

附件 8

水生环境危害 指导

附件 8
水生环境危害指导

目 录

| | 页次 |
|---------------------------------------|-----|
| A8.1 导言 | 345 |
| A8.2 统一分类办法..... | 349 |
| A8.2.1 范围 | 349 |
| A8.2.2 分类类型和标准..... | 349 |
| A8.2.3 基本原理 | 349 |
| A8.2.4 应用 | 350 |
| A8.2.5 数据有效性 | 351 |
| A8.2.6 数据质量 | 351 |
| A8.3 水生毒性 | 353 |
| A8.3.1 导言 | 353 |
| A8.3.2 试验说明 | 353 |
| A8.3.3 水生毒性概念 | 355 |
| A8.3.4 证据权重 | 357 |
| A8.3.5 难以进行试验的物质..... | 357 |
| A8.3.6 数据质量的解释..... | 363 |
| A8.4 降解 | 364 |
| A8.4.1 导言 | 364 |
| A8.4.2 可降解性数据的解释..... | 364 |
| A8.4.3 一般的解释问题..... | 369 |
| A8.4.4 判定方法 | 371 |
| A8.5 生物积累 | 373 |
| A8.5.1 导言 | 373 |
| A8.5.2 生物浓缩数据的解释..... | 373 |
| A8.5.3 需要特别注意 BCF 和 Low 值的化学品类别 | 377 |
| A8.5.4 相互矛盾的数据和缺少数据..... | 379 |
| A8.5.5 判定方法 | 379 |
| A8.6 QSAR 的使用 | 381 |
| A8.6.1 历史回顾 | 381 |
| A8.6.2 导致危险低估的试验中的人为因素..... | 381 |
| A8.6.3 QSAR 模型问题 | 382 |
| A8.6.4 在水生分类中使用 QSAR..... | 383 |
| A8.7 金属和金属化合物分类..... | 387 |
| A8.7.1 导言 | 387 |

| | | |
|--------|---|-----|
| A8.7.2 | 水生毒性数据和溶解度数据在分类中的应用 | 388 |
| A8.7.3 | 环境转变的评估..... | 390 |
| A8.7.4 | 生物积累 | 390 |
| A8.7.5 | 金属和金属化合物分类标准的应用..... | 391 |
| 附录一 | 有机物质可降解性的确定..... | 397 |
| 附录二 | 影响水生环境可降解性的因素..... | 403 |
| 附录三 | 利用试验和估计方法确定有机物质 BCF 和 K_{ow} 值的基本原理 | 407 |
| 附录四 | 外部和内部因素对有机物质生物浓缩潜力的影响..... | 413 |
| 附录五 | 试验准则 | 415 |
| 附录六 | 参考文献 | 421 |

附件 8

水生环境危害指导 *

A8.1 引言

A8.1.1 在制订水生环境有害物质识别标准时，人们一致认为，适当地定义对环境的危害所需要的细节导致的是一个复杂系统，对于这样的系统，某些适当的指导必不可少。因此，本文件有以下两个目的：

- 描述系统将如何运作，并给予指导；
- 对用于如何理解适用分类标准时所用的数据给予指导；

A8.1.2 目前已经制订了危险分类办法，目的在于识别那些由于它们的内在特性而对水生环境具有危险的化学物质。本文将水生环境视为一个存在于淡水和海水中的水生生态系统和生活在其中的生物体。对于绝大多数物质来说，现有的多数数据资料都会涉及这一子环境系统。定义的范围有限，因为到目前为止，它既不包括水生沉积物，也不包括位于水生食物链顶端的高等生物体，虽然这些生物体可在一定程度上被选定的标准所覆盖。

A8.1.3 尽管范围有限，人们广泛承认，这部分环境系统既容易受到侵害，因为它是许多有害物质的最终接收环境，而且生活在其中的生物体对这些有害物质很敏感。这还是一项复杂的工作，因为任何一个设法识别环境有害物质的系统，都必需设法定义对生态系统的广泛影响，而不仅仅是对一个物种或一个种群中生物个体的影响。正如在后面几章中将详细描述的那样，现已选择出化学物质的一组有限的特性；通过这些特性，可以对有害物质作出最好的描述：水生毒性；缺少可降解性；以及潜在的或实际的生物积累。选择这些数据作为定义水生危害的基本原理，将在第 A8.2 章更为详细地介绍。

A8.1.4 在这一阶段，标准的应用也仅限于化学物质。术语化学物质涉及范围广泛的化学品；其中许多化学品对建立在刚性标准基础上的分类制度构成了严重挑战。因此，下面几章将提供一些指导，说明如何根据使用经验和清楚的科学原理来应对这些挑战。统一标准可非常容易地应用于给定结构（见 1.2 中的定义）的单个物质分类，但属于这一类别的某些物质通常被称为“复杂混合物”。在绝大多数情况下，可以将它们描述为具有一定范围的碳链长度/数量或置换等级的物质的同源系列。现已提出一些特定的试验方法，可提供数据用于对水生生物的固有风险、生物积累和可降解性进行评估。更具体的指导见关于这些特性的各个章节。为了本指导文件的目的，这些物质将被称为“复杂物质”或“多成分物质”。

* 经合发组织环境、健康和安全问题出版物，试验和评估系列，第 27 期，经济合作与发展组织环境局，2001 年 4 月。

A8.1.5 这些特性（如水生毒性、可降解性和生物积累）中的每一种都可以提出一个复杂的、即使是专家也难以解释的问题。虽然已有国际公认的试验准则，而且应将这些准则用于生成的任何一个和所有的新数据，许多可用于分类的数据却不会根据此类标准试验产生。即使在标准试验已经使用的地方，当试验结果必须用于分类办法时，某些物质，比如复杂物质、水解不稳定物质、聚合体等，仍会提出一些难以解释的问题。因此，现有数据可用于范围广泛的标准和非标准试验生物体（不论海洋生物还是淡水生物），它们的持续时间各不相同并利用各种各样的终点指标。降解数据可能涉及生物也可能涉及非生物，而且在环境相关性上存在差异。生物积累潜力，对于许多有机化学物质来说，可通过辛醇水分配系数表示。但它会受到许多其它因素的影响；这些影响因素也应予以考虑。

A8.1.6 全球统一制度的目标很清楚，即在议定一套共同标准后，还应使用一套共同数据，这样，一经分类，分类结果就为全球所接受。为实现这一目标，必须首先对适用标准时可以使用的数据类型形成共同理解，包括类型和数量，然后在对照标准进行比较时，对这些数据有一个共同的解释。由于这一原因，认为有必要制订一份透明的指导文件，文件寻求扩充和解释这些标准的方法，应使人们能够对它们的基本原理有一个共同的理解，并有可能确定共同的数据解释方法。这一点特别重要，因为任何一个用于“化学品领域”的统一制度，都将在很大程度上依赖于制造商和供货商的自分类，这种分类办法必须为各国所接受而不必总是受到管理审查。因此，这一指导文件将试图告诉读者，在许多关键领域，并作为一种结果，导致统一的分类办法，从而确保形成一个真正统一的自操作系统。

A8.1.7 首先，它将对标准和选择这些标准的基本原理作出详细说明，并阐述这种方法在实际中如何运用（第 A8.2 章）。本章将涉及共同的数据源、采用高质量标准的必要性，以及当这些数据不完整，或者有大量的数据可能导致分类含混的时候如何分类；此外还将涉及其它一些普遍遇到的分类问题。

A8.1.8 其次，本指导将对如何解释从现有数据库中得到的数据，包括如何使用非标准数据，以及可能适用于单一特性的特定质量标准等问题，提供详细的专家意见。还将对“困难物质”的数据解释问题作出说明，并提出适当的解决办法。此处所说的“困难物质”是指标准试验方法或者不适用，或者难以给出恰当解释的物质。重点将放在数据解释方面，而不是放在试验上。因为本制度将尽可能依靠最好的现有数据，以及为满足管理目的所需的数据。三种核心特性，即水生毒性（第 A8.3 章）、可降解性（第 A8.4 章）和生物积累（第 A8.5 章）将分别论述。

A8.1.9 解释性难题的范围可能很广，所以解释将始终依赖于负责分类工作的个人的能力和经验。然而，也有可能确定某些经常出现的困难，并提供一种从可接受的专家判断中提炼出来的指导，作为获得可靠和一致的结果的辅助手段。这类困难可分为以下几个相互重叠的问题：

1. 在将当前试验程序应用于多种不同类型的物质时遇到的困难；
2. 在解释来自这些“难以试验”的物质和来自其它物质的数据时遇到的困难；
3. 在解释来自范围广泛的各种数据源的不同数据时遇到的困难。

A8.1.10 对于许多有机物质，在适用相关经合发组织准则和分类标准时，数据的试验和解释都不会出现问题。然而却存在一些解释问题，这些问题可用正在研究的物质类型描绘。这些物质通常被称为“困难物质”：

- 不易溶解物质：这些物质很难进行试验，因为在对它们做水生毒性试验时，在溶解制备、浓缩保存和验证过程中会产生问题。此外，有关这些物质的许多现有数据是通过采用过量水溶解的“溶解”法得到的，在为分类目的而定义真正的 L(E)C₅₀ 的过程中，会产生严重的解释问题。对分割行为的解释，也会遇到问题，因为在水中和辛醇中的不易溶解可能由于分析方法中的敏感性的不足而更为严重。水溶解可能很难确定，而且常常被记录为低于检测极限，给水生毒性和生物积累研究的解释造成问题。在生物降解研究中，溶解性差将有可能导致生物药效率低，从而导致低于预期的生物降解率。因此，特定的试验方法或所用程序的选择十分重要。
- 不稳定物质：在试验系统中可快速降解（或反应）的物质也会产生试验和解释问题。因此有必要确定是否采用了正确的方法，确定试验的是一种物质还是降解/反应产物，以及所产生的数据是否与母物质的分类相关。
- 挥发性物质：这种物质在用于开放系中时会产生明显的试验问题，因此应对其作出评价，以确保能够恰当地保持其接触浓度。在生物降解试验中，在采用某些试验方法时，试验物质的损失不可避免，并因此而导致对试验结果作出错误解释。
- 复杂或多组分物质：这种物质，比如烃混合物，通常不能溶解于同质溶液中，而多组分会将使监测不能进行。因此，应考虑使用从水生毒性容水组分（WAFs）试验中得到的数据，以及将这些数据用于分类办法。当混合物中的每一种成分都表现出不同的行为特征时，生物降解、生物积累、分离行为和水溶性，都会产生一些解释问题。
- 聚集体：这种物质通常拥有范围广泛的各种分子团，其中只有一部分具有水溶性。现有一种特殊方法可用于确定水溶性成分，而且，这些在按照分类标准解释试验数据的时候，需要用到这些数据。
- 无机化合物和金属：这些物质将有可能与介质产生相互作用，可产生各种水生毒性，这主要取决于象 pH 值和水硬度等一些因素。在对一定水平上起到有利作用的基本组成进行试验时，也会遇到解释问题。对于金属和无机金属化合物来说，用于有机化合物的降解概念只有有限的意义或根本没有意义。同样，使用生物积累数据时也应小心谨慎。
- 表面活性物质：这种物质可呈乳状液形态，在这种形态下很难确定生物利用，即使做过仔细的溶解准备。胶态离子的生成可导致对生物药效率成分估计过高，即使是在“溶解”过程很明显的时候。在水溶性、分配系数、生物积累和水生毒性研究中，都会出现相当大解释问题。
- 可电离物质：这种物质可根据介质中抗衡离子的水平，改变电离范围。比如，酸和碱将根据 pH 值的大小，会表现出完全不同的分离行为。
- 有色物质：由于入射光线被遮挡，这种物质可在海藻/水生植物试验中造成问题。

- **杂质**：某些物质可能含有杂质。这些杂质可能在不同的生产批次之间存在%含量和化学性质的变化。当杂质的毒性或水溶性或两者都大于母体物质时，会出现解释问题，从而对毒性数据造成潜在的显著影响。

A8.1.11 这些都是在确定数据的充分性、解释数据以及将数据用于分类办法时遇到的一些问题。有关如何解决这些问题和其它相关问题的详细指导，将在以下各章阐述。对水生毒性数据的解释将在第A8.3章中阐述。该章将论述上述“困难物质”所遇到的具体解释问题，并就何时和如何将数据用于分类办法提出了一些建议。该章还将对使用的试验数据和适合产生这些数据的试验方法进行一般性介绍。

A8.1.12 现有范围广泛的各类降解数据，对它们必须按照可快速降解性标准作出解释。因此，需要给予指导，说明如何使用通过非标准试验方法获得的这些数据，包括如何利用半衰期（如果有的话）、基本降解性和土壤降解率及其进行水生降解性和环境降解率外推的适当性。此外，本章还将对根据分类标准评估降解性的估计技术作出简要说明。该指导载于A8.4章。

A8.1.13 可用于确定生物积累潜力的方法将在第5章介绍。这一章将说明分配系数标准和生物浓缩系数（BCF）之间的关系，并就现有数据的解释，以及在没有现成的试验数据的情况下如何利用QSAR估计分配系数（BCF），特别如何解决上述困难物质带来的特定问题，提供指导。此外，还将讨论涉及到高分子量物质时所遇到的问题。

A8.1.14 另外还有一章，它涉及的是在本制度内使用QSAR的一般性问题，即对于人们关心的三个特性中每一个特性，它们应该在什么时候使用，以及应该如何使用。作为一种一般方法，人们广泛认为，在有现成的试验数据时，应使用现成试验数据，而不是QSAR数据。因此，QSAR数据的使用将仅限于没有可靠的数据可供使用的情况下。然而，并不是所有的物质都适合使用QSAR估计方法，A8.6章中的指导将讨论这一问题。

A8.1.15 最后，还专门有一章阐述与金属及其化合物有关的特殊问题。很明显，对于这些化合物，一些特定标准，如生物降解性和辛醇水分配系数，将无法适用，尽管经由降解和生物积累缺少破坏原则仍然是一些重要的概念。因此，需要选择一种不同的方法。金属和金属化合物能与影响金属离子溶解度、水柱中的分离和水柱中存在的金属离子种类的介质产生相互作用。在水柱中，通常是溶解的金属离子引起人们对毒性的关注。物质与介质之间的相互作用可能增加也可能减少离子水平和由此导致的毒性大小。因此，有必要考虑金属离子是否可能从物质中形成并溶解于水。如果是这样的话，它们是否能够快速形成，引起人们的关切。如何解释来自这类研究的成果，将在A8.7章说明。

A8.1.16 虽然指导文件提出了一些有用的建议，说明了如何将标准用于范围广泛的各种情形，但它仍只是一个指导。不能指望它涵盖分类过程中出现的所有情形。因此，应该将它视为一份生动的文件，部分地说明了这一制度的基本原则（比如以危害而不是风险为基础）和固定标准。它还部分地是一个经验库，显示了如何将方法用于解释，使固定标准能够适用于各种各样的非标准情形。

A8.2 统一分类办法

A8.2.1 范围

在制订标准时，考虑到用于危险分类的现有系统，如欧洲联盟的供给和使用制度、加拿大和美国的农药制度、海事组织/粮农组织/教科文组织-海洋学委员会/气象组织/卫生组织/原子能机构/联合国/环境规划署海洋环境保护的科学方面联合专家组危险评估程序、海事组织海洋污染物控制计划、欧洲公路和铁路输送计划（RID/ADR）和美国陆路运输制度。这些制度包括化学品的供应和后续使用、化学物质的海上输送，以及化学物质的公路和铁路运输。因此，统一标准旨在以一种统一的方式识别危险化学品，供所有这些制度使用。为解决所有不同部门（运输、供应和使用）的需要，有必要建立两个不同的分类类别，一个是急性类别，它包括三个种类；另一个是慢性类别，它包括四个种类。急性分类类别还又分为两个急性危险类（急性 II 和 III），它们在考虑包装物品时通常不使用。对于散装运输物质，由于所考虑到的散装数量，可单独作出若干管理决定。对于这些情况，比如，在需要对要使用的运输船只类型作出决定时，即要考虑所有急性分类种类也要考虑慢性分类种类。以下段落详细说明了在定义每一种危险种类时应使用的标准。

A8.2.2 分类类型和标准

急性和慢性水生毒性的危险种类及其相关标准在第 3.10 章 3.10.2.2 段和图 3.10.1 中给出。

A8.2.3 基本原理

A8.2.3.1 分类统一制度认为，对水生生物的固有危害，可用物质的急性和慢性或者长期毒性来描述；其相对重要性由所使用的特定的管理制度确定。由于可确定急性和慢性危害之间的差别，因此，可对代表所识别的危害水平等级的两特性定义危险种类。很清楚，慢性毒性 I 所代表的危害，比慢性毒性 II 的危害更大。由于急性危害和慢性危害代表着不同的危害类型，因此对于它们的相对严重性来说，无法作出比较。这两种危险种类应独立用于为所有管理制度奠定基础的物质分类。

A8.2.3.2 根据标准定义的主要危险段，与潜在的慢性危害有很大的关联性。它反映了人们对环境中的化学品的最重要关切，也就是说，所导致的这些影响通常是亚致死的，即对生殖产生影响，这是一种较长时间的接触产生的作用。在认识到慢性危害是人们的主要关切（特别是那些经过包装的物品，它们对环境中的放散从范围上有限）的同时，也必须认识到，要获得慢性毒性数据的成本是很高的，对于绝大多数物质来说，通常没有现成的数据。另一方面，在急性毒性方面通常有现成的数据，也可通过高度标准化的协议方式获得。因此，在定义急性和慢性危害时作为重要特性使用的是这种急性毒性。然而，人们已经认识到，在有现成的慢性毒性数据时，是有可能将这些数据用于定义适当的危险段的。利用这些数据制订的具体标准，在将来制订方案时，应优先使用。

A8.2.3.3 人们认识到，急性毒性本身并不足以准确地预测唯一和直接用来确定危害的慢性毒性，但也应该考虑到，在与潜在的化学毒性在生物体内积累（即 $\log K_{ow} \geq 4$ ，除非 $BCF < 500$ ），或者与潜在的长期接触（也就是缺少快速降解能力）结合后，它可作为适当的代用因素用于分类目的。显示急性毒性并且其生物积累能达到显著程度的物质，当它的浓度很低时，常常显示出慢性毒性作用。明确的急性毒性：由于慢性毒性比例很难预测，因此代用数据通常只有预防作用。同样，不能快速降解的物质很可能导致长期接触，从而使毒性长时间发挥作用。因此，比如，当满足下列标准时，应归入慢性第 I 类：

(一) L(E)C₅₀ 对于任何有关水生生物种 $\leq 1 \text{ mg/l}$ 且生物积累潜力 ($\log K_{ow} \geq 4$, 除非 BCF < 500)

(二) L(E)C₅₀ 对于任何有关水生生物种 $\leq 1 \text{ mg/l}$ 且不易快速降解。

A8.2.3.4 有关物种的急性毒性、不易快速降解和生物积累潜力的准确定义, 在 A8.3、 A8.4 和 A8.5 章分别详细说明。

A8.2.3.5 对于某些不易溶解物质, 即通常被认为水溶解率 $< 1 \text{ mg/l}$ 的物质, 在溶解度范围内进行的毒性试验中显示无急性毒性。然而, 如果这样的物质, $\text{BCF} \geq 500$, 或者不存在, $\log Kow \geq 4$ (表示具有生物积累潜力), 而且该物质不能快速降解, 则应使用安全网分类, 归入慢性第 IV 类。对中这些类型的物质, 在短期试验中的接触时间很可能太短, 致使物质稳定状态浓度无法在试验生物体内达到。因此, 虽然在短期 (急性) 试验中没有检测到急性毒性, 但它仍然很有可能存在, 这种非快速降解和生物积累性物质, 有可能产生慢性毒性作用, 特别是因为这种缓慢的降解可能导致在水生环境中的长时接触。

A8.2.3.6 在定义急性水生毒性时, 不可能对生活在水生生态系统中的所有物种进行试验。因此, 应选择有代表性的物种, 它们能够覆盖食物链中某些层和生物学中的某些分类。所选择的分类群、代表着最容易受到危害的群体中的“基本群体”的鱼类、甲壳纲和水生植物, 代表着能充分有效地说明危害的最小数据组。通常将现有毒性最小值用于定义危害类别。由于自然环境中拥有范围广泛的物种, 所试验的三种只能是较差的代用品, 因此, 为谨慎起见, 最小值被用来定义危险段。在这样做时也认识到, 物种敏感性的分布分为几个数量级, 因此在自然环境中既存在较为敏感也存在不太敏感的物种。因此, 当数据有限时, 可使用最敏感的物种进行试验, 给出谨慎的但可以接受的危害定义。在有些情况下可能不适合将最小毒性值作为分类基础。只有当有可能比普通方法能够更为准确地定义敏感性分布, 比如在拥有大量的现成数据时, 通常才会出现这种情况。对这种大型数据组的评估, 应小心谨慎。

A8.2.4 应用

A8.2.4.1 一般来说, 在确定一种物质是否需要分类时, 应在有关数据库和其它数据源中查找下列数据元素:

- 水溶解性;
- 辛醇/水分配系数 ($\log K_{ow}$);
- 鱼生物浓缩系数 (BCF);
- 急性水生毒性 (L(E)C₅₀s);
- 慢性水生毒性 (NOECs);
- 现有可降解性 (具体来说, 可立即实现的生物降解证据);
- 稳定性数据, 在水中。

水溶解性和稳定性数据虽然不直接用于标准, 但仍然十分重要, 因为它们对于其它特性的数据解释很有帮助 (见 A8.1.11 段)。

A8.2.4.2 为进行分类, 首先需要查阅现有水生毒性数据。此时需要考虑所有的现有数据, 并从中选择满足必要的分类质量标准的那些数据。如果没有现成数据能够满足国际标准化方法规定的质量标准,

则需要检查任何现有数据，以确定是否能进行分类。如果数据表明可溶性物质的急性水生毒性 $L(E)C_{50} > 100 \text{ mg/l}$ ，则不应将该物质归入危险物质。在许多情况下，试验过程中不会发现任何效应，在这种情况下，可将水生毒性记录为大于水溶解度数值，也就是在试验介质中的水溶解度范围内，没有急性毒性作用。当出现这种情况，而且在试验介质中的水溶解度 $\geq 1 \text{ mg/l}$ 时，也不必进行分类。

A8.2.4.3 当最小水生毒性数据低于 100 mg/l 时，应首先确定毒性属于哪一种危险段，然后再确定是否需要采用慢性和/或急性毒性分类。通过考察现有分配系数数据、 $\log K_{ow}$ 和现有降解数据，即可做到这一点。如果 $K_{ow} \geq 4$ ，或者该物质不能被认为是一种可快速降解物质，则分别进行适当的慢性危险分类和相应的急性危险分类。值得注意的是，虽然 $\log K_{ow}$ 是表示生物积累可能性的最容易获得的数据，但最好还是首先选择使用试验得到的 BCF 数据。在有现成数据的情况下，应使用这些数据而不是分配系数。在这种情况下， $BCF \geq 500$ 将表明，生物积累的情况已足以半其列入适当的慢性危险种类。如果这种物质既可快速降解，又具有较小的生物积累可能性 ($BCF < 500$ ，或者在没有的情况下 $\log K_{ow} < 4$)，则不能被划分为慢性危险段，而只能划分为急性危险段（见 A8.2.1）。

