



Section 1
Propriétés physico-chimiques

Essai n° 111:
Hydrolyse en fonction du pH

25 juin 2025

**Lignes directrices de l'OCDE pour
les essais de produits chimiques**



LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

HYDROLYSE EN FONCTION DU PH

INTRODUCTION

1. Les produits chimiques qui pénètrent dans les eaux de surface par différentes voies (applications directes, déperditions lors de l'épandage, drainages, élimination de déchets, effluents industriels, domestiques ou agricoles et dépôts atmosphériques) peuvent y être transformés sous l'action de processus chimiques (hydrolyse ou oxydation, par exemple), photochimiques et/ou microbiens. Cette Ligne directrice décrit une méthode d'essai en laboratoire permettant d'évaluer les transformations hydrolytiques abiotiques des produits chimiques chimiques en milieux aquatiques à des valeurs de pH normalement rencontrées dans l'environnement (pH de 4 à 9), et est basée sur les Lignes directrices existantes (1)(2)(3)(4)(5)(6)(7).
2. Des expériences sont menées pour déterminer : (i) le taux d'hydrolyse du produit chimique d'essai en fonction du pH, et (ii) l'identité ou la nature et les taux de formation et de disparition des produits d'hydrolyse auxquels les organismes peuvent être exposés. De telles études peuvent être requises pour les produits chimiques qui sont appliquées directement dans l'eau ou qui sont susceptibles d'atteindre l'environnement par les différentes voies décrites ci-dessus.

PRINCIPE DE L'ESSAI

3. Des solutions aqueuses tampon stériles de différents pH (pH 4, 7 et 9) sont traitées avec le produit chimique d'essai et incubées dans l'obscurité dans des conditions expérimentales contrôlées (à des températures constantes). Après des intervalles de temps appropriés, on analyse les solutions tampon pour déterminer la présence du produit chimique d'essai et des produits d'hydrolyse. Avec un produit chimique d'essai marqué (par exemple, au ^{14}C), il est plus facile d'établir un bilan massique.
4. Cette Ligne directrice décrit une approche à plusieurs niveaux, dont le détail est donné dans l'Annexe 1. Chaque niveau est déclenché par les résultats du niveau précédent.

APPLICABILITÉ DE L'ESSAI

5. Cette méthode est globalement applicable aux produits chimiques (marquées ou non) pour lesquelles il existe une méthode analytique suffisamment sensible et précise. Elle convient également pour les composés légèrement volatils et non volatils suffisamment solubles dans l'eau. En revanche, cet essai ne peut pas être appliqué aux produits chimiques hautement volatils dans l'eau (fumigants et solvants organiques, par exemple) impossibles à maintenir en solution dans les conditions expérimentales de l'essai. De même, avec les produits chimiques trop peu solubles dans l'eau, la réalisation de cet essai peut s'avérer difficile (8).

INFORMATIONS SUR LE PRODUIT CHIMIQUE D'ESSAI

6. Des produits chimiques d'essai marqués ou non peuvent être utilisés pour mesurer le taux d'hydrolyse. Les matières marquées conviennent généralement mieux pour étudier le chemin réactionnel de l'hydrolyse et établir un bilan massique. Toutefois, dans certains cas particuliers, le marquage n'est pas impératif. Le marquage au ^{14}C est recommandé, mais l'utilisation d'autres isotopes (^{13}C , ^{15}N , ^3H , par exemple) peut aussi convenir. Autant que possible, le marquage doit être normalement placé dans la partie la plus stable de la molécule. Par exemple, si le produit chimique d'essai comporte un cycle, le marquage de celui-ci est requis. En revanche, pour le produit chimique d'essai comportant deux cycles ou plus, il peut être nécessaire de procéder à des études distinctes pour évaluer le sort de chaque cycle marqué et obtenir les informations requises sur la formation des produits d'hydrolyse. Cependant, la partie la plus stable n'inclut pas nécessairement la partie fonctionnelle de la molécule (qui peut être liée à une propriété spécifique de la toxicité ou de la bioaccumulation, etc). Si cela est le cas, il convient d'utiliser un produit chimique d'essai supplémentaire, marqué dans la partie fonctionnelle, afin de suivre l'élimination de la propriété spécifique en question. La pureté du produit chimique d'essai doit être au moins de 95 pour cent.

7. Avant de procéder à un essai d'hydrolyse, il convient de rassembler les informations suivantes sur le produit chimique d'essai :

- (a) solubilité dans l'eau [Ligne directrice 105 de l'OCDE] (9) ;
- (b) solubilité dans les solvants organiques ;
- (c) pression de vapeur [Ligne directrice 104 de l'OCDE] (10) et/ou constante de Henry ;
- (d) coefficient de partage n-octanol/eau [Lignes directrices 107 et 117 de l'OCDE] (11)(12) ;
- (e) constante de dissociation (pK_a) [Ligne directrice 112 de l'OCDE] (13) ;
- (f) vitesse de phototransformation directe et indirecte dans l'eau, si besoin.

