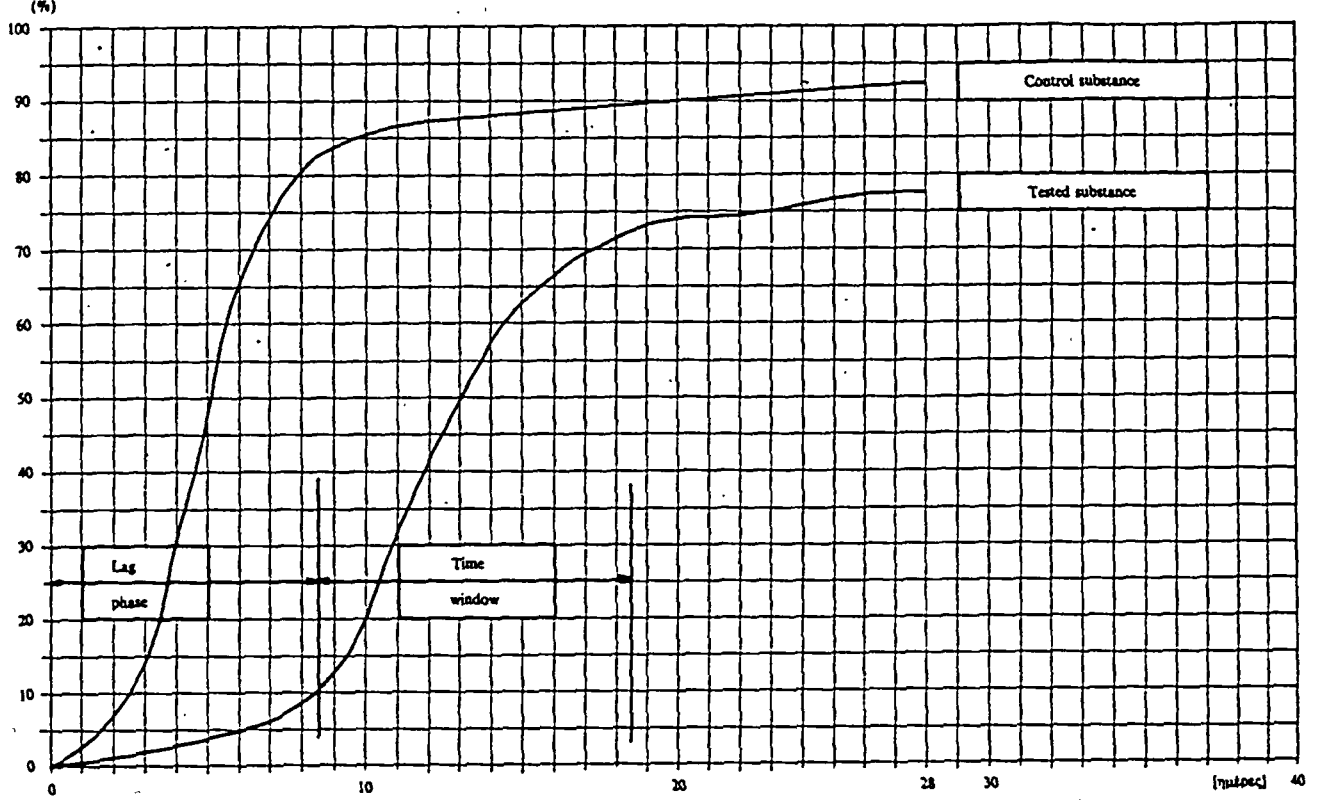
$$ThOD_{NO_2} = \frac{16 \left(48 + \frac{51}{2} + \frac{5}{2} \right)}{353} = 3,44 \text{ mg O}_2/\text{mg ουσίας}$$

Πρόσθετο 4

Τροποποιημένη μέθοδος ΜΠΠ

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πίνακας αριθ.