A8.2.4.4 对于不易溶解物质，一般说来，在试验介质中的水溶解度 $< 1 \text{ mg/l}$ 的物质，如果没有发现具有水生毒性，应通过进一步检查来确定是否需要划分为慢性第 IV 类。因此，如何该物质既没有可快速降解性，又具有生物积累可能性 ($BCF < 500$ ，或者在没有的情况下 $\log K_{ow} < 4$)，则应划分为慢性危险第 IV 类。

A8.2.5 数据有效性

用于物质分类的数据最好还是来自用于管理目的数据和从有关的参考文献中得到，尽管有许多得到国际认可的数据库可作为一个良好的起点。这些数据库在质量和全面性方面存在很大差异，而且任何一个数据库也不太可能拥有分类所需的全部数据资料。有些数据库专门收集水生毒性数据，还有些专门收集环境命运方面的数据。化学品供应商有义务进行必要的研究和检查，以确定现有数据的范围和质量，并用这些数据进行适当的危险段分类。

A8.2.6 数据质量

A8.2.6.1 如何准确地使用现有数据，将在有关章节中阐述；但作为一般规则，与其它类型的数据相比，应优先选择根据标准国际准则和良好实验室做法生成的数据。同样，也应认识到，也可根据最好的现有数据进行分类。因此，如果没有现成数据能够符合上述质量标准，只要使用的数据不是无效数据，仍可据此进行分类。为有助于实现这一过程，现已编制了一份质量评分指南，它已广泛用于许多论坛；它一般采用符合下列类别：

- (a) 从经过管理机构认可的官方数据源得到的数据，比如，欧盟水质专著、美国环保局水质标准等。这些数据可被认为是有效数据，可供分类使用。然而，不应假设这些是唯一有效的数据，而且应适当考虑相关报告的日期。最新数据可能还没有被考虑；
- (b) 从公认的国际准则（如经合发组织准则）或同等质量的国家准则中得到的数据。这些数据可以以下几章提出的数据解释问题为条件用于分类；
- (c) 从试验中得到的、即使不完全符合以上详述的准则，但却遵循了公认的科学原理和程序并且/或者在发表前经过了同侪审查的数据。对于这些数据，如果没有记录所有的试

验细节，则需要作出某些判断，以确定这些数据是否有效。通常情况下，这样的数据可用于分类办法；

- (d) 通过某些试验程序获得的数据；如果这些试验程序明显与标准准则不同而且被视为不可靠试验，则数据将不能用于分类；
- (e) QSAR 数据。QSAR 数据的使用环境和有效性在有关章节中讨论；
- (f) 来自次级源，比如来自手册、评论、引用资料等的的数据，这些数据源的数据质量无法直接评估。如果数据达不到质量 1、2 和 3，则应对数据进行审查，以确定这些数据是否可用。这样的数据应足够详细，以便于进行质量评估。在确定这些数据是否可用于分类目的时，应适当考虑试验中的困难，因为它们有可能对数据质量以及报告的结果在已识别的危害水平方面的重要性造成影响（见 A8.3.6.2.3）。

A8.2.6.2 也可以根据不完整的毒性数据资料进行分类，比如，所有三个食物链水平的数据资料都不全。在这种情况下，分类可被认为是“临时”的，需要进一步收集信息资料。一般来说，在进行分类之前，对所有的现成数据都应该予以考虑。在没有优质数据的情况下，则需要考虑质量较差的数据。在这种情况下，需要对真实的危害水平作出判断。比如，对于一个特殊的物种或分类群，在有优质数据，同时也有质量较差的数据的情况下，应优先使用优质数据。但是，对于各级食物链的所有基本数据组来说，优质数据并不是总能得到。因此，对于这些各层食物链来说，在无法获得优质数据的情况下，则有必要考虑质量较差的数据。然而，在考虑这些数据的时候，也需要考虑可能对获得有效结果的可能性造成影响的各种困难。比如，试验细节和试验设计可能对评估某些数据的有用性至关重要（比如来自水解不稳定的化学物质的数据），而对于其他化学物质则没有这么重要。这些困难在 A8.3 章做了进一步的论述。

A8.2.6.3 通常，根据直接来自所考虑的物质试验的信息进行危害识别并据此作出分类。然而在有些情况下，可能会在试验中遇到一些困难，或者得到的结果与常识不符。比如，某些化学物质，虽然在瓶内很稳定，但在水中却发生快速（或慢速）反应，生成可能具有不同性质的降解产物。当降解速度很快时，现有试验数据将用于定义降解产物的危害性，因为它就是已经进行过试验的物质。这些数据可用于按正常方式对母体物质进行分类。然而，当降解速度比较缓慢时，有可能对母体物质进行试验，从而按正常方式产生危害数据。后续发生的降解可在确定是适用急性还是慢性危害种类时予以考虑。然而，可能会出现这样的情况，即试验物质可能发生降解，生成具有更大危害性的产物。在这些情况下，母体的分类应适当考虑降解产物的危害性，以及在正常环境条件下形成这种危害的速度。

A8.3 水生毒性

A8.3.1 引言

识别一种物质对水生环境具有危害的基础，是这种物质的水生毒性。应根据对鱼类、甲壳纲动物和海藻/水生植物的现有毒性数据进行分类预测。这些分类群通常被认为对水生动物群和植物群的危害识别具有代表。有关这些特定分类群的数据更容易找到，因为它们通常被管理机构和化学工业所接受。有关降解和生物积累行为的其它信息，可用于更好地描述水生危害。本章介绍了生态毒性的有关试验，提出了用于评价数据和使用组合试验结果进行分类的一些基本概念，总结了处理困难物质的方法，并简要讨论了数据质量的解释问题。

A8.3.2 试验说明

A8.3.2.1 在统一制度中进行物质分类时，可将淡水和海水物种毒性数据视为等价数据。值得注意的是，某些类型的物质，如可离子化有机化学或有机金属物质，可在淡水和海水环境中表现出不同的毒性。由于分类的目的是确定水生环境中的危害特点，因此应选择表现出最大毒性的结果。

A8.3.2.2 用于确定健康和环境危害的全球统一制度标准应是一种不偏向试验方法的标准，允许使用各种不同的方法，前提是根据现行制度中所指的关于人们关切的终点指标的国际程序和标准，它们在科学上是完善和有效的，并且能够产生可共同接受的数据。根据建议的制度（经合发组织 1998）：

“急性毒性通常利用下列手段确定：一条鱼，96 个小时 LC50（经合发组织试验准则 203 或同等准则），一个甲壳纲动物，48 小时 EC50（经合发组织试验准则 202 或同等准则）和/或一个海藻生物，72 或 96 小时 EC50（经合发组织试验准则 201 或同等准则）。这些物种被认为是所有水生生物体的代用品。如果试验方法得当的话，有关其它物种，如浮萍 *Lemna* 的数据，也可以考虑。”

慢性试验涉及一个持续时间很长的接触期；时间长短可用从天到年的时间周期表示，或者根据水生生物的繁殖周期确定。慢性试验可用于评估与生长、存活、繁殖和发育有关的某些终点指标。

“慢性毒性数据比急性毒性数据要少一些，而且试验程序的标准化也不如急性试验。根据经合发组织试验准则 210（鱼的早期生命阶段）、202 第 2 部分或 211（水蚤的繁殖）和 201（海藻生长抑制）生成的数据可以接受。其它有效的和在国际上得到认可的试验，也可以使用。NOEC 或其它等效 L(E) C_x 也可以使用。”

A8.3.2.3 值得注意的是，被作为分类实例引用的一些经合发组织准则目前正在进行修订之中或正计划更新。这些修订对试验条件的修改可能并不大。因此，制订分类统一标准的专家小组打算在试验时间甚至使用的试验物种上保持一些灵活性。

A8.3.2.4 关于用鱼、甲壳纲动物和海藻进行可接受的试验的准则，可见于许多地方（经合发组织，1999；美国环保局，1996；美国试验材料学会，1999；国际标准化组织驻欧盟机构）。经合发组织专著 11—一对工业化学物质和杀虫剂的水生毒性试验的详细审查文件，是一部很好的深海试验方法汇编，可作为试验指导的来源。这份文件还提供了许多适当的试验方法。

A8.3.2.5 鱼类试验

A8.3.2.5.1 急性试验

急性试验通常用体重在 0.1 至 5g 的小鱼进行，试验时间为 96 小时。这些试验的观察目标是死亡率。大于上述范围的鱼和/或时间短于 96 小时，通常都不那么敏感。然而，对于分类来说，如果没有用较小的鱼进行的 96 小时试验得到的可接受数据可用，或者由于试验用鱼的大小或试验时间不同于上述范围而使试验结果会影响更危险的分类范围时，可使用这种数据。应使用应符合经合发组织试验准则 203（鱼 96 小时 LC50）或同等准则的试验进行分类。

A8.3.2.5.2 慢性试验

用鱼进行慢性也就是长期试验，可从繁殖的鱼卵、晶胚、幼鱼或具有繁殖活力成年鱼的开始。符合经合发组织试验准则 210（鱼的早期生命阶段）、鱼的生命周期试验（美国环保局 850.1500）或同等准则的试验，可用于分类办法。试验时间可按试验目的的不同而存在很大差别（从 7 天到 200 天均可）。观察终点指标可包括孵卵成功率、生长（身长和重量变化）、产卵成功率和生存力。从技术上讲，经合发组织 210 准则（鱼的早期生命阶段）不是“慢性”试验，而是一种对敏感生命阶段进行的亚慢性试验。它作为慢性毒性的一个指标，已为人们普遍接受，并被于统一制度的分类目的。鱼的早期生命阶段的毒性数据比鱼的生命周期或繁殖研究数据要容易获得多。

A8.3.2.6 甲壳纲动物试验

A8.3.2.6.1 急性试验

利用甲壳纲动物进行的急性试验通常始于首龄幼虫。对于水蚤来说，试验时间为 48 小时。对于其它甲壳纲动物，比如糖虾或其它动物，典型的试验时间为 96 小时。观察终点指标是死亡率，或者用僵化不动作为死亡率的代用指标。僵化不动应定义为对轻微的针刺没有反应。符合经合发组织试验准则 202 第 1 部分（水蚤急性毒性）或美国环保局 OPPTS 850.1035（糖虾急性毒性）或其它同等准则的试验均应用于分类。

A8.3.2.6.2 慢性试验

利用甲壳纲动物进行慢性试验通常也是从首龄幼虫开始，然后经历发育成熟和繁殖阶段。对于水蚤来说，试验 21 天即可达到成熟，并孵化 3 次卵。对于糖虾来说，则需要 28 天。观察终点指标包括第一次产卵的时间、每只雌虫产下的后代数量、生成和存活情况。建议用符合经合发组织试验准则 202 第 2 部分（水蚤繁殖）或美国环保局 850.1350（糖虾慢性毒性）或其它同等准则的试验进行分类办法。

A8.3.2.7 海藻/植物试验

A8.3.2.7.1 海藻试验

海藻栽培在营养丰富的介质中，并与试验物质相接触。应使用符合经合发组织试验准则 201（海藻生长抑制）的试验。标准试验方法采用的是接种体内的细胞密度指标，以确保在整个试验阶段（通常为 3 至 4 天）的指数增长。

海藻试验是一种短期试验，虽然它可提供急性和慢性终点指标，但只有急性 EC50 被用于统一制度的分类。在此项研究中，首选的观察终点指标是海藻生长率抑制，因为它不取决于试验设计，而单位面积或体积内生物的数量既取决于试验动物的生长率和试验时间，也取决于其它的试验设计因素。如果所报告观察终点指标只是单位面积或体积内生物数量的减少或者没有明确说明，那么可将该值解释为等效终点指标。

A8.3.2.7.2 水生大型植物试验

在水生毒性试验中最常使用的维管植物是浮萍 (*Lemna gibba* 和 *Lemna minor*)。Lemna 试验是一种短期试验；虽然它可提供急性和亚慢性目标检测值，但只有急性 EC50 被用于统一制度的分类。试验时间最长 14 天，可在类似于海藻试验条件的营养丰富的介质中进行，但可以增强强度。应使用符合经合发组织 Lemna 试验准则（在准备过程中）和美国环保局 850.4400（水生植物毒性，Lemna）的试验。

A8.3.3 水生毒性概念

本节涉及的是急性和慢性毒性数据在分类中的使用，以及对接触途径、海藻毒性试验和 QSAR 的使用的一些特殊考虑。有关水生毒性概念的更详细讨论，请参阅 Rand (1996)。

A8.3.3.1 急性毒性

A8.3.3.1.1 用于分类目的的急性毒性概念指的是一种在短期接触条件下，对生物体产生有害作用的物质的固有特性。急性毒性通常可用对 50% 的试验生物体 (LC50) 有致命作用的浓度指标来表述；急性毒性可导致对 50% 的试验生物体产生可检测到的负作用（如水蚤的僵化不动），或者出现试验生物体（经过处理）的反应比对照（未处理）生物体的反应（如海藻生长率）降低 50% 的情况。

A8.3.3.1.2 带有小于百万分之一 (1 mg/l) 急性毒性的物质，通常被认为是具有很大的毒性。接触、使用这些物质或将其排放到周围环境中，可带来很大的危害；可将它们列入慢性和/或急性群 I。小数段可被接受为高于这一群的急性毒性分类。带有百万分之一至百万分之十 (1-10 mg/l) 急性毒性的物质，应划分为 II 类急性毒性；带有百万分之十至百万分之一百 (10-100 mg/l) 急性毒性的物质，应划分为三类急性毒性；急性毒性含量在百万分之一百以上的物质，则被认为是实际上无毒性物质。

A8.3.3.2 慢性毒性

A8.3.3.2.1 用于分类目的的慢性毒性，指的是一种物质对水生生物体长期接触后产生负作用的潜在的或实际特性。所谓长期接触是相对于生物体生命周期而言的。这种慢性影响通常包括亚致死率，一般采用无可观测到的影响浓度 (NOEC)，或相应的 ECx 指标来表示。典型的观察目标包括生存、生长和/或繁殖。慢性毒性接触时间可在较大范围内变化；这主要取决于试验检测目标和所选用的物种。

A8.3.3.2.2 由于慢性毒性数据在某些领域不象急性毒性数据那么常见，对于分类办法来说，慢性毒性的可能性用急性毒性、缺少可降解性和/或潜在或实际存在的生物积累等指标结合起来确定。当这些数据存在，并显示长期 NOECs > 1 mg/l 时，可在确定是否应根据急性毒性数据进行分类时考虑这些数据。在这种情况下，应采用下列一般做法。为取消慢性毒性分类，必须有证据表明，所采用的 NOEC 适合消除对导致分类结果的所有分类群的担心。这通常可通过显示对急性毒性最具敏感性的物种的长期指标 NOEC > 1 mg/l 来实现。比如，如果已经根据鱼的急性 LC50 指标进行了分类，则通常不可能利用一个来自无脊椎动物毒性试验的长期 NOEC 指标撤消这一分类。在这种情况下，NOEC 通常需要从利用同一物种进行的长期鱼类

试验，或者从某一个相应物种或更为敏感的物种的试验中得到。同样，如果分类是根据对一个以上的分类群有效的急性毒性数据做出的，则很有可能需要显示每一个分类群的试验结果 NOECs > 1 mg/l。在将一种物质定为慢性第 IV 类时，只要显示 NOEC 大于所讨论物质的水溶解度即可。

A8.3.3.2.3 对海藻/Lemna 进行的试验不能用于撤消化学物质分类。因为（1）海藻和 Lemna 试验不是长期试验研究；（2）急性与慢性的比值一般比较窄；而且（3）观测终点指标与其它生物体的观测终点指标更接近。

然而，在仅仅根据在单一海藻/水生植物试验中观察到的急性毒性（L（E）C₅₀）进行分类，但一系列其它海藻试验却有证据显示这种分类群的慢性毒性（NOECs）大于 1mg/l 时，这一证据可用于考虑取消这种分类。目前，这种方法还不能用于水生植物，因为还没有制订出标准化慢性毒性试验方法。

A8.3.3.2.4 全球统一制度打算给出具体的慢性毒性值。当低于这一指标时，该物质将划分为慢性毒性物质，但这种标准目前尚未确定。

A8.3.3.3 接触途径

在急性和慢性试验中，包括在淡水和海水介质中，采用以下 4 种接触条件：静态、静态更新（半静态）、循环和流过。选择使用哪种试验类型，通常取决于试验物质特性、试验时间、试验物种和有关管理要求。

A8.3.3.4 海藻的试验介质

海藻试验应在营养丰富的介质中进行，常见组分 EDTA 或其它螯合剂的使用应慎重考虑。在试验有机化学物质毒性时，在基质的复合微量营养物中需要有微量的 EDTA 一类的螯合剂；如果没有的话，海藻生长有可能会显著减慢，从而影响试验的有效性。然而，螯合剂可降低金属试验物质可检测到的毒性。因此，对于金属化合物来说，对于来自采用高浓度螯合剂的试验和/或相对于离子，螯合剂化学计量过多的试验的数据，最好进行严格的评估。自由螯合剂可显著掩盖重金属的毒性，特别是在使用像 EDTA 一类的强螯合剂的时候。然而，在介质中如果没有现成的铁，海藻的生长会受到铁的限制，因此，对来自没有或较少铁含量和 EDTA 量的试验数据，也应谨慎对待。

A8.3.3.5 QSAR 的使用

为分类目的，在没有试验数据的情况下，可利用 QSAR 方法作出有关非电解质物质、非亲电物质和其它不起反应物质对鱼、水蚤和海藻的急性毒性的预测（见 A8.6 章“QSAR 的使用”）。对于通过像与生物受体之间存在相互作用，或者能够与蜂窝状蛋白质形成硫氢基群的官能团这样的特殊机理起作用的有机磷酸酯一类的化学物质，仍然存在一些问题。对于基本麻醉机理起作用的化学物质，目前已经得到可靠的 QSAR。这些化学物质属于低反应性非电解质，如碳氢化合物、酒精、酮和某些脂肪族氯化烃；它们会由于它们的分配系数而产生生物学效应。每一种有机化学物质都可产生麻醉作用。然而，如果化学物质是一种电解质，或者含有也能导致非麻醉机理的特定官能团，仅仅根据分配系数进行的任何毒性计算，都会造成对毒性的严重低估。如果它们是在长于急性试验期的一段时间后得到的，则母本化合物急性水生毒性的 QSAR 不能用于预测毒性代谢物或降解产物的影响。

A8.3.4 证据权重

A8.3.4.1 质量最好的数据应作为分类的基本基础。分类最好建立第一级数据源的基础上。必须明确和完整地说明试验条件，这一点十分重要。

A8.3.4.2 当对于一个分类群已有多项研究的情况下，应首先确定哪些是最敏感的、质量最好的。必须针对每一种情况分别作出判断，确定是否用观察更敏感的非良好实验室做法研究替代良好实验室做法研究。根据非标准或非良好实验室做法准则进行的试验所表明的强毒性结果，似乎应该能够用于分类，而显示毒性可以忽略不计的研究结果，则需要进行更仔细的考虑。很难进行试验的物质，有可能产生比实际毒性严重或轻微得多的明显结果。在这些情况下，分类也需要专家判断。

A8.3.4.3 当对同一个分类群有多个可以接受的试验结果时，一般应在分类中使用最敏感的试验结果（L（E）C₅₀ 或 NOEC 最低的试验结果）。然而，这必须针对具体情况分别对待。对于同一物种，在有较多数据（4 或 4 个以上参数值）的情况下，可将毒性值的几何平均数作为该物种有代表性的毒性值使用。在估计平均值的时候，将同一分类群中不同物种，或不同生命阶段，或在不同的试验条件或试验周期下得到的试验结果综合在一起考虑，是不可取的。

A8.3.5 难以进行试验的物质

A8.3.5.1 有效的水生毒性试验要求试验物质在试验准则建议的试验条件下，应在水介质中溶解。此外，生物药效接触浓度应在试验期间内保持不变。某些化学物质很难在水生系统中进行试验，为此而编制了试验指导，以帮助对这些物质进行试验（环境部 1996；欧洲生态毒理学和化学品毒理学中心 1996；和美国环保局 1996）。经合发组织目前正对关于困难物质和混合物的水生毒性试验的指导文件进行最终定稿（经合发组织, 2000）。后一文件提供了有关难以进行试验的各种物质的大量信息，以及确保对这些物质所做的试验得到有效结果的具体步骤。

A8.3.5.2 然而，现有有许多试验数据可能使用了这样的试验方法学：它们不符合当今可能被视为最佳的做法，但仍可产生适合于分类标准应用的信息。这样的数据需要对数据解释提供特殊指导，尽管最终还需要用专家判断来确定数据的有效性。这种难以进行试验的物质可能溶解性很差、易挥发，或者在诸如光转化、水解、氧化或生物降解过程的作用下，容易发生快速降解。在对海藻进行试验时，有色物质有可能通过削弱细胞生长所需的光线，而影响试验观察终点指标。同样，作为高于溶解度的云状弥散物试验的物质，有可能会产生错误的毒性检测结果。用带有试验物质的水柱加载，可产生微粒或诸如金属一类的固体问题。在就确定 L（E）C₅₀ 值的适当浓度作出决定时，石油蒸馏物组分也会带来加载问题和困难的解释问题。关于困难物质和混合物的水生毒性试验的指导文件草案介绍了有可能出现试验困难问题的许多物质类型的常见特性。

稳定性： 如果试验化学品浓度可能降至正常值的 80%以下，那么为了使试验有效，可能需要由接触途径规定对试验物质进行更新。最好具备半静态或流通条件。因此，对于海藻试验，当标准准则通常要求进行静态试验时，就会产生一些特殊的问题。虽然用其它接触途径对甲壳纲和鱼类动物进行试验时是可能的，这些试验通常会按国际认可的准则中规定的静态条件下进行。在进行这些试验时，必须容忍出现一定的降解水平和其它相关因素；而且在计算毒性浓度时，必须给予适当的考虑。有关如何解决这些问题的一些方法在 A8.3.5.6 中介绍。当发生降解时，考虑降解产物的毒性作用对试验中记录毒性的影响，也是十分重要的。在决定数据是否可用于分类时，也需要专家判断。

可降解性：当化合物在试验条件下出现分解或降解，应将专家判断用于为分类而进行的毒性计算，其中包括考虑到已知的或很有可能出现的分解产物。母材和所有显著的降解产物的浓度都是需要的。如果预期的降解产物相对来说没有什么毒性，则需要采用可更新接触途径，以确保母体化合物能够保持一定的水平。

饱和度：对于单一化合物，分类只能建立在可溶解范围内观察到的毒性反应基础上，而不是在大于溶解度之上的总体化学载荷的基础上。常常有现成的数据表明毒性的水平大于在水中的溶解度。这些数据通常被视为无效数据时，作出一些解释或许是可能。在对不易溶解物质进行试验时，常常会出现这些问题。有关这些数据应该如何解释的指导载于 A8.3.5.7（另见关于困难物质和混合物的水生毒性试验的指导文件）。

试验介质的扰动：或许需要采取特别措施，以确保难以进行试验的物质的溶解度。这些物质不应导致试验介质出现显著变化，如果这些变化有可能造成视在毒性的增长或减小从而相应改变试验物质的分类水平的话。