8. Les méthodes analytiques employées pour quantifier le produit chimique d'essai et, le cas échéant, identifier et quantifier les produits d'hydrolyse dans les solutions aqueuses doivent être disponibles (voir également les paragraphes 12 et 13).

SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE

9. Lorsque cela est possible, il convient d'utiliser des substances de référence pour identifier et quantifier les produits d'hydrolyse par analyse spectroscopique et chromatographique, ou autres méthodes suffisamment fines.

DÉFINITIONS ET UNITÉS

10. Voir l'Annexe 2.

CRITÈRES DE QUALITÉ

Récupération

11. L'analyse, au minimum de deux solutions tampon, ou de leurs extraits, immédiatement après l'ajout du produit chimique d'essai donne une première indication de la répétabilité de la méthode analytique et de l'uniformité de la procédure d'application du produit chimique d'essai. Ce sont les bilans massiques (dans le cas d'une matière marquée) qui permettent ensuite d'établir aux étapes suivantes la récupération des produits chimiques testés. La récupération des produits chimiques, marqués ou non, doit être comprise entre 90 et 110 pour cent (7). S'il est techniquement difficile d'atteindre cette plage de valeurs, une récupération de 70 pour cent des produits chimiques non marqués est acceptable, mais celle-ci doit faire l'objet d'une justification.

Répétabilité et sensibilité de la méthode analytique

12. Pour contrôler la répétabilité de la (ou des) méthode(s) analytique(s) utilisée(s) pour quantifier le produit chimique d'essai et les produits d'hydrolyse, on peut procéder à deux analyses des mêmes solutions tampon (ou de leurs extraits) après que des produits d'hydrolyse ont été formés en quantités suffisantes pour permettre une quantification.

13. La méthode analytique doit être suffisamment sensible pour permettre de quantifier des concentrations du produit chimique d'essai jusqu'à 10 pour cent, ou moins, de la concentration initiale. Le cas échéant, les méthodes analytiques doivent également permettre de quantifier tout produit d'hydrolyse représentant 10 pour cent ou plus du produit chimique appliqué (à n'importe quel moment au cours de l'étude), et jusqu'à 25 pour cent ou moins de sa concentration maximale.

Intervalle de confiance pour les données cinétiques d'hydrolyse

14. Des intervalles de confiance doivent être calculés et présentés pour tous les coefficients de régression, constantes de vitesse, demi-vies et autres paramètres cinétiques (DT_{50} , par exemple).

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE D'ESSAI

Équipement et appareillage

15. L'étude doit être conduite dans des récipients en verre (tubes à essai, petits flacons, par exemple), et le cas échéant dans l'obscurité et dans des conditions de stérilité, sauf s'il ressort d'une information préliminaire (telle que le coefficient de partage n-octanol/eau) que le produit chimique d'essai est susceptible d'adhérer au verre. Dans ce cas, une autre matière (le Téflon, par exemple) doit être envisagée. Les méthodes suivantes permettent également de contourner le problème de l'adhérence au verre :

- détermination de la masse du produit chimique d'essai et des produits d'hydrolyse sorbés au récipient d'essai ;

- utilisation d'un bain à ultrasons ;
 - nettoyage de toute la verrerie à l'aide d'un solvant à chaque intervalle d'échantillonnage ;
 - utilisation de produits formulés ;
 - utilisation d'une quantité plus importante de cosolvant à ajouter à le produit chimique d'essai. Dans ce dernier cas, il convient d'employer un cosolvant qui n'entraîne pas de réaction d'hydrolyse du produit chimique d'essai.
16. L'incubation des différentes solutions d'essai doit être effectuée avec des agitateurs mécaniques à bain thermo-régulé ou des incubateurs à commande thermostatique.
17. Un équipement de laboratoire standard est nécessaire, et notamment les éléments suivants :
- pH-mètre ;
 - instruments d'analyse (équipements de chromatographie en phase gazeuse, chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), chromatographie en couche mince, par exemple), et notamment des systèmes de détection appropriés pour l'analyse des produits chimiques radiomarqués ou non, l'application de la méthode de dilution isotopique inverse ;
 - instruments d'identification (spectrométrie de masse, spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse, spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase liquide à haute performance, résonance magnétique nucléaire, etc.) ;
 - compteur à scintillation liquide ;
 - entonnoirs d'extraction liquide-liquide ;
 - instruments pour la concentration de solutions et d'extraits (évaporateur rotatif, par exemple) ;
 - dispositifs de contrôle de la température (bain d'eau, par exemple).
18. Des réactifs chimiques, par exemple :
- solvants organiques, de qualité pour analyse, tels que l'hexane, le dichlorométhane, etc. ;
 - liquide de scintillation ;
 - solutions tampon (pour plus de détails, voir le paragraphe 23).
19. Toute la verrerie, l'eau de qualité « réactif » et les solutions tampon utilisées dans les essais d'hydrolyse doivent être stérilisées.