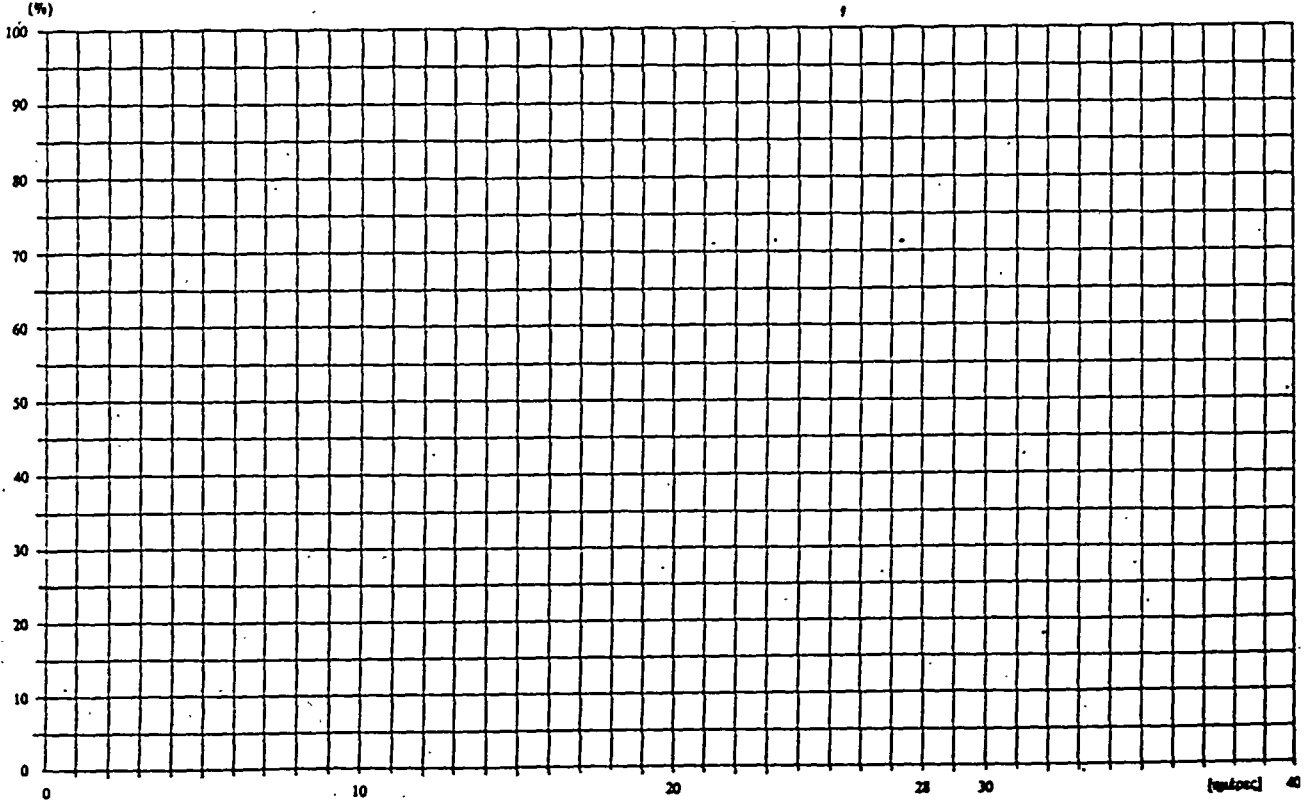
Βιοδιασκασιμότητα



Τροποποιημένη μέθοδος ΜΠΠ

Εργαστήριο ελέγχου: Ελεγχόμενη ουσία: Πίνακας αριθ.

Βιοδιασκασιμότητα



- 1.5. **Κριτήρια ποιότητας**
Ο προσδιορισμός του BOD δεν μπορεί να θεωρηθεί ως έγκυρος προσδιορισμός της βιοδιασκασιμότητας μιας ουσίας. Ο έλεγχος αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σαν βασικός έλεγχος.
- 1.6. **Περιγραφή της μεθόδου**
Παρασκευάζεται προκαταρκτικό διάλυμα ή αιώρημα της ουσίας με συγκέντρωση BOD κατάλληλη για τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο. Προσδιορίζεται ακολούθως το BOD με οποιαδήποτε κατάλληλη πρότυπη εθνική μέθοδο. Θα ήταν προτιμότερη μία διεθνής μέθοδος, που αναμένεται να καθιερωθεί.
2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΛΕΙΟΛΟΓΗΣΗ**
Υπολογίζεται το BOD που περιέχεται στο προκαταρκτικό διάλυμα σύμφωνα με την κανονικοποιημένη μέθοδο που διαλέχθηκε και μετατρέπεται σε g BOD ανά g ελεγχόμενης ουσίας.
3. **ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ**
Πρέπει να δηλώνεται η χρησιμοποιούμενη μέθοδος.
Το βιοχημικώς απαιτούμενο οξυγόνο πρέπει να είναι ο μέσος όρος τριών τουλάχιστον εγκύριων μετρήσεων.
Πρέπει να αναφέρονται όλες οι πληροφορίες και παρατηρήσεις για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ειδικά ως προς τις ζώνες προμείζεις, φυσική κατάσταση, τοξικές επιδράσεις και σχετική σύνθεση της ουσίας που μπορεί να επηρεάζει τα αποτελέσματα.
Πρέπει να αναφέρεται η χρήση προσθετικών για την παρεμπόδιση της βιολογικής διατροφής.
4. **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**
Κατάλογος χρησιμοποιούμενων μεθόδων, π.χ.:
NF T 90-103: Determination of the Biochemical Oxygen Demand.
NBN 407: Biochemical Oxygen Demand.
NEN 3235 5.4: Bepaling van het biochemisch zuurstofverbruik (BZV).
The Determination of Biochemical Oxygen Demand (Methods for the examination of Water and Associated Materials, HMSO, London).
- Γ. 9. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ
- ΧΗΜΙΚΟΣ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟ ΟΞΥΓΟΝΟ
1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**
Εισαγωγή
Σκοπός της μεθόδου είναι η μέτρηση του βιοχημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) στερεών ή υγρών οργανικών ουσιών.
- 1.1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**
Εισαγωγή
Δεδομένα που λαμβάνονται με τη μέθοδο αυτή αναφέρονται σε υδατοδιαλυτές ενώσεις: κόνιες, κηπιτικές ενώσεις καθός και εκκίνες με χαμηλή υδατοδιαλυτότητα μπορούν επίσης, τουλάχιστον κατ' αρχήν, να ελεγχθούν.
Η μέθοδος εφαρμόζεται μόνο σ' εκείνα τα οργανικά ελεγχόμενα υλικά που δεν παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων στη συγκέντρωση που χρησιμοποιείται στον έλεγχο. Αν το ελεγχόμενο υλικό δεν είναι διαλυτό στη συγκέντρωση του ελέγχου, μπορεί να χρειασθεί να χρησιμοποιηθούν ειδικές τεχνικές, τέτοιες όπως η χρήση διασκορμιστή υπερήχων, για να επιτευχθεί καλή διασπορά της ελεγχόμενης ουσίας.
Πληροφορίες για την τοξικότητα της χημικής ουσίας μπορεί να είναι χρήσιμες για την ερμηνεία χαμηλών αποτελεσμάτων και για την εκλογή των κατάλληλων συγκεντρώσεων ελέγχου.
- 1.2. **Όριοι και μονάδες**
Οι BOD ορίζεται η μάζα του διαλυμένου οξυγόνου που απαιτείται από ορισμένο όγκο διαλύματος της ουσίας για τη διαδικασία της βιοχημικής οξείδωσης υπό καθορισμένες συνθήκες.
Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε g BOD ανά g ελεγχόμενης ουσίας.
- 1.3. **Ουσίες αναφοράς**
Δεν έχουν υποδειχθεί πρότυπες ουσίες για βαθμονόμηση.
Είναι επιθυμητή η χρήση κατάλληλης χημικής ουσίας συγκρίσιμης για τον έλεγχο της δρασιμότητας του εμβόλου.
- 1.4. **Αρχή της μεθόδου**
Γνωστή ποσότητα της ουσίας, διαλυμένη ή σε διασπορά, σε καλώς αερίζόμενο κατάλληλο μέσο, εμβολάζεται με μικροοργανισμούς και εκωθείται σε σταθερή καθορισμένη θερμοκρασία, στο σκοτάδι.
Το BOD προσδιορίζεται από τη διαφορά στη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στην αρχή και στο τέλος του ελέγχου.
Η διάρκεια του ελέγχου πρέπει να είναι το λιγότερο κέντε και όχι περισσότερο από 28 ημέρες.
Πρέπει να γίνει ένας τυφλός προσδιορισμός σε παράλληλη δοκιμασία που δεν περάει ελεγχόμενη ουσία.

Γ. 8. ΔΙΑΣΠΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟ ΟΞΥΓΟΝΟ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Σκοπός της μεθόδου είναι η μέτρηση του βιοχημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) στερεών ή υγρών οργανικών ουσιών.

Δεδομένα που λαμβάνονται με τη μέθοδο αυτή αναφέρονται σε υδατοδιαλυτές ενώσεις: κόνιες, κηπιτικές ενώσεις καθός και εκκίνες με χαμηλή υδατοδιαλυτότητα μπορούν επίσης, τουλάχιστον κατ' αρχήν, να ελεγχθούν.

Η μέθοδος εφαρμόζεται μόνο σ' εκείνα τα οργανικά ελεγχόμενα υλικά που δεν παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων στη συγκέντρωση που χρησιμοποιείται στον έλεγχο. Αν το ελεγχόμενο υλικό δεν είναι διαλυτό στη συγκέντρωση του ελέγχου, μπορεί να χρειασθεί να χρησιμοποιηθούν ειδικές τεχνικές, τέτοιες όπως η χρήση διασκορμιστή υπερήχων, για να επιτευχθεί καλή διασπορά της ελεγχόμενης ουσίας.

Πληροφορίες για την τοξικότητα της χημικής ουσίας μπορεί να είναι χρήσιμες για την ερμηνεία χαμηλών αποτελεσμάτων και για την εκλογή των κατάλληλων συγκεντρώσεων ελέγχου.

1.2.

Όριοι και μονάδες

Οι BOD ορίζεται η μάζα του διαλυμένου οξυγόνου που απαιτείται από ορισμένο όγκο διαλύματος της ουσίας για τη διαδικασία της βιοχημικής οξείδωσης υπό καθορισμένες συνθήκες.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε g BOD ανά g ελεγχόμενης ουσίας.

1.3.

Ουσίες αναφοράς

Δεν έχουν υποδειχθεί πρότυπες ουσίες για βαθμονόμηση.

Είναι επιθυμητή η χρήση κατάλληλης χημικής ουσίας συγκρίσιμης για τον έλεγχο της δρασιμότητας του εμβόλου.

1.4.

Αρχή της μεθόδου

Γνωστή ποσότητα της ουσίας, διαλυμένη ή σε διασπορά, σε καλώς αερίζόμενο κατάλληλο μέσο, εμβολάζεται με μικροοργανισμούς και εκωθείται σε σταθερή καθορισμένη θερμοκρασία, στο σκοτάδι.
Το BOD προσδιορίζεται από τη διαφορά στη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στην αρχή και στο τέλος του ελέγχου.

Η διάρκεια του ελέγχου πρέπει να είναι το λιγότερο κέντε και όχι περισσότερο από 28 ημέρες.

Πρέπει να γίνει ένας τυφλός προσδιορισμός σε παράλληλη δοκιμασία που δεν περάει ελεγχόμενη ουσία.

Εισαγωγή

Σκοπός της μεθόδου είναι η μέτρηση του χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (COD) στερεών ή υγρών οργανικών ουσιών με ένα πρότυπο αυθαίρετο τρόπο, υπό καθορισμένες εργαστηριακές συνθήκες.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Υπολογίζεται το COD που περιέχεται στην περιστατική ψάλλα, σύμφωνα με την κανονικοποιημένη μέθοδο που διαλέχθηκε και μετατρέφεται σε g COD ανά g ελεγχόμενης ουσίας.

ΣΥΝΤΑΣΗ ΕΚΘΕΣΕΩΣ

Πρέπει να δηλώνεται η χρησιμοποιηθείσα μέθοδος.

Το χημικό απαιτούμενο οξυγόνο πρέπει να είναι ο μέσος όρος τριών τουλάχιστον μετρήσεων. Πρέπει να αναφέρονται όλες οι πληροφορίες και παρατηρήσεις για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ειδικά ως προς τις ξένες προσμίξεις, φυσική κατάσταση και σχετικές ιδιότητες της ουσίας (αν είναι γυαλιστά) που μπορεί να επηρεάζουν τα αποτελέσματα.

Πρέπει να αναφέρεται η χρήση βεβαίως υδράργυρου που μειώνει την παρεμπόδιση των χλωριδίων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Κατάλογος προτύπων μεθόδων, π.χ.:

NBN T 91—201: Determination of the Chemical Oxygen Demand.

ISBN O 11 7512494: Chemical Oxygen Demand (dichromate value) of polluted and waste waters.

NF T 90—101: Determination of the Chemical Oxygen Demand.