合成物质：分类办法所涉及的许多物质事实上都是混合物，对于这些物质，接触浓度的检测是很困难的，甚至在某些情况下是不可能的。有些物质，比如石油蒸馏组分、聚合体，以及带有较多杂质的物质，可能会带来一些特殊的问题，因为毒性浓度很难定义，而且几乎无法进行验证。典型的试验方法通常依赖于水溶性成分（WSF）或水积累性成分（WAF）的生成，数据则按负载速率报告。这些数据可在应用分类标准中使用。

A8.3.5.3 对于有机化合物的分类，最好拥有一个稳定的、能够进行分析检测的试验浓度。虽然最好能够使用检测到的浓度，但如果在某些条件下额定浓度研究结果是唯一的有效数据时，也可以根据额定浓度研究结果进行分类。如果材料很容易出现明显的降解或者从水柱中丢失，在对数据作出解释时则必须小心谨慎；而且在相关和可能的情况下，在分类时应考虑试验过程中损失的毒性物质。此外，金属还会带来一些由于它们的自身原因而引起的困难，这些都分别予以讨论。表 A8.3.1 列出了几种难以进行试验的物质的特性和它们与分类的相关性。

A8.3.5.4 在最困难的试验条件下，实际试验浓度很可能低于额定或预期试验浓度。对于某种难以进行试验的物质来说，当毒性（L（E）C_{50S}）估计值小于 1mg/l 时，人们可以确信，划分为急性第 I 类（和慢性第 I 类，如果适用的话）是有理由的。然而，如果估计的毒性值大于 1 mg/l，则很有可能造成对毒性的认识不够。在这些情况下，需要借助于专家判断来确定难以进行试验的物质的试验结果是否可被接受，用于分类。如果认为试验的困难情况在毒性估计值大于 1 mg/l 而且试验浓度没有检测的情况下，会对实际试验浓度造成显著影响，那么在分类时，应谨慎使用这种试验。

A8.3.5.5 下面几段将对某些解释问题提供一些详细的指导。在进行这项工作时应牢记，这只是一些指导，不能作为硬性规定使用。许多困难的性质决定了在确定试验中是否有足够的信息可以对其有效性作出判断，以及是否可以确定适合在应用分类标准时使用毒性水平时，都必须借助于专家判断。

A8.3.5.6 不稳定物质

A8.3.5.6.1 虽然采用的试验方法最好能最大限度地减少对试验介质不稳定性的影响，但在实际上，要在整个试验中保持一个浓度不变几乎是不可能的。造成这种不稳定性的常见原因是氧化、水解、光降解和生物

降解作用。虽然后面几种降解形式可以较为容易地控制，但在许多现有试验中，控制常常并不存在。然而，对于某些试验来说，特别是急性和慢性鱼类毒性试验，可以选择接触途径，以有助于最大限度地减少因不稳定而造成的损失。在确定试验数据的有效性时，应将这一点考虑进去。

A8.3.5.6.2 当不稳定性是确定试验过程中接触水平的一个因素时，作出数据解释的一个必要的前提条件是，在整个试验过程中适当的时间点确实检测到接触浓度。至少在试验开始和结束时，如果没有分析性地检测到一定的浓度，则不能作出有效的解释，而且应将试验视为无效，不得用于分类目的。在有检测数据的时候，则可根据数据解释指导考虑一些实际规则：

- 在有试验开始和结束时的检测数据（对于急性水蚤和海藻试验来说是正常的）时，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 可根据开始和结束点的试验浓度几何平均值进行计算。当试验结束点浓度低于分析检测极限时，应将这样的浓度视为检测极限值的一半。
- 在有介质更新期开始和结束点的检测数据（在半静态试验中可得到）时，应计算每个更新期的几何平均值，并根据这些数据计算整个接触期的平均接触值。
- 当毒性可归因于一种降解产物，而且这种产物的浓度已知时，为了分类目的，可根据降解产物浓度计算 $L(E)C_{50}$ ，然后再回推母体浓度值。
- 类似的原则也可用于慢性毒性试验的检测数据。

A8.3.5.7 不易溶解物质

A8.3.5.7.1 这些物质通常被认为是在水中的溶解度 $<1 \text{ mg/l}$ 的物质，常常很难在试验介质中溶解，而且在预期的低溶解度条件下，其溶解度经常很难检测。对于许多物质来说，在试验介质中的真正溶解度是不知的，并经常记录为小于纯净水中的检测极限。然而，这些物质可能表现出毒性，在没有发现毒性时，则必须通过判断来确定是否可以认为试验结果有效，可用于分类目的。判断宁可失之谨慎，也不应低估危害性。

A8.3.5.7.2 最好利用适当的溶解技术以及水溶解范围内的准确浓度检测结果进行试验。在有这些试验数据的时候，与其它数据相比，应优先选用这样的数据。然而，在一般情况下，特别是在考虑到旧数据的时候，发现这种物质的记录毒性水平超过水溶解度，或者溶解水平低于分析方法的检测极限，是正常的。因此，在上述两种情况下，都不可能利用实测数据验证实际接触浓度。当这些是唯一可用于分类的数据时，可根据一般指导考虑一些实际规则：

- 在记录的急性毒性水平超过水溶解度时，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 等于或低于检测到水溶解度。在这种情况下，或许应确定为慢性 I 和/或急性 I 种类。在作出这种决定的时候，应充分注意过多的不溶解物质对试验机理造成实质性影响的可能。如果认为这可能是造成观察到的影响的原因，则应认为试验结果无效，不能用于分类目的。
- 在没有记录到急性毒性水平超过水溶解度时，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 大于水溶解度检测值。在这种情况下，应考虑是否可确定为慢性 IV 种类是否适用。在作出该物质显示无毒性决定的时候，应充分考虑用来达到最大溶解浓度的技术。如果无法认为采用这种技术是合理的，则应认为试验结果无效，不能用于分类目的。

- 在水溶解度低于分析方法规定的该物质检测极限，而且记录到存在急性毒性时，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 小于分析检测极限值。如果没有观察到毒性，则为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 大于水溶解度。此时也应充分考虑上述质量标准。
- 在有慢性毒性数据的情况下，应采用相同的一般规则。原则上讲，只应考虑那些显示在水溶解度极限位置没有影响或者浓度大于 1 mg/l 的数据。如果对检测浓度的考虑不能证明这些数据有效，则应视情况考虑用来达到最大溶解浓度的技术。

A8.3.5.8 影响浓度降低的其它因素

其它一些因素也会使浓度降低，其中有些因素可以通过正确的试验设计加以避免，但当这样的因素起作用的时候，经常会有必要对数据作出解释。

- 沉淀：在试验过程中，由于多种原因，可能会产生沉淀现象。一个常见的解释是，物质并没有真正溶解，尽管看起来固体颗粒已经不存在了；试验中出现的凝聚现象会导致出现沉淀。在这种情况下，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 建立在试验浓度末端的基础上。同样，通过与介质发生化学反应也可能出现沉淀现象。这种现象可按上述不稳定条件考虑。
- 摄入：具有较高摄入特性的物质，比如高 $\log K_{ow}$ 物质，可出现这种情况。在出现这种情况的时候，浓度常常会快速降低；接触强度最好用试验浓度终点值表示。
- 生物积累：一种物质在试验生物体内积累的过程中会出现一些损失。在水溶解度比较低， $\log K_{ow}$ 相应比较高的情况下，它具有特别重要的意义。此时，为了分类目的，可根据在开始和结束点的试验浓度几何平均值计算 $L(E)C_{50}$ 值。

A8.3.5.9 试验介质的扰动

A8.3.5.9.1 强酸和强碱可显示毒性，因为它们可以改变 pH 值。然而，在一般情况下，水生系统中 pH 值的变化通常会受到试验介质中的缓冲系统的阻止。如果没有有关盐份的数据可供使用，一般按与阴离子或阳离子两样的方法，将盐作为受到最严格分类的离子进行分类。如果影响浓度仅与一种离子有关，在对盐进行分类时，则应将分子量的差异考虑进去，即通过乘以比例值 MW_{salt}/MW_{ion} 来修正影响浓度，。

A8.3.5.9.2 聚合物在水生系统中通常是不存在的。可分散聚合物和其它高分子物质有可能扰乱试验系统，影响氧的吸收，并产生机械作用或二次作用。在考虑来自这些物质的数据时，应将这些这些因素考虑进去。然而，许多聚合体的行为有些像络合物，带有很低的分子成分，它们可以从本体聚合物中滤除。这一问题将在下面作进一步讨论。

A8.3.5.10 络合物

A8.3.5.10.1 络合物的特点是它具有各种各样的化学结构，通常属于一个同源系列，但其水溶解能力和其它物理化学特性却有着很大的不同。加到水中后，具有物质加载特性的溶解和不溶解成分之间会达到一种平衡。正是由于这个原因，这种络合物通常作为 WSF 或 WAF 进行试验，而且根据加载值或额定浓度记录 $L(E)C_{50}$ 。通常没有现成的分析支持数据，因为溶解成分本身将成为各种组分的复杂混合物。

毒性参数有时候被称为 LL_{50} ，与致死负荷水平有关。来自 WSF 或 WAF 的这一负荷水平可直接用于分类标准。

A8.3.5.10.2 聚合体代表一种特殊类型的络合物，要求考虑聚合物类型和它们的溶解/扩散行为。聚合体可以这样溶解而不会出现变化，（真正的溶解度与粒度有关），可以扩散，或者带有低分子成分的一部分组成物可能会进入溶液内。当出现后面一种情况时，聚合体的试验实质上就是检测低分子物质从本体聚合物中滤除的能力，并确定这种沥出物是否存在毒性。因此，可以像考虑复杂混合物那样，这样认为：聚合体的负荷可以最好地描述所生成的沥出物，因此可以将毒性与这种负荷联系起来。

表 A8.3.1 难以进行试验的物质的分类

| 特性 | 困难的性质 | 分类实用方法 |
|--------------------|--|--|
| 不易溶于水 | 达到/保持所要求的接触浓度；进行接触分析 | 当观察到的毒性反应大于其在溶解度时，需要作出专家判断，以确定这些影响是来自化学毒性还是物理效应；如果没有观察到任何影响，则应显示已经达到完全饱和和溶解。 |
| 浓度低时的毒性 | 达到/保持所要求的接触浓度；进行接触分析 | 根据毒性分类 $< 1 \text{ mg/l}$ |
| 挥发性 | 保持和检测接触浓度 | 应根据可靠的浓度检测结果分类。 |
| 光降解 | 保持接触浓度。分解产物的毒性。 | 分类需要专家判断，应建立在检测浓度的基础上。应确定明显分解产物的毒性特点。 |
| 水解不稳定性 | 保持接触浓度。分解产物的毒性。比较降解半衰期与试验中采用的接触途径。 | 分类需要专家判断，应建立在检测浓度的基础上，需要说明明显分解产物的毒性。 |
| 易于氧化 | 达到、保持和检测接触浓度。经过改造的化学结构或分解产物的毒性。比较降解半衰期与试验中采用的接触途径。 | 分类需要专家判断，应建立在检测浓度的基础上，需要涉及明显分解产物的毒性。 |
| 易于磨蚀/转化（指金属/金属化合物） | 达到、保持和检测接触浓度。比较从水柱隔离的半衰期与试验中采用的接触途径。 | 分类需要专家判断，应建立在检测浓度的基础上，需要涉及明显分解产物的毒性。 |
| 生物降解 | 保持接触浓度。分解产物的毒性。比较降解半衰期与试验中采用的接触途径。 | 分类需要专家判断，应建立在检测浓度的基础上，需要涉及明显分解产物的毒性。 |
| 吸附作用 | 保持接触浓度。进行接触分析。因试验物质的可用性降低而引起的毒性强度。 | 分类应使用现有物质的检测浓度。 |
| 形成螯合物 | 区别介质中的螯合和非螯合组分。 | 分类应使用现有物质的检测浓度。 |
| 有色 | 光线衰减（海藻问题）。 | 分类必须将毒性效应与由于光线衰减而导致的生长率降低区别开来。 |
| 不溶于水 | 保持恒定的接触浓度。 | 分类应使用浓度检测结果。 |
| 离子化 | 保持接触浓度。分解产物的毒性。比较降解半衰期与试验中采用的接触途径。 | 分类需要专家判断，应建立在检测浓度的基础上，需要涉及明显分解产物的毒性。 |
| 多组分 | 准备有代表性的试验批次。 | 考虑方法与复杂混合物相同。 |

A8.3.6 数据质量的解释

A8.3.6.1 标准化

许多因素可以影响水生生物毒性试验结果。这些因素包括试验水的特性、试验设计、试验物质的化学特性和试验生物的生物学特性。因此，在进行水生毒性试验时使用标准化试验方法，以减少这些外来波动源的影响是十分重要的。试验标准化以及这些标准的国际统一目的是减少试验的差异性，提高试验的精确性、可复制性和试验结果的一致性。

A8.3.6.2 数据结构

A8.3.6.2.1 分类应建立在高质量原始数据的基础上。应优先选用那些符合经合发组织试验准则或同等准则和良好的试验室试验做法（GLP）的数据。最好使用用国际统一试验方法对标准试验物种所做的试验获得的数据，但也可以使用根据普遍公认的国际或国家试验方法或同等准则所做的试验结果，比如 ISO 或 ASTM 方法。在没有相关良好实验室做法数据时，也可以使用来自看似符合公认试验准则但却不缺乏良好试验室做法的数据。

A8.3.6.2.2 Pedersen 等人（1995 年）曾提出一个数据质量评分系统，与目前正在使用的许多其它系统是一致的，其中包括美国环保局在它的 AQUIRE 数据库中使用的系统。也可以参阅 Mensink 等人（1995 年）在讨论数据质量时提出的评分系统。Pedersen 等人描述的数据质量评分系统包括一个可靠性排序方法；它可以作为一个模型用于在统一制度办法下的分类。Pedersen 所描述的前三个数据级别可作为优先选用的数据使用。

A8.3.6.2.3 在统一制度下的分类数据应来自原始数据源。然而，由于许多国家和管理当局将利用全球统一制度进行分类，因此，在分类时应允许使用国家当局和专家组的审查结果，前提是这些审查结果是以原始数据为基础的。这样的审查结果应包括试验条件汇总，说明应足够详细，应达到能够据此判断证据权重并作出分类决定。也可以利用由公认的组织，如海事组织/粮农组织/教科文组织-海洋学委员会/气象组织/卫生组织/原子能机构/联合国/环境规划署海洋环境保护的科学方面联合专家组的审查结果，其中的原始数据是可以接受的。

A8.3.6.2.4 在没有经验试验数据的情况下，可以使用用于水生毒性的有效的定量结构活性关系（QSARs）。与 QSAR 预测数据相比，只要试验数据是有效的，就应该优先选用试验数据。

A8.4 降解

A8.4.1 导言

A8.4.1.1 可降解性是化学物质重要的固有特性之一，可据此确定它们对环境的潜在危害。非降解物质将在环境中长期存在，并有可能因此而对生物区造成长期的不利影响。相比之下，可降解物质可从下水管道、污水处理厂或环境中消除。

化学物质分类主要依据它们的固有特性。然而，降解度不仅取决于分子的固有顽抗特性，还取决于接收环境区间的实际条件，比如氧化还原电势、pH 值、存在合适的微生物、物质浓度，以及其它物质的存在和浓度。因此，在水生危险分类过程中对降解特性的解释，要求有一个详细的标准。该标准应能综合考虑物质的固有特性和占主导地位的环境条件，并将它们纳入针对潜在的长期负作用所做的结论性意见中。本章的目的是提供有机物质降解数据解释指导。指导是根据上述对水生环境物质降解所做的分析提出的。根据这一指导，提出了一个详细的判定方案，以便将现有降解数据用于分类目的。本指导文件中涉及的降解数据类型包括：迅速生物降解数据、在水中进行转换的模拟数据、水生沉淀物和土壤，以及用于估计水生环境中可快速降解能力的 BOD₅/COD 数据和技术。此外还考虑了厌氧性微生物降解、固有生物降解、污水处理厂模拟试验数据、诸如水解和光解一类的无生命转化数据，诸如挥发一类的消除过程，以及从现场调查和监测研究中得到的有关数据。

A8.4.1.2 第 1.2 章将降解一词定义为较大的有机分子分解为较小的分子，并最终分解为二氧化碳、水和无机盐。对于无机化合物和金属来说，用于有机化合物的可降解概念是受到限制的，或者没有什么意义。物质很有可能通过正常的环境过程进行转化，或者增加或者减小毒性物质的生存能力。因此，本章将只讨论有机物质和有机金属。来自水柱的环境分区将在第 A8.7 章讨论。

A8.4.1.3 有关一种物质的降解特性数据，可从标准化试验或其它各种研究结果中得到，或者根据分子结构作出估计。对这种用于分类目的降解数据所做的解释，通常要求对试验数据作出详细的评估。本章将给出指导，更详细的资料见描述现有方法（附件 A8.I）和水生环境影响因素（附件 A8.II）的两个段落。

A8.4.2 对可降解性数据的解释

A8.4.2.1 可快速降解性

化学物质的水生危险分类常常建立在有关其环境特性的现有数据的基础上。只有在很少的情况下，产生试验数据的主要目的是有助于分类。人们常常会得到各种各样的试验数据，但这些数据未必可直接用于分类标准。因此，需要给予指导，说明如何从水生危险分类的角度解释现有试验数据。根据统一标准，下面将给出指导，说明如何解释表示为水生环境中“快速降解”的三种类型的降解数据（见 A8.1.8, A8.1.9, A8.1.2.3.1 至 A8.2.3.3 和 3.10.2.10.3 段第 3 部分的定义）。

A8.4.2.2 迅速生物降解

A8.4.2.2.1 经合发组织试验准则 301（经合发组织 1992）给出了迅速生物降解的定义。在标准的经合发组织迅速生物降解试验或类似的试验中，所有降解到比过去更高一级水平的有机物质均应被视为具有迅速生物降解特性，因此也被认为是可以快速降解的。然而，许多文献给出的试验数据并没有具体说明所

有的试验条件，而这些条件却需要评价，以表明试验是否满足迅速生物降解试验要求。因此需要在这些数据用于分类目的之前，由对数据的有效性做出专家判断。然而，在对一种试验物质的迅速生物降解特性做出结论之前，至少应该考虑下列参数。

A8.4.2.2.2 试验物质浓度

在经合发组织迅速生物降解试验中，使用浓度相对较高的试验物质（2—100 mg/L）。然而，在这样高的浓度下，许多物质可能对接种体具有毒性作用，从而导致在试验中出现较为缓慢的降解现象，而这种物质在较低的非毒性浓度下却有可能出现快速降解。利用微生物进行的毒性试验（如经合发组织试验准则 209 “活性污泥呼吸抑制试验”、ISO 9509 氮化合抑制试验或 ISO 11348 发光细菌抑制试验），可以显示试验物质的毒性。如果抑制有可能是造成一种物质没有随时发生降解的原因，那么在具备利用较低的非毒性试验物质浓度所做的试验结果的情况下，应使用这种试验结果。在将这种试验结果用于快速降解物质分类标准时，应针对每一种具体情况分别考虑，即使在条件具备的情况下，最好使用利用环境允许的细菌生物量和非毒性低浓度试验物质所做的地表水降解试验数据。

A8.4.2.2.3 时间窗口

统一标准包括对在 10 天内达到过去水平的所有迅速生物降解试验的总体要求。这可能不符合经合发组织试验准则 310。该试验准则规定经合发组织迅速生物降解试验应设有一个为期 10 天的时间窗口，但 MITI I 试验（经合发组织试验准则 301C）除外。在封闭瓶试验（经合发组织试验准则 301D）中，如果在 10 天后还没有做完检测，则可采用一个为期 14 天的时间窗口。此外，人们常常只能获得有限的生物降解试验信息。因此，作为一种注重实效的方法，如果在 10 天的时间窗口没有获得信息，则在 28 天后得到的降解百分比数据可直接用于评估迅速生物降解。然而，只有对现有试验数据和不适用于 10 天时间窗口的试验所得到的数据，这才是可接受的。

A8.4.2.3 *BOD₅/COD*

只有当没有其它有关降解的检测数据可供使用时，方可将 5 天生化需氧量（*BOD₅*）信息用于分类目的。这样，应优先使用通过迅速生物降解试验和其它模拟研究得到的水生环境降解数据。*BOD₅* 试验是一种传统的生物降解试验，现已被迅速生物降解试验所替代。因此，今天不能再为评价物质的迅速生物降解特性而进行这样的试验。然而，在没有其它降解数据可供使用的情况下，仍可使用过去的试验数据。对于化学结构已知的物质，可以计算理论需氧量（*ThOD*），并应将计算结果代替化学需氧量（*COD*）来使用。

A8.4.2.4 其它令人信服的科学证据

A8.4.2.4.1 水生环境中的快速降解，也可以用第 3.10 章 3.10.2.10.3 节（a）和（b）段没有提到的其它数据来说明。这些数据可以是生物和/或非生物降解数据。只有在显示降解产物不能被定为水生环境有害产物，也就是它们不符合分类标准时，方可使用原始降解数据。

A8.4.2.4.2 要符合第 3.10 章第 3.10.2.10.3 段所述标准（C），要求物质在水生环境中，在 28 天试验期内，可降解到>70%的水平。如果假设为一级动力学——这是在绝大多数水生环境下最常见的低物质浓度

条件下的合理假设，则在 28 天试验期内，降解率将保持相对稳定。这样，当平均降解率常数 $k > -(\ln 0.3 - \ln 1) / 28 = 0.043 \text{ 天}^{-1}$ 的时候，将满足降解要求。这相当于降解半衰期 $t_{1/2} < \ln 2 / 0.043 = 16 \text{ 天}$ 。

A8.4.2.4.3 而且，由于降解过程随着温度的变化而变化，因此，在对环境中的降解过程作出评价时，也应当考虑这一参数。应使用来自在可以实际存在的环境温度下所做的试验研究的数据进行评价。当需要对比在不同温度条件下进行试验研究得到的数据时，可使用传统的 Q10 方法，也就是当温度降低 10°C 时，降解率减小一半。

A8.4.2.4.4 应针对具体情况，通过专家判断的方式，对满足这些标准的数据作出评估。然而，有关对有可能用于表明在水生环境中存在快速降解的不同类型的数据如何作出解释的指导，将在下面给出。一般说来，人们通常认为只有来自水生降解模拟试验的数据方可直接使用。然而，来自其它环境区域的模拟试验数据也可以考虑，但这些数据在使用之前，一般需要先作出更为科学的判断。

A8.4.2.4.5 水生模块试验

水生模拟试验是在试验室条件下进行的试验，但可以模拟环境条件，而且使用像接种体一类的天然样本。水生模拟试验结果可直接用于分类目的，如果试验是在模拟地表水中接近实际的环境条件下进行的，也就是：

- 物质浓度比较接近一般的水生环境（通常在低 $\mu\text{g/L}$ 范围内）；
- 来自相应水生环境的接种体；
- 比较接近实际的接种体浓度（ $10^3 - 10^6$ 细胞/mL）；
- 比较接近实际的温度（如 5°C 至 25°C）；而且
- 可确定最终降解率（如确定矿化率或总体生物降解路径中的个体降解率）

在 28 天，也就是在半衰期 < 16 天内，至少降解 70% 的试验物质，可被视为可快速降解物质。

A8.4.2.4.6 实地调查

与试验室模拟试验平行的是实地调查或 mesocosm 试验。在这种研究中，可以考察在环境或环境封闭域内的化学物质的正常演化过程和/或效应。来自这种试验的正常演化数据可用于评价快速降解潜力。然而，这常常是一件很困难的事，因为它要求能够显示最终的降解情况。这可以通过准备质量平衡的方式来证明。质量平衡应表明没有发现非降解中间产物，而且将馏分考虑进去。这种馏分是由于其它过程，比如对沉淀物的吸附或从水生环境中挥发等过程，从水生系统中分离出来的。

A8.4.2.4.7 监测数据

监测数据可能显示，存在从水生环境中去除污染物的现象。然而，这些数据很难用于分类目的。在使用这些数据时，应考虑以下几个方面：

- 这种去除是降解的结果，还是其它过程产生的结果，比如稀释或在环境区间之间的分布（吸附、挥发）？

- 非降解中间物的生成是否排除在外?