Application du produit chimique d'essai

20. Le produit chimique d'essai doit être appliqué sous forme de solution aqueuse dans les différentes solutions tampon (voir l'Annexe 3). Le cas échéant, pour obtenir une dissolution adéquate, l'utilisation de petites quantités de solvants miscibles dans l'eau (acétonitrile, acétone, éthanol, par exemple) est autorisée pour assurer une application et une distribution correctes du produit chimique d'essai, mais la proportion ne doit normalement pas dépasser 1 pour cent v/v. Si une concentration supérieure en solvants est envisagée (par exemple dans le cas de produits chimiques d'essai faiblement solubles), cela ne peut être autorisé que s'il est démontré que le solvant n'a aucune incidence sur l'hydrolyse du produit chimique d'essai.
21. Le recours à un produit formulé n'est pas recommandé, dans la mesure où on ne peut exclure que les ingrédients de la formulation interfèrent avec le processus d'hydrolyse. Toutefois, pour les produits chimiques d'essai faiblement solubles dans l'eau, ou celles qui adhèrent au verre (voir le paragraphe 15), le recours à un produit formulé peut être une alternative acceptable.
22. Une seule concentration du produit chimique d'essai doit être utilisée. Elle ne doit pas excéder 0,01 M ou la moitié de la concentration de saturation (voir l'Annexe 1).

Solutions tampon

23. L'essai d'hydrolyse doit être réalisé aux valeurs de pH suivantes : 4, 7 et 9. A cet effet, on doit préparer des solutions tampon avec des produits chimiques de pureté analytique et de l'eau. L'Annexe 3 présente quelques systèmes tampon utiles. Il faut noter que le système tampon utilisé peut influencer la vitesse d'hydrolyse. Lorsque c'est le cas, il faut utiliser un autre système tampon¹.

24. Le pH de chaque solution tampon doit être vérifié avec un pH-mètre étalonné à la température désirée avec une précision d'au moins 0,1.

Conditions expérimentales*Température d'essai*

25. Les expériences d'hydrolyse doivent être menées à des températures constantes. Pour permettre l'extrapolation, il est important de maintenir la température constante à $\pm 0,5$ °C.

26. Si on ne connaît pas le comportement du produit chimique d'essai à l'hydrolyse, il est nécessaire d'effectuer un essai préliminaire (Niveau 1) à une température de 50 °C. Les essais cinétiques suivants doivent être menés à un minimum de trois températures différentes (y compris l'essai à 50 °C), à moins que l'essai préliminaire de Niveau 1 n'ait mis en évidence la stabilité du produit chimique à l'hydrolyse. Une plage de températures allant de 10 à 70 °C est préconisée (avec de préférence au moins une température inférieure à 25 °C). Cette plage englobe la température utilisée dans le rapport d'essai (25 °C) et la plupart des températures rencontrées sur le terrain.

Lumière et oxygène

27. Tous les essais d'hydrolyse doivent être effectués en utilisant toute méthode adéquate pour éviter les effets de photolyse. Toutes les mesures appropriées doivent être prises afin d'éviter l'oxygène (par exemple, par barbotage d'hélium, d'azote ou d'argon pendant 5 minutes avant la préparation de la solution).

Durée de l'essai

28. L'essai préliminaire doit être mené pendant 5 jours, tandis que les essais des Niveaux supérieurs doivent être conduits jusqu'à 90 pour cent d'hydrolyse du produit chimique d'essai, ou pendant 30 jours, au premier des deux termes échus.

Réalisation de l'essai*Essai préliminaire (Niveau 1)*

29. L'essai préliminaire doit être réalisé à $50 \pm 0,5$ °C et aux pH suivants : 4,0, 7,0 et 9,0. Si au bout de 5 jours, on observe un taux d'hydrolyse inférieur à 10 pour cent ($t_{0.5_{25^\circ\text{C}}} > 1$ an), le produit chimique d'essai est considéré comme stable dans l'eau et il n'est normalement pas nécessaire d'effectuer d'autres

¹ Mabey et Mill recommandent l'utilisation de tampons borate ou acétate de préférence à des tampons phosphate (11).

essais. Si on sait que la substance est instable aux températures observées dans l'environnement², il n'est pas obligatoire de réaliser un essai préliminaire. La méthode analytique employée doit être suffisamment précise et sensible pour détecter une diminution de 10 pour cent de la concentration initiale.