DS 217: Water Analysis: Determination of the Chemical Oxygen Demand.

DIN 38409 — II — 41: Determination of the Chemical Oxygen Demand (COD) within the range above 15 mg/l.

NEN 3235 5.3: Bepaling van het chemisch zuurstofverbruik.

ISO DP 6060: Water Quality: Chemical Oxygen Demand Dichromate Methods.

Γ. 10. ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ

ΑΒΙΟΤΙΚΗ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ: ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΣΑΝ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΤΟΥ pH

ΜΕΘΟΔΟΣ

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην κατευθυντήρια οδηγία ελέγχου του ΟΟΣΑ (1).

Εισαγωγή

Η υδρόλυση είναι σημαντική αντίδραση που ελέγχει την αβιοτική αποικοδόμηση. Η ιδιότητα αυτή αφορά ιδιαίτερα τις ουσίες με χαμηλή βιοαποικοδόμηση* μπορεί να επηρεάσει τη διάρκεια παραμονής μιας ουσίας στο περιβάλλον.

Οι περισσότερες αντιδράσεις υδρόλυσης είναι υδρο-κρότης τέλειως και η* αυτό οι ημιπερίοδοι ζωής τους ανεξάρτητες της συγκέντρωσής. Αυτό συνήθως επιτρέπει τον υπολογισμό διά προεκτίμησης των αποτελεσμάτων που βλίσκει κανείς όταν εργάζεται με συγκεντρώσεις εργαστηρίου, στις συνθήκες του περιβάλλοντος.

Πληροφορίες για τον τύπο της ουσίας θα είναι χρήσιμες κατά την εκτέλεση του ελέγχου και την ερμηνεία του λαμβανόμενου αποτελέσματος (π.χ. αλογονούχα άλατα, σιδηρούχα άλατα οργανικών ενώσεων, οργανοχλωριούχες ενώσεις).

1.2. Ορισμοί και μονάδες

Το χημικό απαιτούμενο οξυγόνο είναι μέτρο της επιδεκτικότητας προς οξείδωση μιας ουσίας και εκφράζεται ως το ισοδύναμο ποσό σε οξυγόνο ενός οξειδωτικού παράγοντα, που καταναλώνεται από την ουσία, υπό καθορισμένες εργαστηριακές συνθήκες.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε g COD ανά g ελεγχόμενης ουσίας.

1.3. Ουσίες αναφοράς

Ουσίες αναφοράς δεν είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάζεται μια νέα ουσία. Αυτό θα χρησιμοποιεί, κατ' ερμηνεία, για τη βαθμολόγηση της μεθόδου, από καιρού εις καιρό, και για να προσφέρει τη δυνατότητα συγκρίσεως αποτελεσμάτων σε περιπτώσεις που εφαρμόζεται άλλη μέθοδος.

1.4. Αρχή της μεθόδου

Γνωστή ποσότητα της ουσίας διαλύεται ή διασπείρεται σε νερό, οξειδώνεται με διχρωμικό κάλιο σε ισχυρό οξύ με θετικό οξύ περιβάλλον, με θετικό έργο σαν καταλύτη, επί δύο όρες υπό επαναρροή. Το υπόλοιπο διχρωμικό προσδιορίζεται με τιτλοδότηση με κανονικό διάλυμα εναντιώνου θετικού σιδήρου.

Στην περίπτωση ουσιών που περιέχουν χλώριο, προστίθεται θετικός υδράργυρος για να ελαττώσει την παρεμπόδιση από τα χλωριόνια.

1.5. Κριτήρια ποιότητας

Λόγω του ευαίρετου τρόπου του προσδιορισμού, το COD πρέπει να θεωρείται περισσότερο σαν «δείκτης οξειδωτικότητας» παρά σαν μέτρο οργανικής ύλης.

Σ' αυτό τον έλεγχο τα χλωριόνια μπορεί να παρεμποδίσουν* ανόργανοι αναγωγικοί ή οξειδωτικοί παράγοντες μπορεί επίσης να παρεμποδίσουν τον προσδιορισμό του COD.

Μερικές ευκλιτικές ενώσεις δεν οξειδώνονται πλήρως με τον έλεγχο αυτό.

1.6. Περιγραφή της μεθόδου

Παρασκευάζεται προκαταρκτικό διάλυμα ή διασπορά της ουσίας με το COD μεταξύ 250 και 600 mg/l.

Παρατήρηση:

Στην περίπτωση ουσιών με χαμηλή διαλυτότητα και οι οποίες δεν μπορούν να σχηματίσουν διασπορά, γίνεται ποσότητα λεπτής σκόνης της ουσίας, ή υψηλής ουσίας, αντίστοιχη με 5 mg COD και φέρεται στην κεραιματική συσκευή με νερό.

Προσδιορίζεται ακολούθως το COD με οποιαδήποτε κατάλληλη πρότυπη εθνική μέθοδο, ενώ αναμένεται η δημοσίευση μιας διεθνούς πρότυπης μεθόδου, που θα ήταν προτιμότερη.

Ουσίες αναφοράς

Δεν είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάζεται μια νέα ουσία. Αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για τον έλεγχο ακοδόσεως της μεθόδου από καιρό σε καιρό και για να δώσουν τη δυνατότητα συγκρίσεως αποτελεσμάτων όταν εφαρμόζεται άλλη μέθοδος.

Ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ασπιρίνη)

Φωσφορβενικό οξύ 0,0-δ-αιθυλο 0-(6-μεθυλο-2-(1-μεθυλαμινο)πυριμιδινύλο)εστέρας (Διμυλάτ, Διαζύ-νόν) έχουν χρησιμοποιηθεί σαν ουσίες αναφοράς (1).