只有在可以显示，作为最终降解结果的去除满足快速降解标准时，方可认为这些数据可用于分类目的。一般来说，监测数据只能作为表明水生环境中的长期存在或者快速降解的支持证据使用。

A8.4.2.4.8 固有生物降解试验

在固有生物降解能力（经合发组织试验准则 302）试验中降解率超过 70%的物质，有可能出现最终生物降解。然而，由于在这些试验中具备最佳条件，因此不能假设具有可生物降解固有特性的物质可在环境中出现快速生物降解。固有生物降解试验的最佳条件刺激了微生物的适应性，从而与自然环

境相比，增加了出现生物降解的可能性。因此，这种有利的结果一般不能被解释为在环境中可快速降解的证据*。

A8.4.2.4.9 污水处理厂模拟试验

污水处理厂条件模拟试验（STP）（如经合发组织试验准则 303）得到的结果，不能用于评估在水生环境中的降解。其主要原因是，在水处理厂的微生物生物量与实际环境中的生物量有着明显的差别，这主要表现在物质的组成有显著的差异，而且在污水中存在的快速矿物化有机物质可通过共同新陈代谢作用，促进试验物质降解。

A8.4.2.4.10 土壤和沉淀物降解数据

有人认为，土壤和地表水中存在着许多有着或多或少大致相同降解率的非吸附（非亲脂性）物质。对于亲脂性物质来说，由于吸附而产生的局部固定作用，土壤中的降解率一般可能比水中的降解率低。因此，当一种物质已经表明在土壤模拟试验中可快速降解时，它很有可能也会在水生环境中快速降解。因此建议，只要通过试验确认可在土壤中快速降解，就足以证明当满足下列条件时，它也会在地表水中快速降解：

- 没有发生土壤微生物的预接触（预适应），而且
- 用于试验的物质浓度接近该物质在环境中的实际浓度，而且
- 物质在 28 天内出现最终降解，半衰期 < 16 天，对应降解率 > 0.043/天。

上述论点对于在水生条件下的沉淀物降解数据也同样有效。

* 关于相当于经合发组织关于慢性第 IV 类统一标准的降解数据的解释，欧盟物质的环境危害分类标准常设工作组正在讨论来自固有生物降解试验的某些类型的数据是否可在针对每一种具体情况进行评估时作为不对在其他方面满足下列标准的物质进行分类的基础：有关固有生物降解试验为 Zahn Wellens 试验（OECD TG 302 B）和 MITI II 试验（OECD TG 302 C）。在这种情况下使用条件应为：

(b) 试验方法不得使用预接触（预适应）微生物；

(c) 在每个试验中的自适应时间应有一定限制，试验终点指标应仅仅涉及矿化过程，通过水平和达到这些指标的时间应分别为：

- 在 14 天内，MITI II 通过水平 > 60 %；
- 在 7 天内，Zahn Wellens 试验 > 70 %。

A8.4.2.4.11 厌氧性微生物降解数据

有关厌氧性微生物降解的数据不能用于确定一种物质是否可被认定为可快速降解物质，因为人们通常认为水生环境是一种有氧环境，其中生活着一些水生微生物，比如像用于水生危险分类那样的微生物。

A8.4.2.4.12 水解

只有当 pH 值在 4—9 范围内确定的较长的半衰期 $t_{1/2}$ 小于 16 天时，方可认为水解数据（比如经合发组织试验准则 111）可用于分类目的。然而，水解并不是一种最终的降解，中间会形成一些不同的中间降解产物，其中一部分可能只是缓慢降解。只有当能够令人满意地证明，形成的水解产物并不能满足水生环境有害物质分类标准时，才可以考虑来自水解试验研究的数据。

当一种物质能够被快速水解时（比如 $t_{1/2}$ < 几天），这一过程将是在生物降解试验中确认的降解过程的一部分。水解可能是生物降解的初级转化过程。

A8.4.2.4.13 光化学降解

将有关光化学降解的信息（比如经合发组织，1997）用于分类目的是困难的。水生环境中的实际光化学降解率取决于当地条件（比如水深、悬浮固体物、混浊度），降解产物的危害性通常还不清楚。可能只有很少的情况下，才会有足够的信息对光化学降解进行全面评估。

A8.4.2.4.14 降解估计

A8.4.2.4.14.1 现已提出一些 QSAR 方法，用于粗略地预测水解半衰期。只有当没有现成的试验数据时，才可以考虑这些方法。然而，水解半衰期只能谨慎用于分类，因为水解并不涉及最终降解性（见本节“水解”）。此外，到目前为止所提出的 QSAR 方法的适用性存在着很大的限制，只能用于预测数量有限的化学品类型的水解潜力。比如，QSAR 程序 HYDROWIN（1.67 版，锡拉库扎研究公司），只能用于预测小于 1/5 具有规定（精确）分子结构的现有欧盟物质的水解潜力（Niemelä, 2000）。

A8.4.2.4.14.2 一般而言，目前还没有一种用于估算有机物质生物降解程度的定量估计方法（QSAR）能足够准确地预测快速降解。然而，这种方法得到的结果却可以用于预测一种物质不能快速降解。比如，在生物降解可能性程序（如 BIOWIN3.67 版，锡拉库扎研究公司）中，当线性或非线性方法估计的可能性 < 0.5 时，即可将这些物质视为不可快速降解物质（经合发组织，1994；Pedersen 等，1995 和 Langenberg 等，1996）。此外，还可使用其它一些（Q）SAR 方法以及专家判断，比如，当有现成的结构相似化合物的降解数据时，但这种判断应倍加谨慎。一般说来，在无有用的降解数据可供使用时，推断一种物质是不能快速降解物质的 QSAR 预测方法可用于分类目的，这比使用缺省分类办法要好一些。

A8.4.2.4.15 易挥发性

化学物质通过挥发可以从某些水生环境中去除。固有的挥发潜力可通过物质的亨利定律常数（H）确定。从水生环境中挥发的特性，在很大程度上取决于特定水体的环境条件，比如水深、气体交换系数（取决于风速和水流）和水体分层。由于挥发性只代表可从水相中去除化学物质，因此亨利定律常

数不能用于评估涉及水生危险分类的物质可降解性。然而，对于在环境温度下呈气体状态的物质等等，可以按此进行进一步的考虑（另见 Pedersen 等人，1995）。

A8.4.2.5 无降解数据

在没有有用的降解数据——通过试验确定的数据或者估计数据——可供使用的情况下，应视其为不可快速降解物质。

A8.4.3 一般的解释问题

A8.4.3.1 络合物

进行危害水生环境的化学物质分类的统一标准主要集中在单个物质上。某些类型的固有合成物质属于多组物质。它们一般属于自然起源，只是偶而才需要考虑。从矿物油或植物材料中产生或提取的化学物质可能就属于这种情况。从管理角度来看，这些复杂化学物质通常都被视为单一物质。在大多数情况下，在一定的碳链长度和/或置换度范围内，它们被定义为同源系列物质。在这种情况下，可以预见，在可降解方面没有显著的差异，而且可根据复杂化学物质试验结果，确定可降解度。当发现一种处于边缘状态的降解时，就会出现一种例外情况，因为在这种情况下，某些单个物质可能会快速降解，而其它物质不会快速降解。这就要求对复杂物质中的单一成分作出更为细致的评价。当非快速降解成分构成一种复杂物质的主要组成部分时（如超过 20%，或者对于有害成分而言，甚至更低一些），就应该将该物质视为不可快速降解物质。

A8.4.3.2 物质的可用性

A8.4.3.2.1 有机物质在环境中的降解，绝大部分发生在水生环境中，或者发生在土壤或沉淀物的水相中。当然，水解要求有水存在。微生物的活动取决于水的存在。此外，生物降解要求微生物直接与物质接触。因此，物质在包围着微生物的水相中的溶解，是细菌、真菌和基质之间最直接的接触途径。

A8.4.3.2.2 目前的研究化学物质可降解性的标准方法是针对易于溶解的试验物质制定的。然而，许多有机物质在水中只具有很小的溶解性。由于标准试验要求使用 2—100 mg/L 试验物质，因此，对于具有较低的水溶解能力的物质来说，很难达到足够的可用性。对于一些轻微溶解物质，可进行连续混合和/或增加接触时间的试验，或者采用特殊设计的试验，也就是试验中所用的试验物质浓度要低于水溶解度。

A8.4.3.3 试验时间小于 28 天

A8.4.3.3.1 有时有报告说，在标准中规定的 28 天试验期结束之前中止的试验中出现降解现象（如 MITI, 1992）。当降解大于或等于所得到的通过水平时，这些数据当然可以直接使用。当仅仅达到较低的降解水平时，在解释试验结果时，则应小心谨慎。其中一种可能是试验时间太短，化学结构很有可能在为期 28 天的生物降解试验中已经降解。如果在短时间内出现大量的降解现象，可将这种情况与标准 $BOD_5/COD \geq 0.5$ ，或者与在 10 天的时间窗口内的降解要求进行比较。在这种情况下，可认为该物质具有易降解特性（因此而具有快速降解特性），条件是：

- 最终生物降解率在 5 天内超过 50%；或者

- 在这段时间内的最终降解率常数大于 0.1/天，对应于半衰期 7 天。

A8.4.3.3.2 提出这些标准的目的是为了确保不会出现快速矿化现象，虽然试验是在 28 天试验期结束之前和达到通过水平之前结束的。在解释那些不符合规定的通过水平的试验数据时，必须特别小心。必须考虑低于通过水平的生物降解是否是因物质的部分降解而引起的，而不是一种完全矿化现象。如果对于所观察到的生物降解现象，部分降解是一种可能的解释，则应将该物质视为不能迅速生物降解物质。

A8.4.3.4 一次生物降解

在某些试验中，只能借助于，比如，试验物质特异性或群特异性化学分析方法，通过降解过程确认母体化合物（比如一次降解）消失。只有在能够令人满意地显示，所形成的降解产物并不满足水生环境有害物质分类标准时，才可用一次生物降解数据证明快速降解特性。

A8.4.3.5 甄别试验的矛盾结果

A8.4.3.5.1 当有更多的有关同一种物质的降解数据可供使用时，就有可能出现一些相互矛盾的结果。一般说来，已利用适当的生物降解试验方法经过多次试验的同一种物质，如果出现相互矛盾的结果，则可通过“证据权重方法”进行解释。这意味着，如果在对同一种物质进行的迅速生物降解试验中已经得到两种结果，即正结果（比如，降解率高于通过水平）和负结果时，则应将质量水平最高的数据和最好的记录用于确定该物质的迅速生物降解特性。然而，在科学质量良好，试验条件记录完整，即满足了准则标准（包括使用非预接触（非适应性）接种体）的情况下，应将迅速生物降解试验得到的正结果视为有效，而不管负结果如何。各种甄别试验中没有一个能够适合于所有类型的物质的试验，对于用一种不适合于特定物质的试验方法得到的试验结果，在确定是否可以它们之前，应先进行认真的评估。

A8.4.3.5.2 因此，有许多因素可以用来解释来自甄别试验的相互矛盾的生物降解数据：

- 接种体；
- 试验物质毒性；
- 试验条件；
- 试验物质溶解度；以及
- 试验物质挥发特性

A8.4.3.5.3 接种体对试验物质降解的适合性取决于是否存在符合要求的降解促进物及其数量的多少。当接种体取自前期已经与试验物质接触过的环境时，接种体可能已经适应环境，其证据是降解能力，这种接种体的降解能力大于来自非接触环境的接种体的降解能力。只要有可能，接种体就必须从未接触环境中采样。但对于某些物质来说，它们被无所不在地大量使用，并被或多或少地连续广泛释放。在这种情况下，这可能是困难的或者不可能的。当得到的结果相互矛盾时，应对接种体来源进行检查，以确认在微生物群体适应性方面存在的差异是否是产生这种现象的原因。

A8.4.3.5.4 如上所述，许多物质可能具有毒性，或者在迅速生物降解试验中，在相对较高的浓度下对接种体有抑制作用。特别是在经过改进的 MITI (I) 试验（经合发组织试验准则 301C）和压力计呼吸运动计量试验（经合发组织试验准则 301F）中，规定应采用较高的浓度（100 mg/L）。最低试验物质浓度在封闭瓶试验（经合发组织试验准则 301D）中有明确的规定，浓度为 2—10 mg/L。在对毒性效应的可能性

进行评估时，可在迅速生物降解试验中加入毒性控制，或者将试验浓度与微生物毒性试验数据进行比较，比如呼吸抑制试验（经合发组织试验准则 209）、硝化抵制试验（ISO 9509），以及在不具备其它微生物毒性试验的情况下采用的生物体发光抵制试验（ISO 11348）。如果发现试验结果相互矛盾，这可能是由于试验物质的毒性造成的。如果物质在接近自然环境的浓度下没有抑制作用，则可将甄别试验中最大的降解检测值作为分类依据使用。如果在这种情况下有模拟试验数据可供使用，考虑这些数据可能具有特别重要的意义，因为可能已经使用了物质的较低的非抑制浓度，从而可以更可靠地显示接近实际环境条件下的物质生物降解半衰期。

A8.4.3.5.5 当试验物质的溶解度低于试验规定浓度时，该参数将有可能成为实际降解检测值的限制因素。在这种情况下，应以采用试验物质最低浓度的试验结果为准，也就是通常进行的封闭瓶试验（经合发组织试验准则 301D）。一般说来，DOC 消沉试验（经合发组织试验准则 301A）和经过改进的经合发组织甄别试验（经合发组织试验准则 301E），不适用于不易溶解物质的生物降解试验（比如，经合发组织试验准则 301）。

A8.4.3.5.6 挥发性物质只能在像封闭瓶试验（经合发组织试验准则 301D）、MITI I 试验（经合发组织试验准则 301C）和压力计呼吸运动计量试验（经合发组织试验准则 301F）这样的封闭系统内进行试验。对于来自其它试验的结果则应作出认真评价，而且只能在能够证明（比如通过质量平衡估计法）试验物质的消失不是挥发的结果时，才能考虑它们。

A8.4.3.6 模拟试验数据的变化

某些高优先化学物质可能具有许多模拟试验数据。通常，这种数据可提供在环境介质，如土壤、沉淀物和/或地表水中的半衰期范围。从同一物质的模拟试验中观察到的半衰期差异可能反映了试验条件的差异。所有这些可能都与环境条件有关。分类时，应选择从这种试验中观察到的半衰期高端范围内合适的半衰期，办法是，采用证据权重方法并将现实主义思想和所做试验与环境条件有关的重要性考虑进去。一般来说，在评价水生环境中快速降解特性时，地表水模拟试验数据优先于水生沉淀物或土壤试验数据。

A8.4.4 判定方法

下列判定方法可作为一般指导，帮助确定水生环境中的快速降解特性和危害水生环境化学物质的分类。

一种化学物质可被认定为不能快速降解，除非至少满足下列条件之一：

- a) 物质显示出可在为期 28 天的迅速生物降解试验期内出现快速生物降解。试验的通过水平（70% DOC 消失或 60% 理论需氧量）必须在从生物降解开始之日算起 10 天内达到，如果能够根据现有试验数据对其作出评价的话。如果不能，则应在可能的情况下，按 14 天时间窗口评定通过水平；或者在试验结束以后；或者
- b) 物质显示出在地表水模拟试验中，可在半衰期 < 16 天内（对应于在 28 天内降解率 > 70%）出现最终降解；或者

- c) 物质显示出在水生环境中，可在半衰期 <16 天内（对应于在 28 天内降解率 $>70\%$ ）出现一次降解（生物或非生物降解），而且它可以显示，降解产物不满足水生环境有害物质分类标准。

在没有这些数据的情况下，如果证明下列条件之一成立，则可认为存在快速降解：

- d) 物质显示出在水生沉淀物或土壤模拟试验*中，可在半衰期 <16 天内（对应于在 28 天内降解率 $>70\%$ ）出现最终降解；或者
- e) 在只有 BOD_5 和 COD 数据的情况下， BOD_5/COD 比值大于或等于 0.5。同样的标准适用于试验时间少于 28 天的迅速生物降解试验，条件是半衰期 <7 天。

如果上述各种类型的数据都不具备，可将物质视为不可快速降解物质。这种判定可以至少满足下列条件之一来支持：

- (一) 物质在固有生物降解试验中被证明为不是固有的可降解物质；或者
- (二) 通过科学有效的 QSAR 方法，比如生物降解概率程序，预测到物质具有缓慢的生物降解特性，其快速降解分值（线性或非线性模型） <0.5 ；或者
- (三) 根据直接证据，比如，对结构类似物质的认识，将物质视为不能快速降解物质；或者
- (四) 没有其它降解数据可供使用。

* 模拟试验应反映实际环境条件，比如较低的化学物质浓度、接近实际的温度，以及使用先前没有接触过该化学品的环境微生物。

A8.5 生物积累

A.8.5.1 引言

A8.5.1.1 生物积累是化学物质重要的固有特性之一，这些固有特性决定着它对环境的潜在危害。一种物质在生物体内的生物积累本身不是危害，但生物浓度和生物积累会导致机体负担，而这可能会也可能不会导致毒性效应。在关于化学物质的人类健康和环境影响的统一综合分类制度中（经合发组织，1998），使用了“生物积累潜力”一词。然而，应该在生物降解和生物积累之间有一个明确的区分。此处的生物浓度被定义为一种物质通过以水为媒介的接触，而造成在生物体内吸收、转化和排除的最终结果；而生物积累则包含所有的接触途径（也就是通过空气、水、沉淀物/土壤和食物）。最后，生物放大定义为物质通过食物链而进行的积累和转化，这导致了在营养链高端生物体内浓度的增加（欧洲委员会，1996）。对于大多数有机化学物质来说，从水中（生物浓度）摄取被认为是一种最主要的摄取途径。只有那些具有较强疏水特性的物质，从食物中摄取才会成为一种重要途径。此外，统一分类标准使用生物浓缩系数（或辛醇/水分配系数）作为化学物质生物积累潜力的检测指标。由于这些原因，本指导文件只考虑生物浓度，而对于通过食物或其它途径的摄取则没有讨论。

A8.5.1.2 化学物质分类主要根据化学物质的固有特性。然而，生物浓度还取决于许多因素，比如生物药效率、试验生物体的生理特性、恒定接触浓度的保持、接触时间、目标生物体内的新陈代谢和生物体内排泄物等。因此，在化学品分类中，生物浓度潜力的解释，要求对物质的固有特性以及确定生物浓缩系数（BCF）时的环境条件作出评估。在这一指南为基础，目前已制订了一个将生物浓度或 $\log K_{ow}$ 数据用于分类目的的判定方法。本章的重点是有机物质和有机金属。金属物质的生物积累在 A8.7 章也有讨论。

A8.5.1.3 一种物质的生物浓度特性数据，可通过标准化试验获得，也可根据其分子结构作出估计。在解释这种用于分类目的的生物浓度数据时，通常要求对试验数据作出详细的评价。为便于进行这种评价，本文又附加了两个附录。这两个附录介绍了现有方法（附件 8 附录三）和影响生物浓度潜力的因素（附件 8 附录四）。最后，还开列了用来确定生物浓度和 K_{ow} 值的标准化试验方法清单（附件 8 附录五）和参考文献清单（附件 8 附录六）。

A8.5.2 生物浓缩数据的解释

A8.5.2.1 一种化学物质的环境危险分类，通常是根据它的现有环境特性数据确定的。只有在很少的情况下，产生试验数据的主要目的才是有助于分类。人们常常可以得到各种各样的试验数据，但它们并不一定满足分类标准。因此，需要给予指导，说明如何在危害分类中解释现有数据。

A8.5.2.2 一种有机物质的生物浓度，可通过生物浓度试验确定。在试验期间，BCF 将作为生物体内浓度的检测指标，用于与处于稳定状态的水中浓度，或者通过摄入率常数 (k_1) 和消除速度常数 (k_2)（OECD 305, 1996）得到的估计值进行比较。一般说来，一种有机物质积累生物浓度的潜力与物质的亲油性有很大关系。亲油性检测指标是 n-辛醇-水分配系数 (K_{ow})。对于亲脂性非离子有机物质来说，在进行最低新陈代谢或生物体内转化时，该系数与生物浓缩系数之间存在一定的关系。因此， K_{ow} 系数常常用于根据在 $\log BCF$ 和 $\log K_{ow}$ 之间的经验关系式，对有机物质的生物浓度作出估计。对于大多数有机物质来说，可用估计方法计算 K_{ow} 。因而，一种物质的生物浓度特性数据可以（一）通过试验确定，（二）

根据试验确定的 K_{ow} 系数作出估计，或者（三）根据利用定量结构活性关系得到的 K_{ow} 值作出估计。有关如何解释这些数据的指导，将在下面与需要特别注意的关于化学品种类评估的指导一并给出。

A8.5.2.3 生物浓缩系数（BCF）

A8.5.2.3.1 生物浓缩系数定义为化学物质在生物相中的浓度和在稳定状态的周围介质（这里为水）中的浓度重量比。因此，可在稳定状态条件下通过试验，根据检测到的浓度得到 BCF。然而，BCF 也可以作为一级摄取和消除速度常数之比，通过计算得到；这是一种不需要平衡条件的方法。

A8.5.2.3.2 用于通过试验确定鱼体内生物浓度的各种试验准则现已形成文件并受到采纳，其中应用最普遍的是经合发组织试验准则（经合发组织 305, 1996）。

A8.5.2.3.3 为分类目的，最好使用试验得到的高质量 BCF 值，因为这些数据优于替代数据，如 K_{ow} 。

A8.5.2.3.4 高质量数据定义为这样的数据，即关于所采用的试验方法的有效性标准得到了满足并具有说明；比如，保持恒定接触浓度、氧和温度波动情况，以及达到稳定状态条件的记录等等。如果能够提供适当的描述（比如，借助于良好试验室做法），便于从中确认有效性标准是否得到满足，即可将该试验视为高质量试验研究。此外，还必须采用适当的分析方法，用于对水中和鱼体内组织中的化学物质及其毒性代谢物进行定量分析（详见附录三第 1 部分）。

A8.5.2.3.5 如果 BCF 值质量低或者不可靠，将有可能提供虚假信息 and 过低的 BCF 值；比如使用了在鱼体内和水中的试验物质检测浓度，但这一检测结果是在只经历了很短的接触时间后进行的；而在这样短的时间内，还没有达到稳定状态条件（比较经合发组织 306, 1996 年，有关达到平衡状态的时间估计）。因此，在使用这些数据之前，应首先对它们进行谨慎评价，并应考虑使用 K_{ow} 值。