Hydrolyse des produits chimiques instables (Niveau 2)

30. L'essai de Niveau supérieur (avancé) doit être exécuté aux valeurs de pH auxquelles le produit chimique d'essai est apparu instable selon la procédure définie pour l'essai préliminaire ci-avant. Les solutions tamponées du produit chimique d'essai doivent alors être thermostatées aux températures choisies. Pour savoir si la réaction est du premier ordre, chaque solution doit être analysée à des intervalles de temps qui fournissent un minimum de six points espacés, se situant normalement entre 10 et 90 pour cent d'hydrolyse du produit chimique étudié. Des échantillons répétés (un minimum de deux échantillons identiques contenus dans des cuves de réaction distinctes) doivent être prélevés et leur contenu analysé à chacune des six échéances d'échantillonnage (pour un minimum de 12 points identiques). L'option consistant à utiliser un seul échantillon global d'où serait tirée chacune des aliquotes de la solution d'essai à chaque intervalle d'échantillonnage n'est pas considérée comme appropriée du fait qu'elle ne permet pas d'analyser la variabilité des données, et qu'elle peut poser des problèmes de contamination de la solution d'essai. Des essais de confirmation de la stérilité doivent être effectués à la fin de l'essai de Niveau supérieur (c'est-à-dire à 90 pour cent d'hydrolyse ou à 30 jours). Toutefois, si aucune dégradation (c'est-à-dire aucune transformation) n'est observée, les essais de stérilité ne sont pas nécessaires.

Identification des produits d'hydrolyse (Niveau 3)

31. Tout produit d'hydrolyse majeur, et au minimum ceux représentant ≥ 10 pour cent de la dose appliquée, doit être identifié selon les méthodes analytiques appropriées.

Essais facultatifs

32. Des essais supplémentaires à des pH autres que 4, 7 et 9 peuvent être nécessaires pour les produits chimiques d'essai instables sur le plan hydrolytique. Par exemple, à des fins physiologiques, un essai dans des conditions plus acides (par exemple à un pH de 1,2) peut être requis à une seule température pertinente du point de vue physiologique (37 °C).

RÉSULTATS ET RAPPORT

Traitement des résultats

33. Les quantités du produit chimique d'essai et des produits d'hydrolyse, le cas échéant, doivent être exprimées en pour cent de la concentration initiale appliquée et, lorsque cela est possible, en mg/l pour chaque intervalle d'échantillonnage, ainsi que pour chaque pH et température d'essai. En outre, lorsqu'un produit chimique d'essai marqué a été utilisé, un bilan massique doit être fourni en pourcentage de la concentration initiale appliquée.

34. Une présentation graphique des logarithmes des concentrations du produit chimique d'essai en fonction du temps doit être présentée. Tous les produits d'hydrolyse majeurs, et au minimum ceux

² Cette information peut provenir d'autres sources, par exemple des données d'hydrolyse de composés à la structure comparable provenant de la littérature, ou d'autres essais d'hydrolyse préliminaires ou semi-quantitatifs effectués sur le produit chimique d'essai à une étape plus précoce de son développement.

représentant ≥ 10 pour cent de la dose appliquée, doivent être identifiés, et les logarithmes de leurs concentrations doivent être présentés de la même manière que pour la substance mère, de façon à mettre en évidence leurs vitesses de formation et de disparition.

35. Des déterminations plus précises des demi-vies ou des valeurs de DT_{50} doivent être obtenues par application des calculs de modèles cinétiques appropriés. Les valeurs de demi-vie et/ou de DT_{50} (y compris les limites de confiance) doivent être précisées pour chaque pH et chaque température, avec une description du modèle utilisé, l'ordre de réaction cinétique et le coefficient de détermination (r^2). Le cas échéant, ces calculs doivent être appliqués aux produits d'hydrolyse.

36. Pour les études menées à différentes températures, les constantes de la vitesse d'hydrolyse de pseudo-premier ordre (k_{obs}) doivent être décrites comme une fonction de température. Le calcul doit être basé sur une séparation des k_{obs} en constantes de vitesse pour les catalyses acides, neutres et basiques (respectivement k_H , k_{neutre} , et k_{OH}) et sur l'équation d'Arrhenius :

$$k_{obs} = k_H [H^+] + k_{neutre} + k_{OH} [OH^-] = \sum_{i=H,neutre,OH} A_i e^{-B_i/T}$$

où A_i et B_i sont des constantes de régression et d'interception, respectivement, des lignes de meilleur ajustement générées à partir de la régression linéaire $\ln k_i$ sur la réciproque de la température absolue en Kelvin (T). En utilisant la relation d'Arrhenius pour les catalyses acides, neutres et basiques, il est possible de calculer les constantes de pseudo-premier ordre, et ainsi leurs demi-vies, pour d'autres températures pour lesquelles la détermination expérimentale directe d'une constante de vitesse ne peut être pratiquée (14).