Αρχή της μεθόδου

Η ουσία διαλύεται σε νερό σε χαμηλή συγκέντρωση και ελέγχονται το pH και η θερμοκρασία.

Η ελάττωση της συγκεντρώσεως της ουσίας με την πάροδο του χρόνου παρακολουθείται με οποιαδήποτε κατάλληλη αναλυτική μέθοδο. Χάρσονται γραφική παράσταση με το λογάριθμο της συγκεντρώσεως έναντι του χρόνου και, εάν η γραμμή είναι ευθεία, μπορεί από την κλίση της να ληφθεί η σταθερά της ταχύτητας πρώτου βαθμού (σημείο 2). Εάν πρακτικά δεν είναι δυνατό να προσδιορισθεί η σταθερά της ταχύτητας απευθείας για μια ιδιαίτερη θερμοκρασία, είναι συνήθως δυνατό να προσδιορισθεί η σταθερά αυτή με την βοήθεια της σχέσεως του Arrhenius, που δίνει την εξάρτηση της σταθεράς της ταχύτητας από τη θερμοκρασία. Από την ευθεία που λαμβάνεται με τη χάρσξη του λογαρίθμου της σταθεράς της ταχύτητας, που προσδιορίστηκε σε κατάλληλες θερμοκρασίες σαν συνάρτηση του αντιστρόφου της απόλυτης θερμοκρασίας (K), είναι δυνατόν να εκτιμηθεί η τιμή της σταθεράς της ταχύτητας, που δεν ήταν δυνατό να μετρησομε απευθείας.

Κριτήρια ποιότητας

Αναφέρεται στην παρακομή (7) ότι οι μετρήσεις των σταθερών της ταχύτητας της υδρολίσεως σε 13 κατηγορίες οργανικών δομών μπορεί να είναι μεγάλης ακρίβειας. Η εστανληνιμότητα εξαρτάται ιδιαίτερα από την τιμή του pH και τη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου, μπορεί δε να εκηρασθεί από την παρουσία μικροοργανισμών.

Περιγραφή της μεθόδου

Αντιδραστήρια

Ρυθμιστικά διαλύματα

1.3.

Επιπλέον έχουν αναφερθεί αρκετά παραδείγματα (2), που δείχνουν ικανοποιητική σχέση μεταξύ των ευρισκόμενων αποτελεσμάτων και των αποτελεσμάτων που παρατηρούνται στα καθαρά και φυσικά νερά, και τούτο για αρκετούς τύπους χημικών ουσιών.

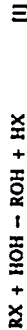
Για την εκτέλεση της μεθόδου αυτής για έλεγχο μιας ουσίας, χρήσιμο είναι να έχουμε προκαταρκτικές πληροφορίες για την τάση ατμών αυτής.

Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί μόνο σε ουσίες διαλυτές στο νερό. Οι προμειχθείς επηρεάζουν συνήθως τα αποτελέσματα.

Η υδρολυτική συμπεριφορά των χημικών ουσιών πρέπει να εξετάζεται σε τιμές pH που απαντούν συχνότερα στο περιβάλλον (pH 4 έως 9).

1.2. Ορισμοί και μονάδες

Η υδρόλυση αναφέρεται στην αντίδραση χημικής ουσίας RX με νερό. Η αντίδραση αυτή μπορεί να παρασταθεί με την κλίση ανταλλαγή της ομάδας X με OH:



Η ταχύτητα με την οποία ελαττώνεται η συγκέντρωση του RX δίνεται από τη σχέση:

$$\text{Ταχύτητα} = k [H_2O] \cdot [RX] \quad [2]$$

Επειδή το νερό υπάρχει σε μεγάλη περίσσεια σε σχέση με την ουσία, ο τύπος αυτός της αντιδράσεως περιγράφεται συνήθως στην αντίδραση ψευδο-πρώτης τάξεως, στην οποία η παρατηρούμενη σταθερά ταχύτητας δίνεται από τη σχέση:

$$k_{app} = K \times [H_2O] \quad [3]$$

Η σταθερά αυτή μπορεί να προδιορισθεί για μια τιμή pH και μια θερμοκρασία T_1 με τη βοήθεια του τύπου:

$$k_{app} = \frac{2,303}{t} \times \log \frac{C_0}{C_t} \quad [4]$$

όπου:

t = χρόνος

C_0 = η συγκέντρωση της ουσίας σε χρόνο 0

C_t = η συγκέντρωση της ουσίας σε χρόνο t και

2,303 = ο συντελεστής μετατροπής μεταξύ φυσικών και δεκαδικών λογαρίθμων.

Οι συγκεντρώσεις εκφράζονται σε g/l ή mole/l.

Σαν ημικατερός ζωής $t_{1/2}$ ορίζεται ο χρόνος που απαιτείται για να ελαττωθεί η συγκέντρωση της εξεταζομένης ουσίας κατά 50 %, δηλαδή:

$$C_t = 1/2 C_0 \quad [5]$$

Από τις σχέσεις [4] και [5] μπορεί να αποδειχθεί κανείς ότι:

$$t_{1/2} = 0,693/k_{app} \quad [6]$$

1.4.

1.5.

1.6.

1.6.1.

1.6.1.1.

1.6.5.1.

Προκαταρκτικός έλεγχος

Για όλες τις ουσίες πρέπει να γίνεται προκαταρκτικός έλεγχος στους $50 \pm 0,5$ °C και για τρεις τιμές pH: 4,0, 7,0 και 9,0. Πίνονται αρκετές μετρήσεις για να καταστεί δυνατό να εκτιμηθεί αν, για κάθε τιμή pH στους 50 °C, η περιεκτικότητα (ή) είναι μικρότερη από 2,4 ώρες ή αν, μετά την πάροδο πέντε ημερών, απαιτείται υδρόλυση κάτω του 10 %. [Μπορεί κανείς να εκτιμήσει ότι οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε ημιπεριόδους ζωής χαμηλότερες της μιας ημέρας ή υψηλότερες του ενός χρόνου υπό συνθήκες που αντιπροσωπεύουν καλύτερα τις συνθήκες του περιβάλλοντος (25 °C)].