A8.5.2.3.6 如果没有涉及鱼类的 BCF 值可供使用，也可以使用其它物种的高质量 BCF 数据（如根据兰贻贝、牡蛎、扇贝确定的 BCF 值（ASTM E 1022-94））。应谨慎使用报告的微藻类 BCF 数据。

A8.5.2.3.7 对于高亲脂性物质，比如， $\log K_{ow}$ 值大于 6 的物质，试验得到的 BCF 值随着 $\log K_{ow}$ 值的增大而减小。对于这一非线性现象的概念性解释，主要指膜渗透动力的降低或者大分子生物油脂溶解度的减小。由此将会在生物体内出现较低的生物药效率和对这些物质的摄取。其它因素包括试验中的人为现象，比如，没有达到平衡、因水相中的有机物质吸收而导致生物药效率降低和分析误差等。因此，在评价高亲脂性物质的 BCF 试验数据的时候，需要特别谨慎，因为与具有较低亲脂性物质的 BCF 值相比，这些数据的不确定性高得多。

A8.5.2.3.8 不同试验物种的 BCF

A8.5.2.3.8.1 用于分类目的的 BCF 值建立在整个机体检测结果的基础上。如前所述，最佳分类数据是利用经合发组织 305 试验方法或国际通用的等效方法得到的 BCF 值。在这些方法中使用的是一些小鱼。由于与较大的生物体相比，较小的生物体具有较高的鳃表面与重量之比，所以对于较小生物体来说，它比较大生物体能够更快地达到稳定状态条件。因此，如果报告的 BCF 值仅仅建立在达到平衡状态的鱼体内和水中检测浓度的基础上，用于生物浓度试验的生物体（鱼）的大小，则要比摄取阶段所需时间更为重要。这样，如果在生物浓度试验研究中已经使用较大的鱼，比如成年鲑鱼，则应对摄取期是否足够长，能够确保达到稳定状态，或者能够准确确定动态摄入率常数作出评价。

A8.5.2.3.8.2 此外，在将现有数据用于分类时，从几种不同的鱼或其它水生生物种（比如蛤），以及从鱼的不同器官中得到 BCF 值，都是可能的。因此，要对这些数据进行相互比较并与标准进行比较，需要一个公认的基础或标准化方法。人们注意到，在一种鱼或一种水生生物中的脂类含量和观测到的 BCF 值之间有着密切的关系。因此，在对各种不同鱼的 BCF 值进行比较，或者将特定器官的 BCF 值转化为整个机体的 BCF 值时，通用方法是表示常见脂类含量的 BCF 值。如果（比如）在文献中查到整个机体的 BCF 值或特定器官的 BCF 值，第一步就要利用脂肪在鱼体内或某个器官内的相对含量，按脂类百分比%计算 BCF 值（比较有关试验物种典型脂肪含量的文献/试验准则）。在第二步，根据假定的常见缺省脂类含量，计算典型水生生物体（比如小鱼）整个机体内的 BCF 值。最常使用的缺省值为 5%（Pedersen 等人，1995），因为它代表着经合发组织 305（1996）中使用的小鱼的平均脂类含量。

A8.5.2.3.8.3 一般说来，这种以常见脂类含量表示的达到最高有效性的 BCF 值用于确定与统一分类标准 500 的 BCF 临界值有关的基于湿重的 BCF 值（见第 3.10 章，图 3.10.1）。

A8.5.2.3.9 放射性同位素示踪物质的使用

A8.5.2.3.9.1 使用放射性同位素示踪物质，可有助于对水和鱼的样本进行分析。然而，除非与特定的分析方法结合起来，总的放射性检测结果可潜在地反映母体以及可能出现的代谢物和变形碳存在。这些物质已经以有机分子的形式与鱼的组织融合在一起。因此，利用放射性同位素示踪的试验物质确定的 BCF 值，常常会被高估。

A8.5.2.3.9.2 在使用放射性同位素示踪物质时，最常见的是在分子的稳定部分做上标记。正是由于这个原因，检测得到的 BCF 值包含分子的 BCF 值。对于某些物质而言，正是一些代谢物最具毒性，而且容易出现最大的生物浓度。因此，母体以及代谢物的检测，对于这种物质的水生危害（包括生物浓度潜力）的解释具有重要的意义。

A8.5.2.3.9.3 在使用放射性同位素示踪物质进行的试验中，常常在鱼的胆囊中发现较高的放射性同位素标记浓度。对此的解释是，这是由于肝脏内的生物转化和接下来在胆囊内产生的代谢排泄物而造成的（Comotto 等人，1979；Wakabayashi 等人，1987；Goodrich 等人，1991；Toshima 等人，1992）。在鱼没有吃东西的时候，胆囊内的物质还没有被清空到肠道内，高浓度代谢物可能会在胆囊内积累起来。因此，喂养方式可能对检测到的 BCF 值有显著影响。在文献中，有许多试验研究采用放射性同位素示踪化合物，而且没有给鱼喂食。其结果是，在胆囊内发现高浓度放射性物质。在这些试验研究中，生物浓度在大多数情况下已经被高估。因此，在评价使用放射性同位素示踪化合物的试验时，有必要也对喂养方式作出评估。

A8.5.2.3.9.4 经合发组织准则 305（1996）强烈推荐，如果记录的以放射性同位素示踪残余物质表示的 BCF 值 ≥ 1000 ，则应针对诸如杀虫剂一类的物质，对代表着稳定状态下在鱼的组织中 $\geq 10\%$ 的总残留量的降解产物进行识别和定量分析。如果没有代谢物的识别和量化数据可供使用，生物浓度评估则应建立在经过放射性同位素标记的 BCF 检测值的基础上。对于较高的生物积累物质（BCF ≥ 500 ），如果只有建立在母体化合物和经过放射性同位素标记的检测结果上的 BCF 值，那么应将后者用于分类。

A8.5.2.4 辛醇-水分离系数 (K_{ow})

A8.5.2.4.1 对于有机物质来说,从试验中得到的高质量 K_{ow} 值,或者评述中予以评价并被冠以“推荐值”的参数值,应优先于其它 K_{ow} 确定值。在没有高质量试验数据可供使用的情况下, $\log K_{ow}$ 值的有效定量结构活性关系可用于分类过程。这种有效的 QSAR 可以在不修改议定标准的情况下使用,但前提是它们仅限于那些对其适用性作出充分描述的化学物质。对于像强酸和强碱一类的化学物质,以及与洗脱液或表面活性物质起反应的物质,应提供用 QSAR 估计出的 K_{ow} 值或建立在单个 *n*-辛醇和水溶解性基础上的估计值,而不是通过分析确定的 K_{ow} 值(欧洲联盟委员会 A.8, 1992; 经合发组织 117, 1989)。在对处于非离子状态的可电离物质(自由酸或自由碱)进行检测时,只能使用一种合适的缓冲剂,其 pH 值应低于自由酸的 pK 值,或者高于自由碱的 pK 值。

A8.5.2.4.2 K_{ow} 系数的试验确定

对于通过试验确定 K_{ow} 值,各种标准准则,比如经合发组织试验准则 107 (1995); 经合发组织试验准则 117 (1989); 欧洲联盟委员会 A.8 (1992); EPA-OTS (1982); EPA-FIFRA (1982); 美国试验材料学会 (1993); pH-公制方法(拟订之中的经合发组织试验准则),介绍了几种不同的方法,包括长颈瓶摇动法和 HPLC 方法。当 $\log K_{ow}$ 值在-2 至 4 范围内时,建议采用长颈瓶摇动法。长颈瓶摇动法只适用于经过提炼、可溶于水和 *n*-辛醇的纯净物质。对于可以缓慢溶解于水的高亲脂性物质,利用缓慢搅拌法得到的数据一般说来更为可靠。此外,由于在长颈瓶摇动试验过程中形成微乳而造成的试验困难,通过缓慢搅拌法可在一定程度上得到克服,因为此时水、辛醇和试验化合物可在轻轻搅拌的反应器内达到平衡。采用缓慢搅拌法(拟订之中的经合发组织试验准则)后,可准确和精确地确定化合物的 K_{ow} 值,允许 $\log K_{ow}$ 值达到 8.2(经合发组织准则草案, 1998)。至于长颈瓶摇动法和缓慢搅拌法,只适用于可溶于水和 *n*-辛醇的基本纯净物质。当 $\log K_{ow}$ 值在 0 至 6 范围内时,建议采用可在分析柱上进行的 HPLC 方法。与长颈瓶摇动法相比, HPLC 法对试验化合物中存在的杂质不那么敏感。检测 $\log K_{ow}$ 值的另一项技术是发生器柱法(美国环保局, 1985)。

由于通过试验方法确定 K_{ow} 值并不总是可能(比如对于极易溶解于水的物质、特别亲脂性物质和表面活性剂来说),所以也可使用通过 QSAR 得到的 K_{ow} 值。

A8.5.2.4.3 用 QSAR 确定 $\log K_{ow}$

当找到一个 K_{ow} 估计值时,必须考虑所采用的估计方法。目前已经并将继续推出许多 QSAR 方法,用于估计 K_{ow} 值。在没有试验得到的数据可供使用时,有 4 种可在市面上买到的 PC 程序(CLOGP、LOGKOW (KOWWIN)、AUTOLOGP、SPARC)被经常用于进行风险评估。CLOGP、LOGKOW 和 AUTOLOGP 程序基于集体贡献;而 SPARC 程序建立在更基本的化学结构运算法则的基础上。只有 SPARC 可通过一般方式用于无机或有机金属化合物。对于表面活性化合物、螯化化合物和混合物,需要采用特殊方法估计 $\log K_{ow}$ 值。美国环保局/欧洲联盟委员会关于确认 QSAR 估计方法的联合项目建议使用 CLOGP(美国环保局/欧洲联盟委员会, 1993)。Pedersen 等人(1995)建议将 CLOGP 和 LOGKOW 程序用于分类目的,因为它们具有运行可靠、可以购买、使用方便的特点。建议在分类时采用下列估计方法(表 A8.5.1)。

表 A8.5.1 用来估计 K_{ow} 值的建议 QSAR 方法

| 模型 | $\log K_{ow}$ 值范围 | 适用物质范围 |
|--------------------|---|---|
| CLOGP | 从 $\log K_{ow} < 0$ – 到 $\log K_{ow} > 9$ ¹ | 程序计算含有 C、H、N、O、Hal、P 和/或 S 的有机化合物的 $\log K_{ow}$ 值。 |
| LOGKOW (KOWWIN) | $-4 < \log K_{ow} < 8$ ² | 程序计算含有 C、H、N、O、Hal、Si、P、Se、Li、Na、K 和/或 Hg 的有机化合物的 $\log K_{ow}$ 值。某些表面活性剂（如脂肪醇乙氧基化物、染料和游离物质），也可通过这一程序预测。 |
| AUTOLOGP | $\log K_{ow} > 5$ | 程序计算含有 C、H、N、O、Hal、P 和 S 的有机化合物的 $\log K_{ow}$ 值。目前正在改进，以扩大 AUTOLOGP 程序的适用性。 |
| SPARC | 可通过 KOWWIN 和 CLOGP 程序对于 $\log K_{ow} > 5$ 的化合物提供改进结果 | SPARC 程序是一种基于化学热力学原理的机理模型，不是基于从观测数据获得的知识的确定性模型。因此，SPARC 不同于利用 QSAR（即 KOWWIN, CLOGP, AUTOLOGP）的模型，因为化学物质训练集无需 $\log K_{ow}$ 检测数据。只有 SPARC 程序可通过一般方式用于无机或有机金属化合物。 |

¹ 一项由 Niemelä 进行的确认研究表明（Niemelä 将试验确定的 $\log K_{ow}$ 值与估计值进行了比较），该程序可准确地预测相当数量的 $\log K_{ow}$ 值从 0 以下至 9 以上（ $n = 501$, $r^2 = 0.967$ ）的有机化学物质的 $\log K_{ow}$ 值（TemaNord 1995: 581）。

² 从 $\log K_{ow}$ 估计值和试验值（对 13058 种化合物进行了试验）分布图（锡拉库扎研究公司, 1999）上可以看到，LOGKOW 程序对于 $\log K_{ow}$ 值在 -4-8 范围的化合物是有效的。

A8.5.3 需要特别注意 BCF 和 K_{ow} 值的化学品类别

A8.5.3.1 某些物理-化学特性可使 BCF 的确定或其检测变得困难。这些可能是不以与它们的其它物理-化学特性（比如位阻）一样的方式形成生物浓缩的物质，也可能是使描述符不适当的物质，比如表面活性，它使检测值和 $\log K_{ow}$ 值的使用变得不适当。

A8.5.3.2 困难物质

A8.5.3.2.1 有些化学物质很难在水生系统中进行试验，为帮助对这些物质进行试验，现已制定出指导办法（环境部, 1996；欧洲生态毒理学和化学品毒理学中心, 1996；和美国环保局, 1996）。经合发组织目前正在对有关困难物质的水生试验指导文件进行最后的定稿（经合发组织, 2000）。经合发组织的这份文件是一个很好的信息源，也适用于生物浓缩研究，其内容涉及那些难以进行试验的物质类型，并给出所需的试验步骤，以确保能够从这些物质所做的试验中得出有效的结论。难以进行试验的物质可能是难以溶解、易挥发或由于光转化、水解、氧化或生物降解之类的过程而易于快速降解的物质。

A8.5.3.2.2 为使有机化合物产生生物浓缩，物质需要能够在油脂中溶解，存在于水中，并且能够穿过鱼鳃。改变这种有效性的特性将会因此而改变物质的实际生物浓度，使之与预测值之间出现一定的差异。比如，可迅速发生生物降解的物质，可能在水生环境中只能短时间存在。同样，挥发性和水解将使浓度降低，并缩短物质可供生物浓缩的时间。还有一个更重要的参数，那就是吸收，它有可能降低物质与微粒物质或一般表面的实际接触浓度。有许多物质已经表明，它们可在生物体内发生快速转变，从而导致

BCF 低于预期值。可形成微团或聚合体的物质，其生物浓缩程度可能要低于根据简单的物理-化学特性预测的水平。疏水物质也是这种情况，它包含在由于使用分散剂而形成的微团中。因此，建议不要在生物积累试验中使用分散剂。

A8.5.3.2.3 一般说来，对于难以进行试验的物质，建立在母体基础上的 BCF 和 K_{ow} 检测值是确定生物浓缩潜力的前提条件。此外，适当的试验浓度记录也是评价给定 BCF 值有效性的一个前提条件。

A8.5.3.3 不易溶解物质和络合物

应特别注意不易溶解物质。通常，这些物质的溶解性记录值低于检测极限值。这给生物浓度积累潜力的解释带来了一些困难。对于这样的物质，生物浓度积累潜力应建立在试验确定的 K_{ow} 值或根据 QSAR 的 $\log K_{ow}$ 估计值的基础上。

在多组分物质不能完全溶解于水的情况下，应尽可能识别混合物成分，并考察利用有关其组分的现有信息确定其生物积累潜力的可能性。当生物积累组分构成复杂物质的重要组成部分时（比如大于 20%，对于有害组分来说，含量值甚至更低），应将复杂物质视为生物积累物质。

A8.5.3.4 大分子量物质

当大于一定的分子尺寸时，物质的生物积累潜力会降低。这可能是由于这种物质通过鳃膜时的位阻造成的。目前已经有人建议，可采用分子量临界值 700（如欧洲委员会，1996）。然而，这一临界值遭到了批评，有人提出另外一个临界值 1000，以排除对可能具有间接水生影响的物质的考虑（CSTEE, 1999）。一般说来，应该考虑可能代谢物或大分子环境降解产物的生物浓度。因此，应对有关大分子量的分子生物浓度数据进行认真的评估。只有在认为这些数据对于母体化合物及其可能的代谢物和环境降解产物都是完全有效时，方可使用这些数据。

A8.5.3.5 表面活性剂

A8.5.3.5.1 这是一种含有亲脂性（最常见的是一种烷基链）和亲水性（头部基团）成分的物质。根据头部基团所带电荷，表面活性物质可进一步细分为阴离子、阳离子、非离子或两性表面活性物质。由于不同头部基团之间的差别，表面活性物质是一种结构上种类繁多的化合物。因为这种化合物是根据表面活性而不是根据化学结构定义的。因此，应根据不同的子类（阴离子、阳离子、非离子或两性物质）来考虑表面活性物质的生物积累潜力，而不是将它作为一个整体来考虑。表面活性物质可形成乳状物，在这种乳状物中很难确定生物药效率。微团的形成可导致生物药效率部分产生变化，即使在已经明显形成溶液的时候，从而给生物积累潜力的解释带来一些困难。

A8.5.3.5.2 试验得到的生物浓缩系数

表面活性物质的 BCF 检测值表明，BCF 值可能会随着烷基链长度的增加而增加，并可能依赖于头部基团的连接位置和其它结构特点。

A8.5.3.5.3 辛醇-水分配系数 (K_{ow})

由于乳状液的形成，表面活性物质的辛醇-水分配系数不能通过长颈瓶摇动法确定或缓慢搅拌法确定。此外，表面活性物质分子将几乎完全以离子态存在于水相中，而它们必须与反离子配对后，才能溶解于辛醇中。因此，试验确定的 K_{ow} 值不能描述离子化表面活性物质的特点（Tolls, 1998）。另一方

面，已经表明，阴离子和非离子表面活性物质的生物浓度会随着亲脂性的增加而增加（Tolls, 1998）。Tolls（1998）曾经阐明，对于某些表面活性物质来说，利用 LOGKOW 程序估计的 $\log K_{ow}$ 值可能代表生物积累潜力；但对于其它表面活性物质，则需要利用 Roberts（1989）提出的方法对 $\log K_{ow}$ 估计值进行“修正”。这些结果说明， $\log K_{ow}$ 估计值与生物浓度之间关系表达式的质量取决于所涉及的表面活性物质的种类和具体类型。因此，在基于 $\log K_{ow}$ 值进行生物浓度积累潜力分类时应谨慎。

A8.5.4 相互矛盾的数据和缺少数据

A8.5.4.1 相互矛盾的 BCF 数据

在同一种物质可得到多种 BCF 数据的情况下，有可能出现相互矛盾的结果。一般说来，对于一种物质，经过多次适当生物浓度试验得到的相互矛盾的结果，应利用“证据权重方法”作出解释。这意味着，如果一种物质通过试验确定的 BCF 数据是相互矛盾的，既 ≥ 500 又 < 500 ，那么应将质量最高、记录最好的数据用于确定该物质的生物浓度积累潜力。如果仍然存在矛盾，在可以得到，比如不同鱼类的高质量 BCF 数据的情况下，一般应将有效性最高的数据作为分类基础。

在可以得到同一物种和同一生命阶段的较大的数据组（4 或 4 个以上数值）时，BCF 的几何平均值可作为该物种具有代表性的 BCF 值使用。

A8.5.4.2 相互矛盾的 $\log K_{ow}$ 数据

在可以得到同一物质的多种 $\log K_{ow}$ 数据的情况下，有可能出现相互矛盾的结果。如果得到的同一种物质的 $\log K_{ow}$ 值既 ≥ 4 又 < 4 ，那么应将质量最高、记录最好的数据用于确定该物质的生物浓度积累潜力。如果仍然存在矛盾，则应优先选用有效性最高的数值。在这种情况下，可将用 QSAR 估计的 $\log K_{ow}$ 值作为指导。

A8.5.4.3 专家判断

如果没有试验确定的 BCF 或 $\log K_{ow}$ 数据，或者没有 $\log K_{ow}$ 预测值可供使用，水生环境中的生物浓度积累潜力则可通过专家判断作出评估。这可以建立在将该物质的分子结构与可以得到试验确定的生物浓度或 $\log K_{ow}$ 值或者 K_{ow} 预测值的其它物质的分子结构进行比较的基础上。

A8.5.5 判定方法

A8.5.5.1 现已根据上述讨论和结论制定了一种判定方法，它可能有助于判定一种物质对于水生物种是否具有生物浓度积累潜力。

A8.5.5.2 最好将试验得到的高质量 BCF 值用于分类目的。如果可以得到 $\log K_{ow}$ 数据的话，则不应将质量水平较低或无法确定的 BCF 值用于分类目的，因为它们有可能产生错误或太低的 BCF 值，比如，由于接触时间太短，致使稳定状态条件还没有达到。如果没有有关鱼类 BCF 数据可供使用，也可以使用其它物种（比如蚌类）的高质量 BCF 数据。

A8.5.5.3 对于有机物质来说，应优先使用试验得到的高质量 K_{ow} 值，或者在评述中作过评估并被冠以“推荐值”的数据。在没有高质量试验数据可供使用的情况下， $\log K_{ow}$ 值的有效定量结构活性关系可用

于分类目的。这种有效的 QSAR 可以在不修改分类标准的情况下使用，但前提是它们仅限于那些对其适用性作出充分描述的化学物质。对于像强酸和强碱、金属化合物和表面活性物质，应提供用 QSAR 估计的 K_{ow} 值，或者建立在单一 n-辛醇和水溶解性基础上的估计值，而不是通过分析确定的 K_{ow} 值。

A8.5.5.4 如果可以得到有关数据但数据没有得到证实，则应采用专家判断方法。

A8.5.5.5 因此，一种物质是否对水生生物具有生物浓度积累潜力，可根据下列方法判定：

有效/高质量的用试验确定的 BCF 值 → 是：

- $BCF \geq 500$ ：物质具有生物浓度积累潜力
- $BCF < 500$ ：物质不具有生物浓度积累潜力

有效/高质量的用试验确定 BCF 值 → 不是：

- 有效/高质量的试验确定的 $\log K_{ow}$ 值 → 是：
- $\log K_{ow} \geq 4$ ：物质具有生物浓度积累潜力
- $\log K_{ow} < 4$ ：物质不具有生物浓度积累潜力

有效/高质量的用试验确定的 BCF 值 → 不是：

- 有效/高质量的用试验确定的 $\log K_{ow}$ 值 → 不是：
- 利用有效的 QSAR 估计 $\log K_{ow}$ 值 → 是：
- $\log K_{ow} \geq 4$ ：物质具有生物浓度积累潜力
- $\log K_{ow} < 4$ ：物质不具有生物浓度积累潜力

A8.6 QSAR 的使用

A8.6.1 历史回顾

A8.6.1.1 水生毒性学中的定量结构活性关系 (QSAR) 可以追溯到 Overton 在苏黎士 (Lipnick, 1986) 和 Meyer 在马尔堡所做的工作 (Lipnick, 1989a)。他们的工作表明, 物质在蝌蚪和小鱼上生产麻醉作用的潜力, 与它们在橄榄油和水中检测到的分配系数呈正比。Overton 在他 1901 年发表的专著《麻醉研究》中假定, 这种相互关系反映了生物体内某一克分子点在一个标准克分子浓度或克分子体积上出现的毒性 (Lipnick, 1991a)。此外, 他还断定, 对于一种不同的生物体来说, 它对应于相同的浓度或体积, 而不论是从水中摄取还是通过气体吸入。这种相互关系在麻醉界被称为迈耶-欧弗顿规则。