Rapport d'essai

37. Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes :

Produit chimique d'essai :

- nom commun, nom chimique, numéro CAS, formule structurale (indiquant la position du marqueur dans le cas d'un produit chimique radiomarqué) et propriétés physico-chimiques pertinentes (voir le paragraphe 7) ;
- pureté (impuretés) du produit chimique d'essai ;
- pureté du marqueur et activité molaire (le cas échéant).

Solutions tampon :

- dates et détails de la préparation ;
- tampons et eaux utilisés ;
- molarité et pH des solutions tampon.

Conditions expérimentales:

- dates de réalisation des études ;
- quantité de produit chimique d'essai appliquée ;
- méthode et solvants utilisés (type et quantité) pour l'application du produit chimique d'essai ;
- volume des solutions tamponnées de produit chimique d'essai incubées ;
- description du système d'incubation utilisé ;
- pH et température au cours de l'étude ;
- temps des échantillonnages ;
- méthode(s) d'extraction ;

- méthodes de quantification et d'identification du produit chimique d'essai et de ses produits d'hydrolyse dans les solutions tampon ;
- nombre d'essais identiques.

Résultats :

- répétabilité et sensibilité des méthodes analytiques utilisées ;
- récupérations (les valeurs en pour cent pour une étude valide sont données au paragraphe 11) ;
- moyennes et données des essais identiques présentées sous forme de tableaux ;
- bilan massique au cours et à la fin des études (en cas d'utilisation d'un produit chimique marqué) ;
- résultats de l'essai préliminaire ;
- discussion et interprétation des résultats ;
- intégralité des données et figures originales.

Les informations suivantes sont obligatoires uniquement si une vitesse d'hydrolyse est déterminée :

- tracés des concentrations en fonction du temps pour les produits chimiques d'essai et, le cas échéant, pour les produits d'hydrolyse à chaque pH et température ;
- tableaux des résultats de l'équation d'Arrhenius pour la température 20 °C/25 °C, avec pH, constante [h^{-1} ou jour^{-1}], demi-vie ou DT_{50} , températures [en °C] y compris les limites de confiance et les coefficients de corrélation (r^2) ou toute information comparable ;
- chemin réactionnel d'hydrolyse proposé.

Interprétation et évaluation des résultats

38. La plupart des réactions d'hydrolyse affichent une vitesse de réaction apparente de premier ordre, et par conséquent les demi-vies sont indépendantes de la concentration (voir l'équation 4 dans l'Annexe 2). Cette caractéristique permet généralement d'appliquer les résultats obtenus en laboratoire, déterminés entre 10^{-2} et 10^{-3} M, aux conditions dans l'environnement ($\leq 10^{-6}$ M) (10). Mabey et Mill (15) font état de plusieurs exemples de bonne concordance entre les taux d'hydrolyse mesurés dans l'eau pure et dans les eaux naturelles, pour un ensemble de produits chimiques, à condition que le pH et la température aient bien été mesurés.