Εάν ο προκαταρκτικός έλεγχος δείξει ότι 50 % ή περισσότερο του 50 % της εξεταζόμενης ουσίας έχει υδρόλυση σε 2,4 ώρες, σε 50 °C, ή ότι λιγότερο του 10 % αυτής υδρόλύθηκε μετά από πέντε ημέρες, σε καθένα από τις τιμές pH (4, 7 και 9) δεν χρειάζεται περαιτέρω έλεγχο.

Σε άλλες περιπτώσεις και για ειδικές τιμές pH, για τις οποίες δεν πληρώθηκε ο όρος αυτός, γίνεται ο έλεγχος αριθ. 1.

1.6.5.2.

Έλεγχος αριθ. 1

Ο έλεγχος αριθ. 1 εκτελείται σε μια θερμοκρασία κατά προτίμηση στους $50 \pm 0,5$ °C υπό άσηπτες συνθήκες (αποστειρωσώς), για εκείνες τις τιμές του pH για τις οποίες ο προκαταρκτικός έλεγχος έχει δείξει την ανάγκη περαιτέρω έλεγχου.

Επιλέγεται αρκετός αριθμός δειγμάτων (όχι λιγότερα από τέσσερα), που να καλύπτει την περιοχή μεταξύ 20 και 70 % της υδρόλυσως, για να ελεγχθεί αν η συμπεριφορά της ουσίας στην ειδική αυτή τιμή του pH είναι ψευδοπρώτης τάξεως.

Προσδιορίζεται η τάξη της αντίδρασως για καθένα από τις τιμές pH για την οποία εκτελείται ο έλεγχος αριθ. 1.

Εκτίμηση της σταθεράς της ταχύτητας στους 25 °C:

Η απόφαση για το πώς θα πραγματοποιηθούν πειραματικά εξαρτάται από το αν μπορεί να βγει συμπέρασμα από τον έλεγχο αριθ. 1, ότι η αντίδραση είναι ή όχι ψευδο-πρώτης τάξεως.

Εάν μπορεί να προκύψει με βεβαιότητα το συμπέρασμα από τον έλεγχο αριθ. 1, ότι η αντίδραση είναι ψευδο-πρώτης τάξεως, τα πειράματα πρέπει να συνεχιστούν, όπως περιγράφεται στον έλεγχο αριθ. 2.

Εάν δεν μπορεί να προκύψει με βεβαιότητα από τον έλεγχο αριθ. 1, ότι αντίδραση είναι ψευδο-πρώτης τάξεως, τα πειράματα πρέπει να συνεχιστούν, όπως περιγράφεται στον έλεγχο αριθ. 3.

Εναλλακτικά, μπορεί υπό ειδικές συνθήκες να είναι δυνατόν να υπολογισθούν οι σταθερές της ταχύτητας στους 25 °C από τις σταθερές στους 50 °C, που έχουν υπολογισθεί από τα αποτελέσματα του ελέγχου αριθ. 1 (βλέπε σημείο 3.2).

1.6.5.3.

Έλεγχος αριθ. 2

Ο έλεγχος αυτός εκτελείται για κάθε τιμή του pH για την οποία τα αποτελέσματα του ελέγχου αριθ. 1 έδειξαν την ανάγκη γι' αυτό, ή σε μία θερμοκρασία χαμηλότερη των 40 °C ή σε δύο θερμοκρασίες υψηλότερες των 50 °C, που διαφέρουν μεταξύ τους τουλάχιστον κατά 10 °C.

Για κάθε τιμή pH και θερμοκρασία, για την οποία εκτελείται ο έλεγχος αριθ. 2, πρέπει να λαμβάνονται τουλάχιστον έξι κατάλληλα απζήγοντα σημεία δεδομένων, ώστε οι βεβαί υδρόλυσως να βρίσκονται στην περιοχή 20 έως 70 %.

Για μια τιμή pH και μία θερμοκρασία ο προσδιορισμός εκτελείται εις διπλούν. Όταν ο έλεγχος αριθ. 2 γίνεται σε δύο θερμοκρασίες πάνω από τους 50 °C, προσδιορισμός εις διπλούν γίνεται κατά προτίμηση στη χαμηλότερη από τις δύο αυτές θερμοκρασίες.

Ο έλεγχος γίνεται σε τρεις τιμές pH: 4,0, 7,0 και 9,0

Για το σκοπό αυτό πρέπει να παρασκευασθούν ρυθμιστικά διαλύματα με αντιδραστικότητα αναλυτικής καθαρότητας και αμεταβλητό ή ακινονημένο αποστειρωμένο νερό. Μερικά παραδείγματα συστημάτων ρυθμιστικών διαλυμάτων παρουσιάζονται στο προσάρτημα 1.

Το χρησιμοποιούμενο ρυθμιστικό σύστημα μπορεί να επιλέξει την ταχύτητα υδρόλυσως και, σε περίπτωση που απαιτείται κάτι τέτοιο, πρέπει να χρησιμοποιηθεί άλλο εναλλακτικό ρυθμιστικό διάλυμα. Στην παρακολοπιή (2) συνιστάται η χρήση βορικού ή οξικού ρυθμιστικού αντί φωσφορικού.

Εάν το pH των ρυθμιστικών διαλυμάτων δεν είναι γνωστό στη θερμοκρασία στην οποία γίνεται ο έλεγχος, η τιμή του προσδιορίζεται με βαθμονομημένο πεζόμετρο για την επιλεγμένη αυτή θερμοκρασία και με ακρίβεια $\pm 0,1$ μονάδων pH.