A8.6.1.2 Corwin Hansch 和他的合作者在波莫纳学院提出将 n-辛醇/水用于标准隔离系统, 并发现这些分配系数具有一种辅助的结构性质, 可根据化学结构直接作出估计。此外, 他们还发现, 回归分析可用于导出 QSAR 模型, 并对所做发现提供一种统计分析功能。利用这种方法, 这些研究人员在 1972 年报告了 137 种形式为 $\log(1/C) = A \log K_{ow} + B$ 的 QSAR 模型。式中 K_{ow} 为 n-辛醇/水分配系数; C 为化学物质中对简单的非电解、无反应有机化合物对整个动物、器官、细胞, 甚至纯酶的作用, 产生一种标准生物反应的克分子浓度。5 个公式, 对应于 5 种简单的一元醇对 5 种鱼类的毒性作用, 几乎具有同样的斜率和截距, 它们事实上几乎与 Könemann 在 1981 年发现的公式完全相同。而后者似乎并不知道 Hansch 等人在前期所做的研究工作。Könemann 和其它研究人员已经证明, 这种简单的无反应、非电解质, 在急性鱼类毒性试验中完全受到麻醉机理的控制, 产生最小的或基线毒性 (Lipnick, 1989b)。

A8.6.2 导致危险低估的试验中的人为因素

A8.6.2.1 其它非电解质物质可能会比这种 QSAR 方法预测的结果具有更大的毒性, 而不是更小, 除非是试验中人为因素造成的结果。这种试验中的人为因素包括从化合物得到的数据, 比如, 在试验过程中容易产生挥发性的碳氢化合物以及疏水特性较强的疏水化合物。在对这种物质做急性试验时, 试验时间可能还不足以在水相 (玻璃缸试验溶液) 中的不同浓度之间达到稳定的平衡状态以及麻醉作用的内部疏水位点。描述这种简单的无反应、非电解物质的 QSAR $\log K_{ow}$ 与 $\log C$ 曲线显示一种线性关系, 只要在试验时间内能够建立这种平衡关系。除此以外, 还可以观察到一种双线性关系, 其中最具毒性的化学物质具有最大的 $\log K_{ow}$ 值。对于这种 $\log K_{ow}$ 值来说, 这种平衡关系已经建立起来 (Lipnick, 1995)。

A8.6.2.2 另一个试验问题是由水溶解度临界值造成的。如果产生效应所需的毒性浓度高于化合物的水溶解度, 则观察不到有什么效应, 即使在水的饱和状态。对于预测毒性浓度接近水溶解度的化合物, 如果试验时间没有长到能够达到隔离物质平衡状态的程度, 也不会表现出有什么效应。如果预测出现毒性的浓度超过临界微团浓度, 也会从表面活性物质中观察到类似的临界值。虽然这种化合物在单独进行试验的条件下可能显示没有毒性, 但它们对混合物的毒性贡献仍有可能存在。对于具有相同 $\log K_{ow}$ 值的化合物, 水溶解度的差异反映了与熔点有关的熔化热焓的差异。熔点是晶格稳定度的一种反映, 受到分子间氢键结合的控制, 缺少构象灵活性和对称性。一种化合物的晶格越是对称, 熔点越高 (Lipnick, 1990)。

A8.6.3 QSAR 模型问题

A8.6.3.1 选择一种合适的 QSAR 意味着，模型将为一种未经试验的化产品的毒性或生物药效率产生一个可靠的预测结果。一般说来，可靠性将随着化学结构复杂程度的增加而减小，除非已经得到一个 QSAR，可对一种与候选物质结构类型的化学物质给出狭义定义。从狭义定义的化学物质品种类得到的 QSAR 模型，通常用于药品开发，只要当一种新的先驱化合物一经鉴别，并且需要在结构上稍微进行改造，以获得最优活性（并降低毒性）。总之，目标是通过内插法而不是外推法作出估计。

A8.6.3.2 比如，如果有 96 小时的黑头呆鱼 LC50 试验数据可用于乙醇、n-丁醇、n-正己醇和 n-壬醇，就可有一定的信心为 n-丙醇和 n-戊醇作出终点预测。相比之下，如果要为甲醇作出这样的预测，却没有这样充足的信心，因为这属于一种外推法：甲醇的碳原子数量少于其它任何一种试验化学物质。事实上，这种同源物质的第一个成员的行为通常是最反常的，不能利用来自该系列中其它成员的数据进行预测。即使支链乙醇的毒性可以通过不合理的外推法得到，这将取决于所论物质的终点指标。这种外推将会变得不可靠，以至在特定终点指标上，毒性与代谢物的产生有关，而与母体化合物的特性相反。此外，如果毒性被一种特定的受体结合机理所调节，则在化学结构只出现微小变化，可能会观察到显著效应。

A8.6.3.3 最终决定这种预测有效性的是用于为一个特定的生物学目的而得到 QSAR 的化合物在普通分子机制作用下起作用的程度。在许多也可能是大多数情况下，QSAR 并不能代表这样的机理模型，而仅仅是一种相关模型而已。一个真正有效的机理模型必须来自一系列全部在普通分子机制作用下发挥作用的化学物质，并且适合于一个使用一个或多个参数的方程。这些参数与有关机理的一个或多个步骤之间有着直接的联系。这些参数或特性被普遍称为分子描述符。许多这种被普遍使用的分子描述符，可能并没有一种直接的物理解释，记住这一点十分重要。对于一个相关模型来说，数据的统计适应性很有可能比给定限制条件的机理适应性要低一些。对机理并不一定需要完全理解，但可以掌握足够的信息，以树立使用这种方法的信心。对于相关模型，预测的可靠性会随着每一个被定义范围的缩小而提高。比如像丙烯酸盐这类亲电体，它的反应度可能类似，而且可以仅靠建立在 $\log K_{ow}$ 参数基础上的模型，为一种“新的”化学物质作出毒性估计。

A8.6.3.4 作为一个例子，含有一个带有羟基（也就是丙烯基或炔丙基）功能，以共轭形式出现的双键或三键的伯醇和仲醇，比为相应的饱和化合物的 QSAR 预测的毒性更大。这种行为被归因为原亲电子机理，这种机理涉及由普遍存在的乙醇脱氢酶到相应的 α 、 β -不饱和醛和酮产生的代谢活化作用，这些不饱和醛和酮可通过 Michael 式接受体机理，起到亲电体的作用（Veith 等人，1989）。在存在乙醇脱氢酶抑制剂的情况下，这些化合物的行为像其它乙醇一样，不会表现出过大的毒性，这符合机理假设。

A8.6.3.5 在化合物的同源系列范围以外时，情况会很快变得更为复杂起来。比如简单的苯衍生物。可认为一系列氯苯物质类似于一个同源系列。三种同质异构二氯代苯的毒性可能没有太大的差别，因而建立在其中一种异构体试验数据基础上的氯苯的 QSAR 很可能是合适的。那么苯环上其它功能组的替代物又会怎样？与脂肪醇不同，在苯环上增加的羟基功能，可产生一种苯酚。由于所产生的负电荷具有共振稳定性，因此它不再是中性的，而变成一种可离子化的酸性化合物。由于这一原因，苯酚不再具有一种真正麻醉剂的作用。随着在苯酚中增加吸电子取代基（如氯原子），会出现一种向这些化合物转移的现象，其作用像氧化磷酸化解偶联剂（如 6-二硝基苯酚）。醛基的转换会通过亲电子机理，导致这种与氨基，比如产生希夫氏碱加合物的赖氨酸 ϵ -氨基反应的化合物毒性增加。同样，苯型氯化物的作用如同一种可与巯基形成共价加合物的亲电体。在对一种未经试验的化合物进行预测时，对这些物质和许多其它

官能团的化学反应特性，以及它们相互之间的交互作用，都应该进行仔细研究，并尽可能从化学文献中找到证据证明这一点（Lipnick, 1991b）。

A8.6.3.6 考虑到在利用 QSAR 进行预测时的这些限制，最好将它作为确定试验优先顺序的手段而不是作为试验替代手段使用，除非未试验化合物本身有一些机理方面的信息可供使用。事实上，在已知环境排放和环境接触的情况下仍无法作出预测，这本身就足以启动试验，或者为需要这种决定的一类化学物质制定新 QSAR。QSAR 模型可以通过对这样一组数据的统计分析得到，比如回归分析。最常用的分子描述符 $\log K_{ow}$ 可成为第一个尝试对象。

A8.6.3.7 相比之下，要根据 QSAR 模型得到一种机理，就需要作出对分子机理有所理解或作出工作假设，并确定哪个或哪些参数可用于模拟这些反应过程。重要的是应该记住，这与有关作用模式的假设是不同的，它与生物/生理反应有关，而与分子机理无关。

A8.6.4 在水生分类中使用 QSAR

A8.6.4.1 物质的下列固有特性与涉及水生环境的分类目的相关：

- 分配系数 n-辛醇-水 $\log K_{ow}$ ；
- 生物浓缩系数 BCF；
- 可降解性——非生物和生物降解；
- 对鱼、水蚤和海藻的急性水生毒性；
- 对鱼和水蚤的慢性毒性。

A8.6.4.2 试验数据总是优先于 QSAR 预测数据，但前提是试验数据是有效的，而且是利用 QSAR 方法填补数据缺口，以便进行分类。由于现有 QSAR 的可靠性和适用范围有着很大的差别，因此要预测每一个终点指标，应使用不同的限制条件。但是，如果试验化合物属于一种人们对 QSAR 模型的预测效用有一定信心的化学种类或结构类型（见以上），那就值得将这一预测结果与试验数据进行比较，因为利用这种方法来检验检测数据中某些试验人为因素（如挥发、试验时间未能达到平衡状态，以及水溶解度取舍值的选取）并非少见。这些人为因素常常会导致物质的分类低于其实际毒性。

A8.6.4.3 在有两个或多个 QSAR 模型都可以使用，或者看起来可以使用的情况下，将这些不同模型用同一种预测方式得到的预测结果与检测结果（如上面的讨论）进行比较，是一种有益的做法。如果在这些模型之间不存在什么差异，则预测结果有助于提高预测的有效性。当然，这也可能意味着，所有模型的开发都是建立在利用类似化合物，采用类似的统计方法得到的数据的基础上。另一方面，如果预测结果出入很大，则需要对这些结果做进一步的试验验证。此外，还会存在这样一种可能性，也就是没有哪一种方法可提供有效的预测结果。作为第一步，对用于得到每一种预测模型的化学物质结构和特性应该进行检验，以确定任何模型赖以建立的化学物质基础是否在上述两个方面都与需要预测的化学物质类似。如果一组数据含有这样一种用于构建模型的模拟量，则应对数据库中用于该化合物和模型预测的检测值进行试验验证。如果试验结果与总体模型十分吻合，它很有可能就是可供使用的最可靠的数据。同样，如果没有哪一种方法含有这种模拟量的试验数据，则建议对该化学物质进行试验。

A8.6.4.4 美国环保局最近在它的网站上发表了一份题为“HPV 挑战项目中化学品类别的制定”（Development of Chemical Categories in the HPV Challenge Program）的文件草案，提出利用化学品类别

“……针对美国的 HPV 清单上的所有化学品，自动编辑一种甄别信息数据组 (SIDS) …… (以提供) 对物理化学特性、环境命运以及化学物质对人类和环境的影响的初步评估所需的基本甄别数据” (美国环保局, 1999)。该清单包括 “……为制定《毒性物质控制法》1990 年存量更新规则 (IUR) 而报告的大约 2800 种 HPV 化学品”。

A8.6.4.5 目前正在提出的一种方法 “……在有科学理由的情况下…应该将有密切关系的化学物质作为一个群体或者一个类别来考虑，而不是作为单个化学物质对它们进行试验。在采用这种类别方法时，不需要为每一个 SIDS 终点指标，对每一种化学物质进行试验”。这种有限试验法是正确的，条件是 “……最终数据组必须允许其中一个通过内插法来评价未经试验的终点指标。所采用的内插法最好是在它们之间和类别成员之间进行插值”。建议书对定义这种类别和开发这种数据的过程作了说明。

A8.6.4.6 目前正在考虑的第三种数据敏感性较低的方法 (美国环保局, 2000a) 是 “……将 SAR 原理用于一种与一个或多个其特性已被清晰描述过的化学物质 (“类似物质”) 有密切关系的单个化学物质”。第三种推荐方法包括使用 “……一种类似物和类别组合方法…… (用于) 单个化学物质…… (类似于) 用于 ECOSAR (美国环保局, 2000b) 的 (化学物质)。这是一种建立在 SAR 基础上的计算机程序，可用于生成生态毒性值”。该文件还详细说明了在美国环保局新化学药品项目中使用 SAR 方法的历史，以及如何着手为采用这种 SAR 方法而收集数据和进行数据分析。

A8.6.4.7 北欧部长理事会发表了一份题为 “环境危险分类” 的报告 (Pederson 等人, 1995)，其中载有有关数据收集和解释的信息，以及标题为 “水溶解度和急性水生毒性的 QSAR 估计” 的一节内容 (5.2.8)。该节还讨论了物理化学特性的估计，其中包括 $\log K_{ow}$ 值。为了分类目的，建议用估计方法来预测 “……中性、有机、非反应和不可离子化化合物，比如乙醇、酮、乙醚、烃基和芳基卤化物” 的 “最小急性水生毒性，这种方法也可用于芳香烃、卤化芳香烃和脂肪族烃以及硫化物和二硫化物，” 正如经合发组织以前的一份指导文件所援引的那样 (经合发组织, 1995)。北欧的这份文件还包括其中一些方法的计算机应用程序磁盘。

A8.6.4.8 欧洲生态毒理学和化学品毒理学中心 (ECETOC) 出版了一份题为 “QSAR 在环境命运和化学物质影响评估中的应用” 的报告，描述了 QSAR 如何用于 “…检查数据有效性或填写数据空缺，用以确定优先次序、进行风险评估和分类” (欧洲生态毒理学和化学品毒理学中心, 1998)。文章描述了 QSAR 如何用于预测环境命运和水生毒性。报告指出，“所涉及的用于[终点指标的]连贯一致的数据集……[需要]有着明确规定的化学结构范围 (“域”) ……从中可以建立一个训练集。” 该文件还讨论了建立在模型基础上的机理的优点、统计方法在 QSAR 开发中的应用以及如何对 “异常值” 作出评估。

A8.6.4.9 辛醇-水-分配系数 (K_{ow})

A8.6.4.9.1 计算机计算方法，比如 CLOGP (美国环保局, 1999)、LOGKOW (美国环保局, 2000a) 和 SPARC (美国环保局, 2000b)，可用于根据物质的化学结构直接计算 $\log K_{ow}$ 值。CLOGP 和 LOGKOW 是建立在群贡献累加的基础上，而 SPARC 则是建立在更为基本的化学结构运算法则的基础上。在将计算值用于可在水中水解或发生其它化学反应的化合物时，应当小心谨慎，因为在解释这种易发生反应的化合物的水生毒性试验数据的时候，需要考虑到这些转变。只有 SPARC 可以普通方式用于无机或有机金属化合物。在估计表面活性化合物、螯合物和混合物的 $\log K_{ow}$ 或水生毒性时，则需要采用一些特殊方法。

A8.6.4.9.2 可以计算无论是呈离子化状态还是呈现非离子化 (中性) 状态的五氯苯酚和类似化合物的 $\log K_{ow}$ 值。对某些反应分子 (如三氯甲苯)，也有可能计算这些数值，但也需要考虑反应能力和后续的

水解。此外，对于这种可离子化的苯酚来说， pK_a 是第二个参数。在计算有机金属化合物 $\log K_{ow}$ 值的时候，可以使用特定模型，但在使用这些模型时应谨慎，因为有些这样的化合物在水中确实是以离子状态存在的。

A8.6.4.9.3 对于具有极高亲脂性的化合物来说，采用长颈瓶摇动法试验时，检测值可达到大约 6 至 6.5，在使用缓慢搅拌法试验时， $\log K_{ow}$ 值可向上扩展到 8 左右 (Bruijn 等人, 1989)。即使在这些方法所能覆盖的检测范围以外采用外推法计算，也可以认为是有效的。当然，应该时刻记住，如果 QSAR 毒性模型是建立在具有较低 $\log K_{ow}$ 值的化学物质基础上，预测本身也将成为一种外推法；事实上，人们知道，在生物浓度积累的情况下，与 $\log K_{ow}$ 值的关系将在高端数值区呈非线性关系。对于 $\log K_{ow}$ 值较低的化合物，群贡献也可以使用，但它对于危害评估目的来说并不是一种非常有用的方法，因为对于这些物质，特别是在 $\log K_{ow}$ 值呈负数的情况下，即使亲脂点能够出现分区，分区也很少，而且正如 Overton 报告的那样，这些物质会通过渗透效应产生毒性 (Lipnick, 1986)。

A8.6.4.10 生物浓缩系数 BCF

A8.6.4.10.1 如果可以得到通过试验方法确定的 BCF 值，应将这些数据用于分类目的。在检测生物浓度时，必须使用纯样，在水溶解度范围内的试验浓度上进行检测，而且要经历足够的试验时间，以使在水中和鱼体组织内的浓度达到稳态平衡。此外，在延长时间的生物浓度试验中，与 $\log K_{ow}$ 水平的关系应突然减小。在环境条件下，在从食物和水中摄取两方面的作用下，强亲脂性化学物质浓度会在生物体内不断积累，当 $\log K_{ow} \approx 6$ 时，将切换到食物摄取方式。否则， $\log K_{ow}$ 值可同 QSAR 模型一起用作有机化合物生物积累潜力的预测手段。与这些 QSAR 的偏差往往在一定程度上反映化学物质在鱼体内所进行的新陈代谢的差异。因此，某些化学物质，比如邻苯二甲酸盐，在生物体内的积累会显著低于预测值，原因就在于此。此外，在将 BCF 预测值与使用放射性同位素标记的化合物检测值进行比较时，应小心谨慎，因为此时所检测到的组织内浓度，可能代表着一种由母体化合物和代谢物或是共价键连接的母体或代谢物组成的混合物。

A8.6.4.10.2 最好使用通过试验得到的 $\log K_{ow}$ 值。然而，大于 5.5 的比较老的长颈瓶摇动法检测值不太可靠，在许多情况下，最好使用某些计算值平均数或利用缓慢搅拌法 (Bruijn 等人, 1989) 对这些数据进行重新检测。如果仍然有理由对检测数据持怀疑态度，则应使用 $\log K_{ow}$ 计算值。

A8.6.4.11 可降解性——非生物和生物降解

用于水相中非生物降解的 QSAR 被狭义地定义为描述和反映特定化学物质种类和机理的线性无关的能量关系式 (LFER)。比如，可以得到描述带有不同芳香环取代分子的苯型氯化物 (benzylic chlorides) 水解过程的 LFER。这种狭义定义的 LFER 模型往往非常可靠，如果能够得到有关取代分子的所需参数的话。光降解，也就是与紫外线反应而生成活性反应组分，可以通过外推法从估计值外推而得到，用于大气区间。如果这些非生物过程通常不能导致有机化合物的完全降解，通常可将它们作为明显的起点，也可以作为比率极限。用于计算生物降解的 QSAR，要么是针对具体化合物的 (经合发组织, 1995)，要么是像 BIODEG 程序一样的群贡献模型 (Hansch 和 Leo, 1995; Meylan 和 Howard 1995; Hilal 等人, 1994; Howard 等人, 1992; Boethling 等人, 1994; Howard 和 Meylan 1992; Loonen 等人, 1999)。但经过验证的化合物分类专用模型的应用范围非常有限，而群贡献模型的应用范围要宽得多，但也仅限于含有模型基本结构的化合物。确认研究显示，由目前可以得到的群贡献模型作出的生物降解预测，可

用于预测“不迅速生物降解”（Pedersen 等人, 1995; Langenberg 等人, 1996; 美国环保局, 1993）从而与水生危险分类“非快速降解”有关。

A8.6.4.12 鱼、水蚤和海藻的急性水生毒性

无反应、非水解有机化学物质的急性水生毒性（基线毒性）可很有把握地根据它们的 $\log K_{ow}$ 值预测，前提是没有检测到有亲电体、原亲电体或特殊的机理官能团（见以上）存在。但对于这种特定的毒性来说，仍然存在一些问题，为此必须以一种预期方式选择适当的 QSAR。由于目前还缺少简单明了的相关作用模型鉴定标准，所以在选择适用模型的时候，需要采用建立在经验基础上的专家判断方法。这样，如果使用的是一种不合适的 QSAR，将有可能导致相差几个数量级的预测错误，而就基线毒性来说，预测的毒性会偏小，而不是偏大。

A8.6.4.13 鱼和水蚤的慢性毒性

鱼和水蚤的慢性毒性计算值不得用于推翻建立在急性毒性试验数据基础上的分类结果。目前只有几种有效的模型可用于计算鱼和水蚤的长期毒性。这些模型仅仅建立在 $\log K_{ow}$ 相互关系的基础上，在用于无反应、非电解有机化合物的时候受到限制，不适用于长期接触条件下，具有特殊作用模式的化学物质。慢性毒性的可靠预测值取决于能否正确地辨别非特异性和特异性慢性毒性机理；否则，预测的毒性将会相差几个数量级。需要注意的是，虽然对于许多化合物来说，在慢性毒性试验中过大的毒性*与急性试验中过大的毒性之间存在一定的关系，但并不总是这样。

* 过剩毒性, $T_e = (\text{预计基线毒性}) / \text{检测到的毒性}$ 。

A8.7 金属和金属化合物分类

A8.7.1 引言

A8.7.1.1 化学物质统一分类制度是一种建立在危害基础上的制度，危害识别的基础是物质的水生毒性以及有关降解和生物积累行为的信息（经合发组织，1998）。由于本文件只涉及与给定物质有关的危害，当这种物质在水柱中溶解的时候，由这种危害源引起的接触会受到该物质在水中的溶解度和在水生环境中生活的物种生物药效率的限制。因此，金属和金属化合物的危险分类办法只限于，当有金属和金属化合物存在的时候（也就是溶解后呈金属离子状态，比如，当以 $M-NO_3$ 存在时，呈 M^+ 状态），由它们所引起的危害，而不考虑与没有在水柱中溶解，但仍可能具有生物药效的金属和金属化合物的接触，比如在食物中的金属。本章也不考虑下列金属化合物的非金属离子（比如 CN^- ），它们可能具有毒性，或者可能属于有机物质，并可能导致生物积累或持续危害。对于这些金属化合物，非金属离子的危害也必须考虑。

A8.7.1.2 在加入金属和/或金属化合物后，存在于溶液中的金属离子水平在很大程度上取决于下列两个过程：一是它的溶解程度，也就是它在水中的溶解度；二是它与介质发生反应形成水溶性物质的程度。在本指导中被称为“转化”的最后一过程的溶解率和溶解程度，在不同的化合物和金属自身之间可能出现很大差别，它们是确定合理的危险分类的重要因素。在可以得到转化数据的情况下，在决定分类时，应将它们考虑进去。附件 9 中给出了用于确定这一比率的协议。

A8.7.1.3 一般说来，人们认为，物质溶解比率与其固有毒性的确定无关。然而，对于金属和许多溶解性很差的无机金属化合物，要利用正常溶解技术使其完成溶解是如此困难，以致于溶解和转化这两个过程无法分辨。因此，在化合物的溶解性能非常差，采用正常溶解手段所能达到的溶解度水平都无法超过现有 $L(E)C_{50}$ 值的情况下，就必须考虑转化率和转化程度。转化将受到许多因素的影响，特别是与 pH 值、水的硬度、温度等有关的介质特性。除这些特性以外，其它因素，比如试验物质的微粒大小和比表面积，与介质接触时间的长短，当然还包括处于介质中的物质的负荷质量或表面积，都对确定水中溶解金属离子水平起一定的作用。因此，在一般情况下，只有在按照附件 9 中给出的标准协议进行分类时，方可认为转化数据是可靠的，能够用于分类目的。