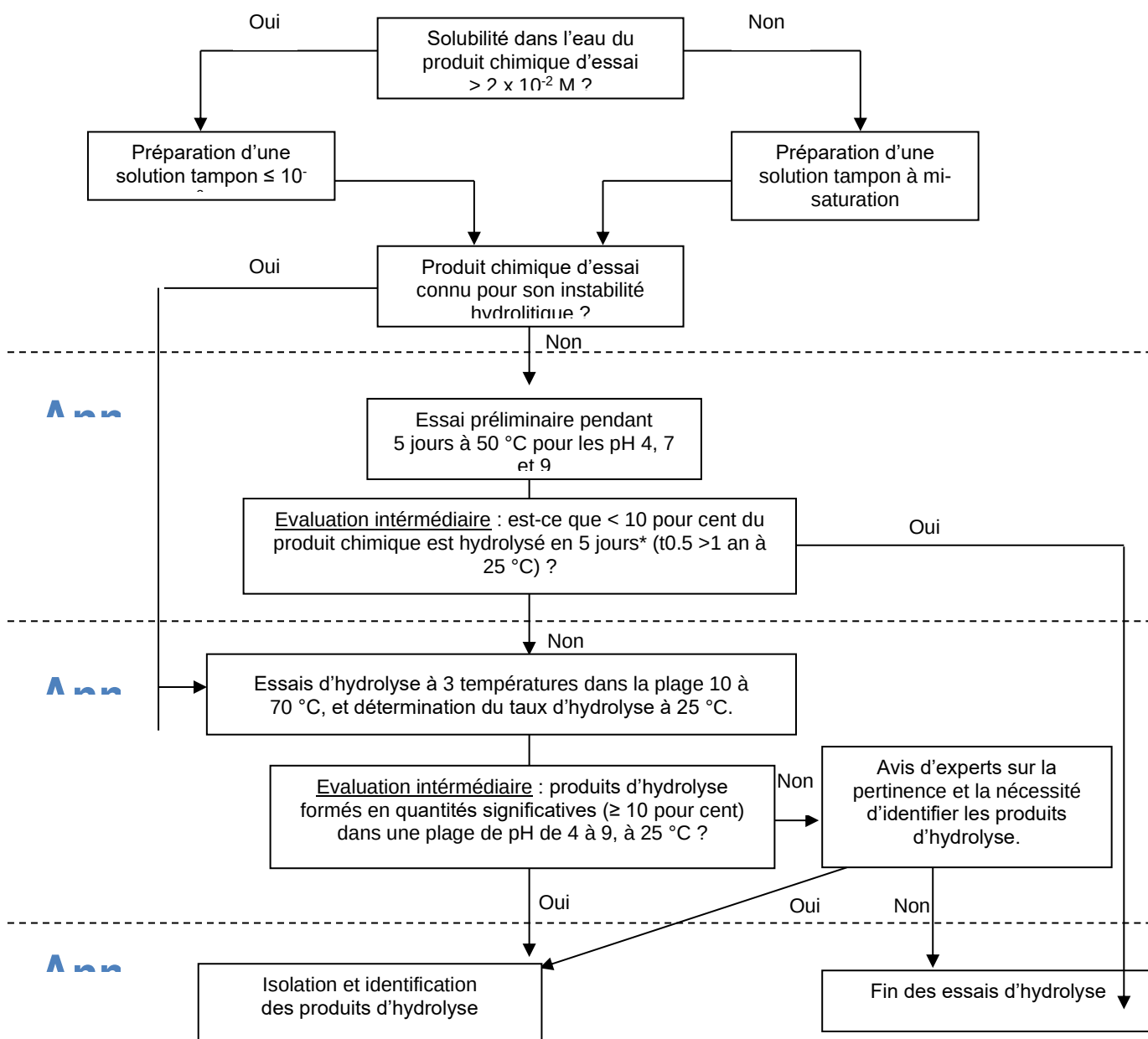
BIBLIOGRAPHIE

- (1) OCDE (1981). Hydrolyse en fonction du pH. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, N° 111, adoptée le 12 mai 1981.
- (2) US-Environmental Protection Agency (1982). 40 CFR 796.3500, Hydrolysis as a Function of pH at 25 °C. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental Fate.
- (3) Agriculture Canada (1987). Guide d'homologation des pesticides au Canada : chimie et devenir dans l'environnement.
- (4) Union européenne (UE) (1995). Directive 95/36/CE de la Commission portant modification de la Directive 91/414/CEE concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. Annexe V : Devenir et comportement dans l'environnement.
- (5) Commission néerlandaise pour l'enregistrement des pesticides (1991). Application for registration of a pesticide. Section G: Behaviour of the product and its metabolites in soil, water

and air.

- (6) BBA (1980). Merkblatt Nr. 55, Teil I und II: Prüfung des Verhaltens von Pflanzenbehandlungsmitteln im Wasser (octobre 1980).
- (7) SETAC (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides. Mark R. Lynch, Ed.
- (8) OCDE (2000). Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures, OECD Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment Nr.23.
- (9) OCDE (1993). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Paris. OCDE (1994 – 2000) : 6 au 11^{ème} addenda aux Lignes directrices pour les essais de produits chimiques.
- (10) OCDE (2006), Test No. 104: Vapour Pressure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 1, OECD Publishing, Paris.
- (11) OCDE (1995), Test No. 107: Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 1, OECD Publishing, Paris.
- (12) OCDE (2022), Test No. 117: Partition Coefficient (n-octanol/water), HPLC Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 1, OECD Publishing, Paris.
- (13) OECD (1981), Test No. 112: Dissociation Constants in Water, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 1, OECD Publishing, Paris.
- (14) Nelson, H, Laskowski D, Thermes S, et Hendley P. (1997) Recommended changes in pesticide fate study guidelines for improving input to computer models. (Manuscrit d'une présentation orale au 14th Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, à Dallas Texas, novembre 1993).
- (15) Mabey, W. et Mill, T. (1978). Critical review of hydrolysis of organic compounds in water under environmental conditions. J. Phys. Chem. Ref. Data 7, 383-415.

ANNEXE 1 : PLAN DE L'ESSAI D'HYDROLYSE PAR NIVEAUX



* 10 pour cent d'hydrolyse d'un produit chimique d'essai à 50 °C correspond à une demi-vie de 30 jours approximativement, ce qui correspond à une valeur de 1 an à 25 °C approximativement.

ANNEXE 2 : DÉFINITIONS ET UNITÉS

Les unités SI (Standard International) doivent être utilisées.

Produit chimique d'essai : toute substance, qu'il s'agisse du composé parent ou des produits de transformation pertinents.

Produits de transformation : toutes les substances résultant des réactions de transformation biotique ou abiotique du produit chimique d'essai.