1.6.1.2.

Διαλύματα ελέγχου

Η εξεταζόμενη ουσία πρέπει να διαλυθεί στο ρυθμιστικό διάλυμα που έχει επιλεγεί για το σκοπό αυτό, η δε συγκέντρωσή της (της ουσίας) δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,01 M ή το ήμισυ της συγκεντρώσως κορεσού της ουσίας και, πάντως, να μην υπερβαίνει τη χαμηλότερη από τις δύο αυτές συγκεντρώσως. Η χρήση οργανικών διαλυτών, αναμειγμένων με νερό, συνιστάται μόνο για ουσίες χαμηλής διαλυτότητας στο νερό. Το ποσό του διαλύτη πρέπει να είναι κάτω του 1 % και να μην παρεμποδίζει την υδρολυτική διαδικασία.

1.6.3.

Συσκευή

Πρέπει να χρησιμοποιούνται πειρατισμένες φιάλες και να αποφεύγεται το γράσο στις εμυρισμένες ενόσως.

Εάν η χημική ουσία ή το ρυθμιστικό σύστημα είναι κηκτική ή αν ο έλεγχος γίνεται σε ανεβαρισμένες θερμοκρασίες, είναι προτιμότερο οι σφραγισμένοι ή κλειστοί με διάφραγμα (septum) σωλήνες, στους οποίους πρέπει ν' αποφεύγεται ο κενός χώρος.

1.6.4.

Αναλυτική μέθοδος

Η αναλυτική μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί θα εξαρτηθεί από τη φύση της ουσίας και πρέπει να είναι αρκετά ακριβής και ευαίσθητη για να μπορεί να προσδώσει μια ελάττωση της αρχικής συγκεντρώσως κατά 10 %. Η μέθοδος πρέπει να είναι ειδική για τον προσδιορισμό της εξεταζόμενης ουσίας στις συγκεντρώσως του διαλύματος ελέγχου και μπορεί να αποτελεί συνδυασμό κατάλληλων αναλυτικών τεχνικών.

1.6.4.

Συνθήκες ελέγχου

Οι έλεγχοι (προσομοιωτικοί) γίνονται σε ελαστό χώρο θερμοστατικά ελεγχόμενο ή σε λουτρό σταθερής θερμοκρασίας $\pm 0,5$ °C. Η θερμοκρασία θα μετράται με ακρίβεια $\pm 0,1$ °C. Με κατάλληλα μέσα πρέπει να αποφεύγονται φωτολυτικές επιδράσεις. Πρέπει επίσης να λαμβάνονται όλες οι κατάλληλες προφυλάξεις για να αποκλεισθεί η παρουσία διαλυμένου οξυγόνου (π.χ. διάσπαση αζότου ή αργού για 5 λεπτά πριν από την παρασκευή του διαλύματος).

1.6.5.

Πορεία ελέγχου

- για την μη ψευδο-πρώτης τάξεως αντίδραση, τα αποτελέσματα γραφικής παραστάσεως του λογαρίθμου της συγκεντρώσεως έναντι του χρόνου,
- κάθε πληροφορία και παρατήρηση που έχει σχέση με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

3.2.

Ενδέχεται να είναι δυνατόν να υπολογισθούν παραδεκτές τιμές των σταθερών ταχύτητας (στους 25 °C) των εξεταζομένων ουσιών, αρκεί να υπάρχουν ήδη πειραματικές τιμές της ενέργειας ενεργοποιήσεως της εξεταζόμενης ουσίας οι οποίες προσομοιάζουν με τις πειραματικές αυτές τιμές.

4. ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

- (1) ΟΟΣΑ, Παρίσι 1981, Κατευθυντήρια οδηγία ελέγχου ΙΙΙ, Απόφαση του Συμβουλίου C(81) 30 final.
- (2) ΟΟΣΑ, Παρίσι 1981, Κατευθυντήρια οδηγία ελέγχου ΙΙΙ, Απόφαση του συμβουλίου C(81) 30 final - παραπομπή (2).

$k_{app} = κλίση \times 2,303$

Προσάρτημα

Επιπλέον, μπορεί να υπολογισθεί ο $t_{1/2}$ σύμφωνα με την εξίσωση [6]. Υπολογίσατε k_{21} εφαρμόζοντας την εξίσωση του Arrhenius, όπου τούτου είναι εφικτό.

Για συμπεριφορά μη ψευδο-πρώτης τάξεως, βλέπε σημείο 3.1.

3.

ΕΚΘΕΣΗ

3.1. Σύνταξη έκθεσως

Η έκθεση ελέγχου πρέπει, αν είναι δυνατό, να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- προδιαγραφή της ουσίας (τευτότητα και ξένες προσμιμείξεις),
- ότι αποτελέσματα έχουν ληφθεί με ουσίες αναφοράς,
- την αρχή και λεπτομέρειες της αναλυτικής μεθόδου που έχει χρησιμοποιηθεί,
- για κάθε έλεγχο, τη θερμοκρασία, την τιμή του pH, τη σύνθεση του ρυθμιστικού διαλύματος και έναν πίνακα με όλα τα δεδομένα συγκεντρώσεως-χρόνου,
- για την αντίδραση ψευδο-πρώτης τάξεως, τις τιμές k_{app} και $t_{1/2}$ και τη διαδικασία υπολογισμού τους,

ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

A. CLARK και LUBS

Οι τιμές pH που αναφέρονται σ' αυτούς τους πίνακες έχουν υπολογιστεί από τις βασικές μετρήσεις, χρησιμοποιώντας τις πρότυπες εξισώσεις του Sørensen (1909). Οι πραγματικές τιμές του pH είναι 0,04 μονάδες υψηλότερες από τις τιμές που εκτίθενται στον πίνακα.