A8.7.1.4 本协议的目的是对主要变量进行标准化，以使溶解离子水平与添加物质负荷之间存在直接关系。正是这种负荷水平可产生与现有 $L(E)C_{50}$ 相等的金属离子水平，然后用它来确定适用于分类目的的危险段。附件 9 详细介绍了试验方法。在使用来自试验协议的数据时所应采取的策略，以及制订策略时需要满足的数据要求，都将在下面讨论。

A8.7.1.5 在考虑能够快速溶解和很难溶解的金属和金属化合物分类的时候，有许多因素需要确认。正如在 3.10 章中定义的那样，“降解”一词指的是有机分子的分解。对于无机化合物和金属来说，很显然，正如已经考虑和在有机物质中使用的那样，降解概念的意义是有限的或者根本没有意义。更确切地说，物质可以通过正常的环境过程发生转化，或者增加或者减小毒性物种的生物药效率。同样， $\log K_{ow}$ 值不能被视为衡量积累潜力的一个指标。但是，一种物质或一种毒性代谢物/反应产物可能不会从环境中很快消失和/或者在生物体内积累起来的概念，同适用于有机物质一样，也适用于金属和金属化合物。

A8.7.1.6 可溶形态的物种形成可能受到 pH 值、水硬度和其它变量的影响，有可能产生具有更大或更小毒性的特殊形态的金属离子。此外，通过许多过程（比如矿化和隔离），可使金属离子从水柱中无法

得到。有时候，这些过程变化很快，甚至快到无法在评估慢性分认为它们与降解过程类似。然而，金属离子从水柱中分离出来进入其它环境介质，并不一定意味着它们不再具有生物药效，也不意味着这些金属将永远无法再得到。

A8.7.1.7 在范围十分广泛的环境相关条件下，通常无法得到反映一种金属离子从水柱中的分离程度，或者一种金属已经或能够转变形态，使之具有较小的毒性，或者成为无毒物质的程度方面的信息。因此，需要作出许多假设，以便帮助进行分类。如果现有数据表明与这些假设之间存在出入，还可以修改假设。在第一种情况下，可以假设，金属离子，一旦出现在水中，就不会从水柱中很快分离，因此，这些化合物不能满足标准。在此之下的是这样一个假设，虽然可以出现物种形成，但原物种仍将在环境相关条件下保存下来。如前所述，虽然不总是这样，但对于支持在 28 天试验过程中生物药效出现变化的任何现有证据，都应进行认真审查。金属和无机金属化合物的生物积累是一个复杂过程，在使用生物积累数据时应小心谨慎。生物积累标准的应用应针对具体情况加以考虑，同时还应充分考虑到所有的现有数据。

A8.7.1.8 还可作进一步的假设，这是一种谨慎做法，也就是，对于特定金属化合物，在没有任何溶解数据，不管是检测数据还是计算数据的情况下，该物质具有足够的溶解性，可在 $L(E)C_{50}$ 水平产生毒性，因此可按其它可溶解盐的分类办法进行分类。同样，情况显然并不总是这样，所以，生成一些合适的溶解数据不失为一种明智的做法。

A8.7.1.9 本章讨论的是金属和金属化合物。在这份指导文件里，金属和金属化合物具有如下一些特点，因此，有机金属化合物不在本章讨论范围之内。

- a) 金属， M^0 ，当处于基本状态时，不能溶解于水，但可以发生转化，形成可以得到的状态。这意味着，一种金属，当处于基本状态时，可与水或一种弱含水电解质发生反应，形成可溶阴离子或阳离子产物，而且在这一过程中，金属将被氧化，或者发生转化，从中性或零氧化状态转化到较高的状态；
- b) 在简单的金属化合物中，比如氧化物或硫化物，金属已经呈氧化状态存在，因此，当化合物进入水介质后，很有可能出现进一步的金属氧化现象。

然而，在氧化没有发生改变的时候，与介质之间发生的反应，可能会形成更容易溶解的形态。很难溶解的金属化合物可被认为是一种溶解产物可以进行计算，而且可以通过分解产生少量现有形态的金属。但是，应该承认，最终溶解浓度可能受到许多因素的影响，其中包括在转化/溶解试验过程中沉淀下来的某些金属化合物的溶解产物，比如氢氧化铝。

A8.7.2 水生毒性数据和溶解度数据在分类中的应用

A8.7.2.1 水生毒性数据的解释

A8.7.2.1.1 根据公认协议进行的水生毒性研究，在正常情况下应被视为有效，可用于分类目的。对于在为分类目的而评估水生毒性数据点时经常遇到的一般性问题，还应参考 A8.3 节。

A8.7.2.1.2 金属络合和物种形成

A8.7.2.1.2.1 溶液中特定金属的毒性，似乎主要取决于（但并不严格地仅限于）已溶解自由金属离子水平。包括碱度、离子强度和 pH 值在内的非生物因素，可能会以下列两种方法影响金属毒性：（一）通过影响水中金属的化学产物形成（并由此而影响生物药效）（二）通过影响生物组织对现有金属的摄取和结合。

A8.7.2.1.2.2 在物种形成具有重要意义的情况下，有可能模拟金属不同形态的浓度，包括很有可能产生毒性的金属形态。用于对接触浓度进行定量分析、能够区别一种试验物质的复杂和不复杂因素的方法，并不是总可用或经济。

A8.7.2.1.2.3 金属在试验介质和中性环境中经过配位形成的有机和无机配位体，可根据金属形成模型作出估计。金属形成模型（包括 pH 值、硬度、DOC 和无机物），比如 MINTEQA2（Brown 和 Allison, 1987）、WHAM（Tipping, 1994）和 CHESS（Santore 和 Driscoll, 1995），可用于计算金属离子的不复杂和复杂部分。做为一种选择，生物配位体模型（BLM），可计算在生物体水平上造成毒性效应的金属离子浓度。BLM 模型目前只对为数有限的一些金属、生物体和终点指标有效（Santore 和 Di Toro, 1999）。用于描述介质中的金属络合物的模型和公式，应始终明确报告，以便于将它们转化回到自然环境中（经合发组织，2000）。

A8.7.2.2 可溶解性数据的解释

A8.7.2.2.1 在考虑现有溶解性数据时，应评估它们是否有效和适用，能够用于识别金属化合物的危害。特别是，应该了解生成这些数据时的 pH 值情况。

A8.7.2.2.2 现有数据的评估

现有数据将具有下列三种形式。对于某些经过充分研究的金属，会有一些有关各种无机金属化合物的溶度和/或溶解性数据。也有可能将知道溶解性的 pH 值关系。然而，对于许多金属或金属化合物来说，很有可能出现这样的情况，即现有信息只是描述性信息，比如溶解性较差。遗憾的是，有关这些描述性词汇所指的溶解度范围的（一致）指导非常之少。在这些是唯一可得到的信息的情况下，或许有必要利用转化/溶解协议（附件 9）生成所需要的溶解度数据。

A8.7.2.2.3 评价金属化合物可溶解性的甄别试验

在没有可溶解性数据的情况下，一种建立在 24 小时高负荷率基础上的简单的可溶解性评价“甄别试验”法，可用于转化/溶解协议（附件 9）中所述的金属化合物。甄别试验的作用是识别那些或者分解或者快速转化的金属化合物。由于很难将它们与溶解形态区分开来，因此，可根据溶解离子浓度进行分类。在可以从转化和分解协议详细描述甄别试验中得到数据的情况下，应使用在试验的整个 pH 值范围内所得到的最大溶解度。如果无法得到在整个 pH 值范围内的数据，则应通过适当的热力学物质形成模型或其它适当方法，检查是否已实现这一最大溶解度（见 A8.7.2.1.2.3 段）。应该指出，这种试验只能用于金属化合物。

A8.7.2.2.4 评价金属和金属化合物溶解性的完全试验

这部分研究的第一步就是，如同甄别试验一样，对试验研究过程中的 pH 值进行评估。在一般情况下，应在使溶液中溶解的金属离子浓度达到最大值这一 pH 值条件下进行完全试验。在这种情况下，可根据为甄别试验给出的同一试验指导选择 pH 值。

根据来自完全试验的数据，有可能在 7 天后，为试验中采用的三种负荷（也就是 1 mg/L 为“小负荷”，10 mg/L 为“中等负荷”，100mg/L 为“大负荷”）中的每一种生成金属离子在溶液中的浓度值。如果试验的目的是为了评价一种物质的长期危害，则在合适的 pH 值条件下进行的小负荷试验，可以延长到 28 天。

A8.7.2.3 水生毒性数据与溶解性数据的比较

应通过比较水生毒性数据和溶解度数据，作出是否能对一种物质进行分类的决定。如果已经超过 L (E) C₅₀ 值，不论毒性和分解数据是否在同一 pH 值水平，而且如果只有现成数据，则可以对物质进行分类。如果可以得到其它溶解度数据，表明溶解浓度在整个 pH 值范围内均不会超过 L (E) C₅₀，则不能根据其溶解状态进行分类。这可能需要使用一些来自生态毒性试验或适用的生物药效率影响模型的补充数据。

A8.7.3 环境转变的评估

A8.7.3.1 从一种类型的金属到另一种类型金属的环境转变，并不构成适用于有机化合物那样的降解，而且可能增加或减少毒性物质的存在和它的生物药效率。然而，由于自然发生的地球化学过程造成的结果，金属离子可从水柱中分隔出来。尽管有关水柱滞留时间、水-沉淀物界面上的过程（比如沉淀和活化作用）数据相当广泛，但目前还没有加入到有意义的数据库中。然而，使用在上面 A8.7.1 节中讨论的原则和假设，有可能将这种方法也用于分类目的。

A8.7.3.2 这种评估很难对具体情况给出指导，通常要针对具体情况进行评估。然而，应考虑下列情况：

- 物种形成的改变，如果它们将成为非可用形式；但是，出现相反方向变化的可能性也应考虑；
- 转变为一种比正在考虑的金属化合物的溶解度低得多的金属化合物。

建议小心谨慎，见 A8.7.1.5 和 A8.7.1.6 段。

A8.7.4 生物积累

A8.7.4.1 当 log K_{ow} 是一个可准确预测某些类型的有机化合物，比如无极性有机物质的 BCF 预测值的时候，它当然对无机物质，比如有机金属化合物没有意义。

A8.7.4.2 金属的摄取和净化率机理是非常复杂多变的，目前还没有一种一般模型对它进行描述。因此，应根据分类标准，每次针对具体情况，通过专家判断，对金属在生物体内的积累作出评价。

A8.7.4.3 在 BCF 能够预示生物积累潜力的情况下，在解释金属和无机金属化合物的 BCF 检测值的时候，可能会有多种复杂因素。对于某些金属和无机金属化合物，水浓度和某些水生生物体内的 BCF 值之间呈负相关关系，此时在使用生物浓度数据的时候，应小心谨慎。对于生物体所必需的金属来说，则具

有特别重要的意义。生物体所必需金属，能够在需要这种金属的生物体内进行主动调节。由于生物体的营养需求可能高于环境浓度，因此，这种主动调节可导致出现较高的 BCF，与 BCF 和金属在水中的浓度呈一种负相关关系。在环境浓度比较低的情况下，较高的 BCF 可预期为一种摄取金属物质，以满足营养需求的自然结果，在这种情况下，可视为一种正常现象。此外，如果生物体调节内部浓度，则 BCF 检测值将会随着外部浓度的增加而降低。当外部浓度过高，以至于超过某一个阈值水平，或者抑制了调节机制时，将会对生物体产生有害影响。同样，一种金属可能是一种特殊生物体所必需的，但不一定也是其它生物体所必需的。因此，在某一种金属不是不可缺少的情况下，或者当一种必不可少的金属浓度高于营养水平时，应对生物浓度的积累潜力和环境问题给予特别的考虑。

A8.7.5 金属和金属化合物分类标准的应用

A8.7.5.1 金属和金属化合物分类办法介绍

A8.7.5.1.1 金属和金属化合物分类办法将在下面说明，并以图示形式汇总在图 A.8.7.1 中。在这种利用数据作出判定的分类办法中包括几个不同的阶段。制订分类办法的目的不是生成新数据。在没有有效数据可供使用的情况下，应使用所有的现有数据和专家判断方法。

在下面几节中，在涉及 $L(E)C_{50}$ 的地方，指的是用于选择金属或金属化合物分类群的数据点。

A8.7.5.1.2 在考虑金属化合物的 $L(E)C_{50}$ 数据时，重要的是确保用作分类理由的数据点应以所需分类的金属化合物分子量的形式表示。这被称为分子量修正。所以，大多数金属数据，比如，都以金属的 mg/L 形式表示，但这一值需要根据相应的金属化合物重量进行调整。因此：

$$L(E)C_{50} \text{ 金属化合物} = \text{金属的 } L(E)C_{50} \times (\text{金属化合物分子量/金属原子量})$$

NOEC 数据也需要根据相应的金属化合物重量进行调整。

A8.7.5.2 金属分类办法

A8.7.5.2.1 当我们所关心的金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值大于 100 mg/L 时，不需要在分类过程中进一步考虑这种金属。

A8.7.5.2.2 当我们所关心的金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值小于或等于 100 mg/L 时，必须考虑与这些离子能够从金属中产生的比率和程度有关的现有数据。这种数据若要有有效和有用，就必须是用转化/溶解协议（附件 9）获得的。

A8.7.5.2.3 在没有这些数据，也就是没有充分有效的明确数据表明将不会发生向金属离子转化时，应使用安全网分类（慢性 IV），因为已知的这些溶解形态的可分类毒性会引起充分的关注。

A8.7.5.2.4 在可以得到来自溶解协议的数据时，应按下列规则将这些结果用于协助分类：

A8.7.5.2.4.1 7 天转化试验

如果已溶解金属离子浓度在 7 天试验期后（也可以早一些），超过 $L(E)C_{50}$ 所示的浓度，应利用下列分类办法取代金属的缺省分类：

- (一) 如果已溶解金属离子浓度在低负荷率水平上大于或等于 $L(E)C_{50}$ ，应划分为急性第 I 类。也应划分为慢性第 I 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。
- (二) 如果已溶解金属离子浓度在中等负荷率水平上大于或等于 $L(E)C_{50}$ ，应划分为急性第 II 类。也应划分为慢性第 II 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。
- (三) 如果已溶解金属离子浓度在高负荷率水平上大于或等于 $L(E)C_{50}$ ，那么应划分为急性第 III 类。也应划分为慢性第 III 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。

A8.7.5.2.4.2 28 天转化试验

如果第 A8.7.5.2.4.1 段描述的分类过程导致划分为慢性第 I 类，则不需要作进一步的评估，因为金属的分类不会考虑任何进一步的信息。

在所有其它情况下，进一步的数据可能是通过溶解/转化试验得到的，以便显示分类结果是可以修改的。如果对于划分为慢性第 II、第 III 或第 IV 类的物质，已溶解金属离子浓度在低负荷率水平上，经过总计 28 天的试验期，低于或等于长期 NOEC 值，则分类结果应该取消。

A8.7.5.3 金属化合物分类办法

A8.7.5.3.1 当所关心的金属离子 $L(E)C_{50}$ 值大于 100mg/L 时，在分类过程中则不需要进一步考虑金属化合物。

A8.7.5.3.2 如果溶解度 $\geq L(E)C_{50}$ ，可根据可溶解离子进行分类。

A8.7.5.3.2.1 水溶解度（或者通过，比如 24 小时溶解甄别试验检测；或者通过，比如根据溶解产物估计）大于或等于溶解金属离子浓度的 $L(E)C_{50}$ 值的所有金属化合物，均可视为可迅速溶解的金属化合物。对于那些在溶解度检测条件可能与急性毒性检测条件有显著差别的情况下得到的溶解度检测值接近急性毒性值的化合物，应谨慎对待。在这种情况下，最好优先选用溶解度甄别试验结果。

A8.7.5.3.2.2 可迅速溶解的金属化合物应根据 $L(E)C_{50}$ 进行分类（可根据需要修正分子量）：

- (一) 如果已溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值大于或等于 1 mg/L，应划分为急性第 I 类。也应划分为慢性第 I 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累；
- (二) 如果已溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值大于 1 mg/L，但小于或等于 10 mg/L，则应划分为急性第 II 类。也应划分为慢性第 II 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累；
- (三) 如果已溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值大于 10 mg/L，则应划分为急性第 III 类。也应划分为慢性第 III 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。

A8.7.5.3.3 如果溶解度 $< L(E)C_{50}$ ，应按缺省种类慢性 IV 分类

A8.7.5.3.3.1 在分类标准中，将不易溶解金属化合物定义为已知溶解度（或者通过，比如 24 小时溶解甄别试验检测；或者通过，比如根据溶解产物估计）小于溶解金属离子的 L (E) C₅₀ 值的金属化合物。在不易溶解金属化合物的金属溶解形态的 L (E) C₅₀ 值小于或等于 100 mg/L 的情况下，在对该物质进行分类时，应使用不易溶解缺省安全网分类（慢性 IV）方法。

A8.7.5.3.3.2 7 天转化试验

对于利用缺省安全网分类办法分类的不易溶解金属化合物，也可以使用来自为期 7 天的转化/溶解试验的更为详细的数据。这些数据应包括在低、中和高负荷率下的转化水平。

如果已溶解金属离子浓度在 7 天试验期后（也可以早一些），超过 L (E) C₅₀ 所示的浓度，则应利用下列分类办法取代金属的缺省分类：

- （一） 如果已溶解金属离子浓度在低负荷率水平上大于或等于 L (E) C₅₀，应划分为急性第 I 类。也应划分为慢性第 I 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。
- （二） 如果已溶解金属离子浓度在中等负荷率水平上大于或等于 L (E) C₅₀，则应划分为急性第 II 类。也应划分为慢性第 II 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。
- （三） 如果已溶解金属离子浓度在高负荷率水平上大于或等于 L (E) C₅₀，则应划分为急性第 III 类。也应划分为慢性第 III 类，除非有证据表明能够从水柱中快速隔离，而且没有化学物质在生物体内积累。

A8.7.5.3.3.3 28 天转化试验

如果第 A8.7.5.3.3.2 段描述的分类过程导致划分为慢性第 I 类，则不需要作进一步的评估，因为金属化合物的分类不会考虑任何进一步的信息。

在所有其它情况下，进一步的数据可能是通过为期 28 天的溶解/转化试验得到的，以便显示分类结果是可以修改的。如果对于划分为慢性第 II、第 III 或第 IV 类的不易溶解金属化合物，已溶解金属离子浓度在低负荷率水平上，经过总计 28 天的试验期，低于或等于长期 NOEC 值，则分类结果应该取消。

A8.7.5.4 粒度和表面积

A8.7.5.4.1 粒度，或者还有表面积，是至关重要的参数，因为试验物质粒度或表面积出现的任何变化，都会在给定的时间窗口内使溶解的金属离子水平出现显著变化。因此，为做好转化试验，都要将粒度或表面积固定，以使比较性分类能够唯一地建立在负荷水平上。在一般情况下，在生成分类数据时，要使用市场上所能得到的最小的颗粒，以确定转化程度。有时也会出现这样的情况，认为所生成的有关某一特定金属粉末的数据，不适用于大块物质的分类。比如，在可以表明某一种试验粉末是一种结构上不同的物质（比如具有不同的结晶结构）而且/或者是通过特殊工艺生产的，不能从大块金属中得到的情况下，大块物质可根据更具代表性的粒度或表面积进行分类，只要能够得到这样的数据的话。粉末可根据生成的粉末数据单独分类。然而，在正常情况下，不能指望对同一种金属给出两个以上的分类建议。

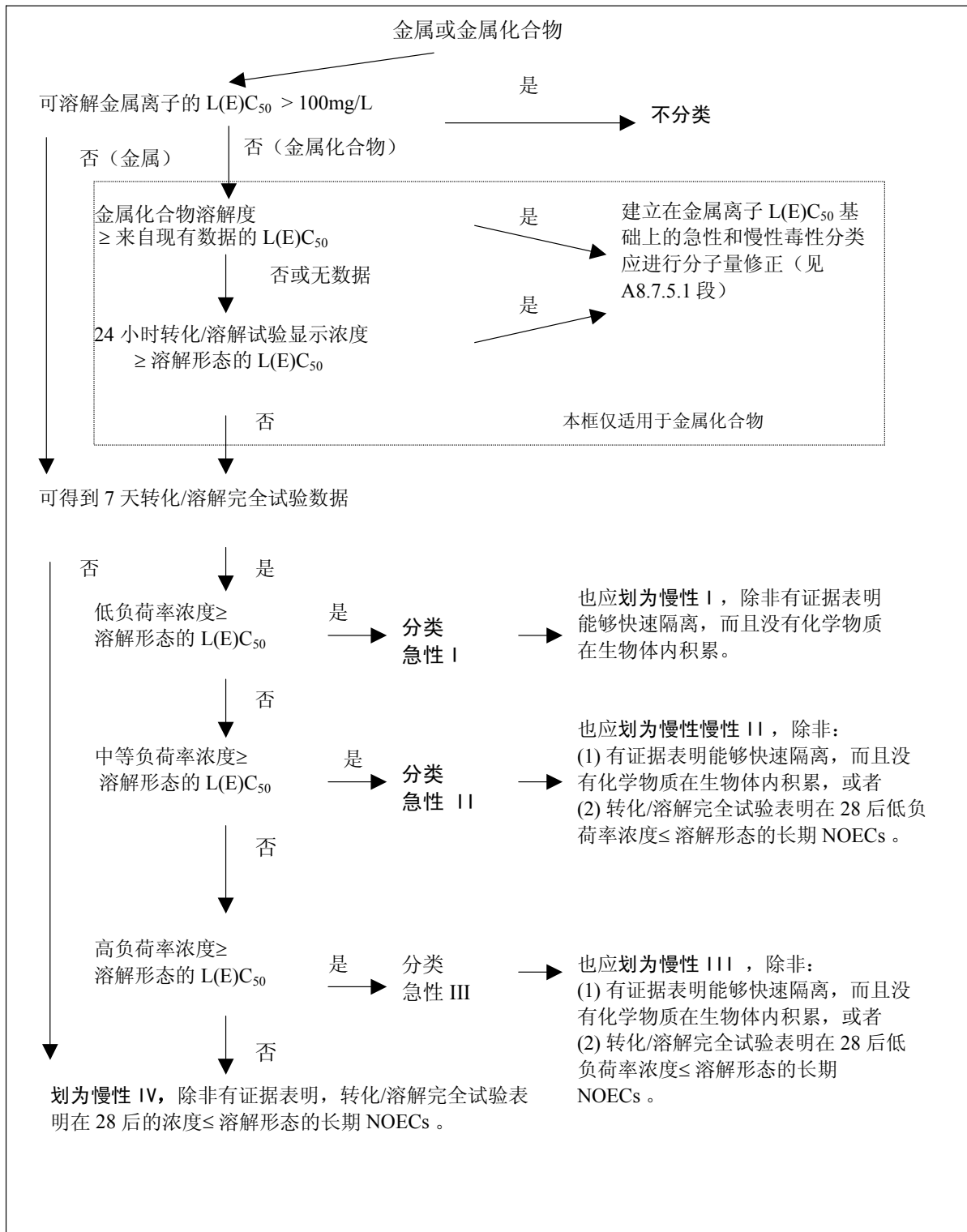
A8.7.5.4.2 对于粒度小于 1mm 缺省直径的金属，可针对具体情况单独进行试验。通过不同的工艺技术生产的金属粉末，或者粉末比块状物质呈现较高溶解率（或反应率），从而导致作出更严格的分类，就属于这种情况。