Produits d'hydrolyse : toutes les substances résultant des réactions de transformation hydrolytique du produit chimique d'essai.

L'hydrolyse consiste en la réaction d'un produit chimique d'essai RX avec l'eau, avec l'échange net du groupe X avec le groupe OH selon la réaction :



Dans ce processus simplifié, la vitesse avec laquelle la concentration en RX décroît est donnée par :

$$\begin{array}{ll} \text{vitesse} = k [\text{H}_2\text{O}] [\text{RX}] & \text{réaction du second ordre} \\ \text{ou} & \\ \text{vitesse} = k [\text{RX}] & \text{réaction du premier ordre} \end{array}$$

selon la phase déterminant la vitesse. Du fait de la présence de l'eau en large excès par rapport à le produit chimique d'essai, ce type de réaction est habituellement décrit comme une réaction de pseudo-premier ordre, dans laquelle la constante de vitesse observée est donnée par la relation :

$$k_{\text{obs}} = k [\text{H}_2\text{O}] \quad [2]$$

et peut être déterminée à partir de l'expression*

$$k_{\text{obs}} = \frac{1}{t} \ln \frac{C_0}{C_t} \quad [3]$$

où t = temps

et C₀ et C_t = concentrations en RX au temps 0 et au temps t.

Les unités de cette constante ont les dimensions de (temps)⁻¹ et la durée de demi-vie de la réaction (temps au bout duquel 50 pour cent de RX ont réagi) est donnée par :

$$t_{0.5} = \frac{\ln 2}{k_{\text{obs}}} \quad [4]$$

La demi-vie (t_{0.5}) est le temps mis pour 50 pour cent d'hydrolyse d'un produit chimique d'essai lorsque la réaction peut être décrite par une cinétique du premier ordre. La demi-vie est indépendante de la

* Si le tracé des transformations logarithmiques en fonction du temps n'indique pas une fonction linéaire (ce qui équivaut à une vitesse de réaction du premier ordre), alors l'utilisation de l'équation [3] ne convient pas pour déterminer la constante de vitesse d'hydrolyse du produit chimique d'essai.

concentration.

La DT_{50} (Disappearance Time 50) correspond au laps de temps au bout duquel la concentration du produit chimique d'essai est réduite de 50 pour cent. Cette valeur est différente de la demi-vie ($t_{0.5}$) lorsque la réaction ne suit pas une cinétique du premier ordre.

Estimation de k à différentes températures

Lorsque les constantes de vitesse sont connues pour deux températures, les constantes de vitesse à d'autres températures peuvent être calculées en utilisant l'équation d'Arrhenius :

$$k = A \times e^{-\frac{E}{R \times T}} \quad \text{ou} \quad \ln k = \frac{-E}{R \times T} + \ln A$$

Un tracé de $\ln k$ en fonction de $1/T$ donne une ligne droite de pente $-E/R$

où :

k = constante de vitesse, mesurée à différentes températures

E = énergie d'activation [kJ/mol]

T = température absolue [K]

R = constante des gaz [8,314 J/mol*K]

L'énergie d'activation est calculée par analyse de régression ou par l'équation suivante :

$$E = R \times \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)}$$

où : $T_2 > T_1$.

ANNEXE 3 : SYSTÈMES TAMPON

A. CLARK ET LUBS : Mélanges tampon de CLARK et LUBS*

Composition	pH
HCl 0,2 N et KCl 0,2 N à 20 °C	
47,5 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	1,0
32,25 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	1,2
20,75 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	1,4
13,15 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	1,6
8,3 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	1,8
5,3 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	2,0
3,35 ml. HCl + 25 ml. KCl dil. à 100 ml	2,2
Biphthalate de potassium 0,1 M + HCl 0,1 N à 20 °C	
46,70 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	2,2
39,60 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	2,4
32,95 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	2,6
26,42 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	2,8
20,32 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	3,0
14,70 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	3,2
9,90 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	3,4
5,97 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	3,6
2,63 ml. 0,1 N HCl + 50 ml. biphthalate à 100 ml	3,8
Biphthalate de potassium 0,1 M + NaOH 0,1 N à 20 °C	
0,40 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	4,0
3,70 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	4,2
7,50 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	4,4
12,15 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	4,6
17,70 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	4,8
23,85 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	5,0
29,95 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	5,2
35,45 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	5,4
39,85 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	5,6
43,00 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	5,8
45,45 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. biphthalate à 100 ml	6,0

* Les valeurs de pH reportées dans ces tableaux ont été calculées à partir des mesures de potentiel par les équations standard de Sørensen (1909). Les valeurs de pH correspondantes sont supérieures de 0,04 unités aux valeurs indiquées.