Σύνθεση

Σύνθεση	pH
0,1 M δξίνο φθαλικό κάλιο + 0,1 N HCl σε 20 °C	3,8
2,63 ml 0,1 N HCl + 50 ml φθαλικό στα 100 ml	
0,1 M δξίνο φθαλικό κάλιο + 0,1 N NaOH σε 20 °C	4,0
0,40 ml 0,1 N NaOH + 50 ml φθαλικό στα 100 ml	
3,70 ml 0,1 N NaOH + 50 ml φθαλικό στα 100 ml	4,2
0,1 M φωσφορικό μονοκάλιο + 0,1 N NaOH σε 20 °C	
23,45 ml 0,1 N NaOH + 50 ml φωσφορικό στα 100 ml	6,8
29,63 ml 0,1 N NaOH + 50 ml φωσφορικό στα 100 ml	
35,00 ml 0,1 N NaOH + 50 ml φωσφορικό στα 100 ml	7,2
0,1 M H ₂ BO ₃ σε 0,1 M KCl + 0,1 N NaOH σε 20 °C	
16,30 ml 0,1 N NaOH + 50 ml βορικό οξύ στα 100 ml	8,8

Για κάθε τιμή pH και θερμοκρασία, στην οποία εκτελείται ο έλεγχος αριθ. 2, πρέπει, εφόσον είναι δυνατόν, να δίνεται μια γραφική εκτίμηση της ημικυκλικής ζωής ($t_{1/2}$).

1.6.5.4. Έλεγχος αριθ. 3

Ο έλεγχος αυτός εκτελείται σε κάθε τιμή του pH για την οποία τα αποτελέσματα του ελέγχου αριθ. 1 έδειξαν ότι είναι απαραίτητος, ή σε μια θερμοκρασία κάτω των 40 °C ή σε δύο θερμοκρασίες άνω των 50 °C, που διαφέρουν μεταξύ τους τουλάχιστον κατά 10 °C.

Για κάθε τιμή pH και θερμοκρασία, για την οποία εκτελείται ο έλεγχος αριθ. 3, επιλέγονται τρία σημεία δεδομένων, το πρώτο στο χρόνο 0 και το δεύτερο και το τρίτο όταν ο βαθμός υδρωλύσεως είναι μεγαλύτερος του 30 % υπολογίζεται η παρατηρούμενη σταθερά k_{app} και ο $t_{1/2}$.

2.

Δεδομένα

Για συμπεριφορά ψευδο-πρώτης κατηγορίας, οι τιμές k_{app} για κάθε τιμή pH και κάθε θερμοκρασία, στην οποία έγιναν οι έλεγχοι, μπορεί να ληφθούν από τις γραφικές παραστάσεις του λογαρίθμου της συγκεντρώσεως έναντι του χρόνου, από τη σχέση:

0,05 M βόρακας + 0,1 N NaOH

9,0
9,2

KOHLHOFF & VLESCHOUWER

Σύνθεση

pH

2,0 ml 0,1 N NaOH + 50 ml κτρικό στα 100 ml
 3,0 ml 0,1 N NaOH + 50 ml κτρικό στα 100 ml
 16,3 ml 0,1 N NaOH + 50 ml κτρικό στα 100 ml

3,8
4,0
4,2

C. SORENSEN

0,05 M βόρακας + 0,1 N HCl

Σύνθεση		pH			
ml βόρακα	ml HCl	Sorensen 18 °C	Waibum		
			10 °C	40 °C	70 °C
8,0	2,0	8,91	8,96	8,77	8,59
8,5	1,5	9,01	9,06	8,86	8,67
9,0	1,0	9,09	9,14	8,94	8,74
9,5	0,5	9,17	9,22	9,01	8,80
10,0	0,0	9,24	9,30	9,08	8,86

Σύνθεση		pH			
ml βόρακα	ml NaOH	Sorensen 18 °C	Waibum		
			10 °C	40 °C	70 °C
10,0	0,0	9,24	9,30	9,08	8,86
9,0	1,0	9,36	9,42	9,18	8,94
8,0	2,0	9,50	9,57	9,30	9,02
7,0	3,0	9,68	9,76	9,44	9,12

Άρθρο 5.

Η ισχύς της παρούσας απόφασης, αρχίζει από τη δημοσίευση της στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως, εκτός από το άρθρο 3, του οποίου η ισχύς αρχίζει την 1η Ιανουαρίου 1986 και εκτός από το άρθρο 4 του οποίου η ισχύς αρχίζει την 1η Ιουλίου 1986.

Ο Πρόεδρος
ΣΤΕΛ. ΧΑΤΖΙΠΙΤΤΑΝΑΚΟΣ
 Ο Γραμματέας
ΧΑΡ. ΧΑΜΑΛΙΔΗΣ

Τα Μέλη

Ζωή Εινακή—Βασιλά, Π. Κώτης, Χρ. Τσεκούρας, Ευάγγ. Τσιγαρέτας, Ανδρ. Καρετζέουλος, Διον. Φραγκιάς.
 Επιμόρφωση την παρακάτω απόφαση του Ανωτάτου Χημικού Σμβούλου, καθώς και τη δημοσίευσή της στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως.

Αθήνα, 14 Φεβρουαρίου 1985

ΟΙ ΥΠΟΥΡΓΟΙ

ΥΠΟΥΡΓΟΣ ΕΘΝΙΚΗΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΑΝΑΠΛ. ΥΠΟΥΡΓΟΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ
ΠΑΝΑΓ. ΡΟΥΜΕΛΙΩΤΗΣ **ΔΗΜ. ΤΣΟΒΟΛΑΣ**