A. CLARK ET LUBS : Mélanges tampon de CLARK et LUBS (suite)

Phosphate monopotassique 0,1 M + NaOH 0,1 N à 20 °C	
5,70 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	6,0
8,60 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	6,2
12,60 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	6,4
17,80 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	6,6
23,45 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	6,8
29,63 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	7,0
35,00 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	7,2
39,50 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	7,4
42,80 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	7,6
45,20 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	7,8
46,80 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. phosphate à 100 ml	8,0
H₃B₃O₃ 0,1 M dans KCl 0,1 M + NaOH 0,1 N à 20 °C	
2,61 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	7,8
3,97 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	8,0
5,90 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	8,2
8,50 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	8,4
12,00 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	8,6
16,30 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	8,8
21,30 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	9,0
26,70 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	9,2
32,00 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	9,4
36,85 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	9,6
40,80 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	9,8
43,90 ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. acide borique à 100 ml	10,0

B. KOLTHOFF ET VLEESCHHOUWER : Tampons citrate de KOLTHOFF et VLEESCHHOUWER

Composition		pH
Citrate monopotassique 0,1 M et HC1 0,1 N à 18 °C *		
49,7	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	2,2
43,4	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	2,4
36,8	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	2,6
30,2	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	2,8
23,6	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	3,0
17,2	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	3,2
10,7	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	3,4
4,2	ml. 0,1 N HC1 + 50 ml. citrate à 100 ml	3,6
Citrate monopotassique 0,1 M et NaOH 0,1 N at 18 °C *		
2,0	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	3,8
9,0	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	4,0
16,3	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	4,2
23,7	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	4,4
31,5	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	4,6
39,2	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	4,8
46,7	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	5,0
54,2	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	5,2
61,0	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	5,4
68,0	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	5,6
74,4	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	5,8
81,2	ml. 0,1 N NaOH + 50 ml. citrate à 100 ml	6,0

* Ajouter de petits cristaux de thymol ou d'une substance comparable pour empêcher la croissance de moisissures.

C. SÖRENSEN : Mélanges de borate de SÖRENSEN

Composition		Sörensen 18 °C	Walbum, pH à		
ml. Borax	ml. HC1/NaOH		10 °C	40 °C	70 °C
Borax 0,05 M + HC1 0,1 N					
5,25	4,75	7,62	7,64	7,55	7,47
5,50	4,50	7,94	7,98	7,86	7,76
5,75	4,25	8,14	8,17	8,06	7,95
6,00	4,00	8,29	8,32	8,19	8,08
6,50	3,50	8,51	8,54	8,40	8,28
7,00	3,00	8,08	8,72	8,56	8,40
7,50	2,50	8,80	8,84	8,67	8,50
8,00	2,00	8,91	8,96	8,77	8,59
8,50	1,50	9,01	9,06	8,86	8,67
9,00	1,00	9,09	9,14	8,94	8,74
9,50	0,50	9,17	9,22	9,01	8,80
10,00	0,00	9,24	9,30	9,08	8,86
Borax 0,05 M + NaOH 0,1 N					
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
6,0	4,0	9,97	10,06	9,67	9,28

Mélanges de phosphate de SÖRENSEN

Composition		pH
Phosphate monopotassique 0,0667 M + Disodium phosphate 0,0667 M à 20 °C		
99,2 ml KH ₂ PO ₄ +	0,8 ml Na ₂ HPO ₄	5,0
98,4 ml KH ₂ PO ₄ +	1,6 ml Na ₂ HPO ₄	5,2
97,3 ml KH ₂ PO ₄ +	2,7 ml Na ₂ HPO ₄	5,4
95,5 ml KH ₂ PO ₄ +	4,5 ml Na ₂ HPO ₄	5,6
92,8 ml KH ₂ PO ₄ +	7,2 ml Na ₂ HPO ₄	5,8
88,9 ml KH ₂ PO ₄ +	11,1 ml Na ₂ HPO ₄	6,0
83,0 ml KH ₂ PO ₄ +	17,0 ml Na ₂ HPO ₄	6,2
75,4 ml KH ₂ PO ₄ +	24,6 ml Na ₂ HPO ₄	6,4
65,3 ml KH ₂ PO ₄ +	34,7 ml Na ₂ HPO ₄	6,6
53,4 ml KH ₂ PO ₄ +	46,6 ml Na ₂ HPO ₄	6,8
41,3 ml KH ₂ PO ₄ +	58,7 ml Na ₂ HPO ₄	7,0
29,6 ml KH ₂ PO ₄ +	70,4 ml Na ₂ HPO ₄	7,2
19,7 ml KH ₂ PO ₄ +	80,3 ml Na ₂ HPO ₄	7,4
12,8 ml KH ₂ PO ₄ +	87,2 ml Na ₂ HPO ₄	7,6
7,4 ml KH ₂ PO ₄ +	92,6 ml Na ₂ HPO ₄	7,8
3,7 ml KH ₂ PO ₄ +	96,3 ml Na ₂ HPO ₄	8,0