A8.7.5.4.3 下表给出取决于被评估物质的试验物质粒度：

| 类型 | 粒度 | 备注 |
|----------|---------------|--------------------------|
| 金属化合物 | 市场上出售的最小代表性粒度 | 从不大于 1 mm |
| 金属 - 粉末 | 市场上出售的最小代表性粒度 | 如果产生不同的结晶/形态特性，则需要考虑其它来源 |
| 金属 - 块状物 | 1 mm | 如果有充分的理由，可以改变缺省值。 |

A8.7.5.4.4 对于某些类型的金属，有可能利用转化/溶解协议（经合发组织 2001），得到规定时间间隔后的金属离子浓度之间的相关关系。试验中规定的时间间隔将随着类型试验表面负荷的变化而变化。在这种情况下，则有可能利用 Skeaff 等人（2000）推荐的临界表面积方法，对带有不同粒子的金属，估计其已溶解金属离子浓度水平（见附录六第 5 部分“金属和金属化合物”的参考文献）。也就是说，从这种相关关系和与适当毒性数据的联系中，或许可以确定向介质中释放 L (E) C₅₀ 的物质的临界表面积，然后再将临界表面积转化为用于危害识别的低、中、高质量负荷。当这种方法不能正常用于分类目的时，它也可以为标签和下游判定提供有用信息。

图 A8.7.1: 金属和金属化合物分类办法



附件 8

附录一

有机物质可降解性的确定

1. 有机物质可通过非生物或生物过程，或者两者的组合降解。目前有许多用于确定降解的标准方法或试验。下面将介绍其中一些方法的基本原则。本文不想对降解性试验方法做一个全面的综述，而只想将其中一些方法用于水生危险分类。

2. 非生物可降解性

2.1 非生物降解包括化学转化和光化学转化。通常，非生物转化将产生其它有机化合物，但不会导致完全矿化作用（Schwarzenbach 等人, 1993）。化学转化被定义为一种在没有光和生物体的媒介作用下发生的转化，而光化学转化则要求有光的参与。

2.2 在水生环境中发生的化学转化过程包括水解、亲核取代、消失、氧化和还原反应（Schwarzenbach 等人, 1993）。当然，水解常常被视为一种最重要的转化形式，现有国际上的试验准则一般也只有关于这种转化形式面的准则。化学物质的非生物降解试验常常采用在标准化条件下确定转化率的形式进行。

2.3 水解

2.3.1 水解是带有一种化学物质的亲核体（nucleophile） H_2O 或 OH^- 的反应。在这种化学物质中，一个（离开）的化学基与一个 OH 基交换。许多化合物，特别是酸的衍生物，容易受到水解的影响。水解既可以是无生命的，也可以是有生命的，但对于试验来说，则只考虑无生物水解。在不同的 pH 值，中性、酸性或碱性水解催化条件下，水解发生的机理各不相同，而且水解率的高低也会随着 pH 值而变化。

2.3.2 目前，一般有两种指导文件可用于评价无生物水解。其中在经合发组织试验准则 111 中，水解随着 pH 值的变化而变化（对应于 OPPTS 835.2110）；在 OPPTS 835.2130 中，水解随着 pH 值和温度的变化而变化。在经合发组织试验准则 111 中，可确定在纯缓冲水不同 pH 值条件下的总体水解率。试验应分为两部分。初步试验用于对水解率未知的化学物质进行试验；详细试验用于对人们已经知道其水解过程具有不稳定性或初步试验表明可快速水解的化学物质进行试验。在初步试验中，在 50°C 温度下的环境中通常可以检测的 pH 值范围内（ pH 值为 4, 7 和 9），在试验 5 天后，检测缓冲液中的化学物质浓度。如果化学物质浓度已经减小到 10% 以下，应认为该物质是水解稳定的，否则可考虑进行详细试验。在详细试验中，通过检测化学物质浓度随时间的变化，确定在三个 pH 值（4、7 和 9）水平上的总体水解率。水解率应在不同温度下分别确定，以便有可能根据环境温度通过内插法插值，或者外推。OPPTS 835.2130 试验在试验设计方面几乎与经合发组织试验准则 111 一样，其主要不同之处是对数据的处理。

2.3.3 应该注意的是，除水解以外，通过试验确定的水解率常数中包括其它所有可能在给定试验条件下在没有光照的情况下发生的非生物转化。现已发现，在自然条件和纯水条件下的水解率检测结果有在很大程度上相吻合（OPPTS 835.2110）。

2.4 光解作用

2.4.1 目前，还没有涉及水生环境光降解作用的经合发组织准则，但却有一份涉及水生环境直接光解作用的指导文件（经合发组织, 1997）。该指导文件的目的是为一份计划制订的准则奠定基础。根据该指导文件中给出的定义，水中化合物的光转化可呈现一次或二次光转化形式。其中一次光转化（光解）又可进一步细分为直接和间接光解。直接光转化（光解）是化学物质吸收光线并由于它们直接结果而发生转化的情况。间接转化是其它受激物质将能量、电子或 H-原子转变为化学物质从而导致转化（激活光解）的情况。二次光转化则是这样的情况：化学物质与反应短寿命物种之间发生化学反应，比如羟自由基、过氧自由基（peroxy radicals），或在有光照的情况下通过与受激物质，如受激腐殖酸或棕黄酸或硝酸盐反应而产生的单态氧。

2.4.2 目前涉及水中化学物质光转化的现有准则只有两个，那就是 OPPTS 835.2210 “日照作用下的水中直接光解率”和 OPPTS 835.5270 “间接光解甄别试验”。OPPTS 835.2210 试验采用分层法。在第 1 层中，最大直接光解率常数（最小半衰期），可根据检测得到的摩尔吸光系数计算。在第 2 层，可分为两个阶段。第 1 阶段，化学物质在日光照射作用下被光解，可得到一个近似的速率常数。在第 2 阶段，可利用一个能够定量测定实际照射到化学物质上的光照强度的曝光表，确定一个更为准确的速率常数。从检测参数中，要计算得到在不同温度下和不同纬度上的实际直接光降解率。这种降解率只能用于水体的最上层，比如在水面下 50cm 以内，而且只能用于饱和空气的纯水。很显然，这在实际环境中是不存在的。然而，利用包括自然水衰减率和其它有关参数的计算机计算程序，可将这些结果推广到其它环境条件下。

2.4.3 OPPTS 835.5270 甄别试验涉及含有腐殖质的水中的化学物质间接光解。试验原则是，在暴露于日光下的自然水中，检测得到的光转化率将包括直接和间接光转化，而只有直接光转化率才会在纯水中发生。因此，根据附件 8 指导文件所下的定义，在纯水中的直接光降解率和在自然水中的总体光降解率之差，是间接光解和二次光降解之和。在实际试验过程中，从市场上得到的腐殖质可用于配制含有腐殖质的人造水，以模拟自然水。应该注意的是，所确定的间接光转化率，只对决定这种转化率的季节和纬度有效，而不能将这些结果照搬到其它季节和纬度上。

3. 生物可降解性

3.1 下面仅对各种试验方法做一个概述。如需更详细的信息，可查阅内容丰富的经合发组织生物降解试验详细综述（OECD, 1995）。

3.2 迅速生物降解

3.2.1 现已有多个组织制订了用于确定有机物质迅速生物降解标准试验方法，其中包括经合发组织（经合发组织试验准则 301A-F）、欧盟（C.4 试验）、OPPTS（835.3110）和 ISO（9408, 9439, 10707）。

3.2.2 声速生物降解试验是一种有严格要求的试验，可为出现生物降解和环境适应提供有限的机会。试验应确保满足下列基本试验条件：

- 较高的试验物质浓度（2-100 mg/L）；
- 试验物质是唯一的碳和能源；

- 接种体浓度范围从低到中 (10^4 - 10^8 细胞/mL)；
- 不允许存在接种体的预适应；
- 28 天试验期 (MITI I 方法 (经合发组织试验准则 301C) 除外) 降解发生试验窗口为 10 天；
- 试验温度 $< 25\text{ }^\circ\text{C}$ ；并且
- 通过水平为 70% (DOC 去除) 或 60% (O_2 需氧量或 CO_2 产生量)，表示完整的矿化机理 (假设试验物质的残余碳参与构成不断增长的生物量)。

3.2.3 假设在迅速生物降解试验中得到的正结果表明，物质将在环境中快速降解 (经合发组织试验准则)。

3.2.4 传统的 BOD_5 试验 (比如 EU C.5 试验) 也可以表明一种物质是否能够迅速降解。在这种试验中，在为期 5 天的时间内，应将有关的生物化学需氧量与理论需氧量 (ThOD) 进行比较。如果无法得到理论需氧量，则应与化学需氧量 (COD) 比较。试验应在 5 天内完成，因此，建议的危害分类标准确定的 50% 的通过水平，低于迅速生物降解试验达到的水平。

3.2.5 海水中生物降解能力甄别试验 (经合发组织试验准则 306)，可被视为与迅速生物降解试验平行的海水试验。达到经合发组织试验准则 306 规定的通过水平 (也就是 $>70\%$ DOC 去除量或 >60 理论需氧量) 的物质，可被视为迅速生物降解物质，因为海水降解试验的降解潜力通常低于淡水试验结果。

3.3 固有生物降解

3.3.1 所设计的固有生物降解试验用于评价一种物质是否具有任何生物降解潜力。经合发组织试验准则 302A-C 试验、欧盟 C.9 和 C.12 试验，以及 ASTM E 1625-94 试验，都属于这类试验。

3.3.2 有助于评价固有生物降解潜力的基本试验条件包括：

- 试验物质应与接种体有一个较长的接触期，以便于在试验期内产生适应性；
- 有一个较高的微生物浓度；
- 达到一个有利的物质/生物量比例。

3.3.3 固有试验得到的正结果表明，试验物质不会在环境中不确定地存在下去，但不能假设会发生快速和完全生物降解。显示超过 70% 矿化作用的研究结果，表示存在发生最终生物降解的可能，大于 20% 的降解表示存在固有的一次生物降解，而小于 20% 的结果则表示物质将长久存在下去。这样，一个负结果将意味着，应假设存在非生物降解 (持续存在) (经合发组织试验准则)。

3.3.4 在许多固有生物降解试验中，只能检测到试验物质的消失。这样的结果仅仅表示存在一次生物降解，而不是一种完全矿化。因此，有可能会发现一些或多或少的持续降解产物。一种物质的一次降解并不表示在环境中的最终降解。

3.3.5 经合发组织固有生物降解试验的试验方法有很大的不同。特别是 MITI II 试验 (经合发组织试验准则 302C)，它采用的接种体浓度只比相应的 MITI I 迅速生物降解试验 (经合发组织试验准则 301C) 浓度高 3 倍。Zahn-Wellens 试验 (经合发组织试验准则 302B) 也是相对较“弱”的固有试验。然而，虽然与迅速生物降解试验相比，这些试验中的降解潜力并没有比前者强很多，但结果不能外推到迅速生物降解试验和水生环境条件。

3.4 水生模拟试验

3.4.1 水生模拟试验的目的是模拟在特定水生环境下的生物降解过程。作为标准水生环境降解模拟试验的一个实例，或许可提及采用地表水或地表水/沉淀悬浮液的 ISO/DS14592 长颈瓶摇动分批试验法（Nyholm 和 Toräng, 1999）、通过长颈瓶摇动衰减法进行的生物降解 ASTM E 1279—89（95）试验和类似的 OPPTS 835.3170 试验。这些试验方法通常被称为河流消沉试验。

3.4.2 确保水生环境条件模拟的试验特点：

- 将天然水（和沉淀物）样品用作接种体；并且
- 采用低浓度试验物质（1-100 $\mu\text{g/L}$ ），确保一级降解动力。

3.4.3 建议使用放射性同位素示踪试验化合物，因为这有助于确定最终降解。如果通过化学分析方法仅仅确定了试验物质消失，则只能确定一次可降解性。从降解动力学角度观察，可以得到降解率常数。由于试验物质浓度低，因此可假设一次降解动力将起主导作用。

3.4.4 也可以通过模拟沉淀物区域内的条件来进行天然沉淀物试验。此外，通过对样本进行消毒，可确定试验条件下的非生物降解。

3.5 STP 模拟试验

目前也有一些试验方法可用于模拟污水处理厂（STP）内的降解过程，比如经合发组织试验准则 303A “连接装置”（Coupled Unit）试验、ISO 11733 活性污泥模拟试验和欧盟 C.10 试验。最近，还有人提出一种新的采用低浓度有机污染物的模拟试验方法（Nyholm 等人, 1996）。

3.6 厌氧性降解

3.6.1 厌氧性生物降解试验方法可用于确定试验物质在厌氧条件下进行生物降解的固有潜力。ISO 11734: 1995（E）试验、ASTM E 1196-92 试验和 OPPTS 835.3400 试验都属于这种试验。

3.6.2 可在最长 8 周的试验中确定厌氧性微生物降解潜力。试验应满足下列条件：

- 在缺氧（最初为纯氮气氛）密封罐内进行试验；
- 使用经过浸渍的污泥；
- 试验温度保持在 35°C；并且
- 确定顶部空间压力（由 CO_2 和 CH_4 组成）。

3.6.3 可通过确定生成气体的方式确定最终降解。然而，也可以通过检测残余母体的方式确定一次降解。

3.7 土壤和沉淀物中的降解

3.7.1 由于许多化学物质最终进入土壤或沉淀层内，因此，对它们在这些环境中的降解作出评估具有重要的意义。在标准方法中，或许有必要提及关于土壤中固有生物降解的经合发组织试验准则 304A 试验。该试验相当于 OPPTS 835.3300 试验。

3.7.2 确保能够确定在土壤中的可降解性的特殊试验特点为：

- 采用天然土壤样本，无需额外接种；
- 采用放射性同位素示踪试验物质；而且
- 可确定放射性同位素标记的 CO₂ 变化过程。

3.7.3 确定在沉淀物中的生物降解的标准方法是 OPPTS 835.3180 “沉淀物/水试验生态系统生物降解试验”。包括沉淀物和水试验生态系统，可从试验现场收集，并在系统中加入试验化合物。母体化合物（比如一次生物降解产物）的消失，如果可行，还包括代谢物的生成或最终生物降解产物的测量，都是有可能的。

3.7.4 目前，正在分别起草两个新的关于在土壤（经合发组织试验准则, 1999a）和水生沉积系统（经合发组织试验准则 1999b）中的需氧和厌氧转化的经合发组织准则。试验的目的就是确定在包括试验物质的实际浓度在内的接近实际环境的条件下，试验物质的转化率、形成实质和比率，以及转化产物的减少量。可根据用于确定试验物质转化率的分析方法确定完全矿化或一次降解。

3.8 生物降解估计方法

3.8.1 最近几年提出了对化学物质环境特性作出估计的可能性，其中也包括用于预测有机物质的生物降解潜力的一些方法（比如，锡拉库扎研究公司开发的生物降解概率计算程序 BIOWIN）。经合发组织（1993）和 Langenberg 等人（1996）曾就各种方法发表过评论文章。他们认为，群贡献法（group contribution methods）看起来是最成功的方法，而其中，生物降解概率计算程序（BIOWIN）的适用似乎最广泛。它给出在存在环境微生物混合种群的情况下的缓慢或快速生物降解定量估计。美国环保局/欧洲联盟委员会（Q）SARs 联合评估项目（经合发组织，1994）和 Pedersen 等人（1995），已对该程序的适用性作出过评估。下面将对后者做一个简要介绍。

3.8.2 来自 MITI（1992）的数据中，选择了一组用试验方法确定的生物降解数据确认组，但其中不包括无法得到准确降解数据和已经用于程序开发的那些物质。确认组包括 304 种物质。这些物质的生物降解特性是通过程序中的非线性估计方法（最可靠）估计得出的，然后，将估计结果与检测数据进行了比较。根据预测，162 种物质可“快速”降解，但实际上只有 41 种物质（25%）在 MITI I 试验中显示出迅速降解特性。根据预测，142 种物质可“缓慢”降解，这得到了 138 种（97%）物质的证实，这些物质在 MITI I 试验中显示不具有迅速降解特性。因此断定，只有在无法得到试验降解数据和这种程序预测一种物质为“缓慢”降解物质时，才可将该程序用于分类。在这种情况下，应将该物质视为不能快速降解物质。

3.8.3 美国环保局/欧洲联盟委员会（Q）SARs 联合评估项目利用欧盟通报的有关新物质的试验和 QSAR 数据，也得出了同样的结论。评估是根据对 115 种新物质的 QSAR 预测分析进行的。这 115 种新物质也在迅速生物降解试验中进行过试验。在这一分析中，只有 9 种物质可以迅速发生生物降解。美国环保局/欧洲联盟委员会联合项目的最后报告（经合发组织，1994）中并充分描述所采用的 QSAR 方法，但其中的大多数预测很可能是利用以后被纳入生物降解概率计算程序中的那些方法得出的。

3.8.4 此外，欧盟 TGD（欧人体, 1996）建议在使用通过生物降解概率计算程序估计出的生物降解特性时要保守，也就是说，当程序预测结果为可快速生物降解时，不能考虑这一结果，而当程序预测可缓慢生物降解时，方可予以考虑（欧洲联盟委员会, 1996）。

3.8.5 因此，以保守方式使用生物降解概述计算程序的预测结果，可以满足没有试验降解数据可供使用的许多物质中的某些物质的生物降解评价需要。

附件 8

附录二

影响水生环境可降解性的因素

1. 引言

1.1 经合发组织分类标准仅仅考虑对水生环境的危害。然而，危险分类的主要依据是通过在试验室条件下进行的试验得到的数据，而其中只有很少一部分试验与环境条件类似。因此，应考虑如何解释用于预测水生环境危害的试验室试验数据的问题。

1.2 经合发组织生物降解试验详细综述文件（经合发组织, 1995）对如何解释有机物质生物降解试验结果进行了考虑。

1.3 环境条件与标准试验系统中的条件通常有很大不同，因此，在通过外推法将试验室试验得到的降解数据用于自然环境时会遇到一些困难。在这些条件差异中，下列差异会对降解性产生显著影响：

- 与生物体有关的因素（存在能够发挥作用的微生物）；
- 与基质有关的因素（基质浓度和其它基质的存在）；以及
- 与环境有关的因素（物理-化学条件、营养物质的存在、物质的生物利用率）。

下面将对这些问题进行进一步的讨论。

2. 存在能够发挥作用的微生物

2.1 水生环境中的生物降解取决于水生环境中存在数量足够的能够发挥作用的微生物。自然微生物群落包括变化差异极大的各种微生物，当出现达到足够高的浓度的一种“新”物质时，生物量可能发生自适应，使这种新物质发生降解。通常，微生物群体的自适应是由特定降解成分的增长导致的。这种降解成分天生就具有物质降解能力。然而，还有一些其它过程也会参与降解，比如酶诱导、遗传物质交换和耐受性的形成等。

2.2 自适应发生在“迟延”阶段，这是从开始接触到开始出现显著降解的一段时间。看起来很明显，迟延阶段的长短将取决于最初存在的能够发挥作用的降解成分。这又取决于微生物群体的历史，也就是这些群体是否在以前曾经与这些物质有过接触。这意味着，如果一种异型生物物质已经使用多年并已四处释放，那发现能够发挥作用的降解成分的可能性就会增加。特别是在接受这些放散物的环境中，比如在生物污染处理厂内，更是如此。与使用来自未污染水中的接种体的试验相比，使用来自被污染水中的接种体的试验更容易得到一致的降解结果（经合发组织, 1995；Nyholm 和 Ingerslev, 1997）。

2.3 有许多因素决定水生环境中的自适应潜力是否与试验室中的自适应潜力具有可比性。除其它各种因此以外，自适应能力还取决于：

- 在生物量中能够发挥作用的降解成分的初始数量（部分和数量）；
- 存在附着表面；
- 基质的浓度和活性，以及
- 其它基质的存在。

2.4 迟延期长短取决于能够发挥作用的降解成分的初始数量，对于毒性物质来说，还包括这些物质的生存和再生。在迅速生物降解标准试验中，接种体的采样来自污水处理厂。由于污染物负荷通常高于自然环境条件，因此降解成分的系数和数量，都有可能高于受到污染较小的水生自然环境。然而，又很难估计，由于能够发挥作用的降解成分的初始数量可能要低，水生环境中的迟延期会比试验室试验条件下的迟延期长多少。

2.5 在很长一段时间内，能够发挥作用的降解成分的初始浓度并没有那么重要，因为当合适的基质达到足够的浓度时，它们将会不断生长。然而，如果人们关心的是在短时间内发生的降解，则应考虑能够发挥作用的降解微生物的初始浓度（Scow, 1982）。

2.6 棉絮、聚集体和附着微生物的存在，也会通过，比如带有微生物团的微生物生态位（microbial niches）的发展，增强其自适应性。当考虑在污水处理厂、沉淀层和土壤等各种不同的环境条件下的自适应能力时，这一点具有重要的意义。然而，微生物在迅速生物降解试验和水生环境中的总数，具有同样的数量级（在迅速生物降解试验中为 $10^4 \cdot 10^8$ 细胞/mL；在地表水中为 $10^3 \cdot 10^6$ 细胞/mL 或更多（Scow, 1982））。因此，这一因素可能不那么重要。

2.7 在讨论向环境条件外推时，可能需要区别贫营养和富营养环境。在贫营养条件下生长的微生物能够在较低的浓度下（mg C/L 系数）使有机基质矿化，而且它们通常对基质有较大的亲合力，但与富营养环境下生长的微生物相比，它们的生长率低，生命周期长（经合发组织, 1995）。此外，贫营养微生物不仅不能在浓度高于 1 mg/L 的条件下降解化学物质，甚至在高浓度条件会受到抑制。与此相反，富营养微生物则要求在矿化开始之前达到较高的基质浓度，而且与贫营养微生物相比，它们可以在较高的浓度下生存。因此，较低的水生环境降解阈值极限，将取决于微生物群体是贫营养还是富营养群体。然而，目前还不清楚贫营养和富营养微生物是两个不同物种，还是仅以贫营养和富营养方式生长的同一种微生物（经合发组织, 1995）。由于大多数污染物质是通过污水排放直接进入水生环境中的，因此，这些受体大多是富营养的。

2.8 从上面的讨论中，或许可以得出如下结论：在接触较多的环境条件下，比如，在不断接受各种物质的环境中（与小批量生产化学物质相比，在大批量生产化学物质条件下出现的次数更多），能够发挥作用的降解成分存在的机率最大。这些环境常常是富营养环境，因此，降解过程可能要求在开始降解之前达到相对较高的物质浓度。另一方面，在纯净水中，能够发挥作用的物质可能很少，特别是能够使化学物质降解的、仅作为小批量生产化学物质偶而排放的物质。

3. 与基质有关的因素

3.1 试验物质浓度

3.1.1 在大多数试验室试验中，试验物质在很高的浓度下使用（2-100 mg/L），而水生环境中预期的实际浓度则在较低的 $\mu\text{g/L}$ 级范围内。一般说来，当一种基质的浓度低于大约 $10 \mu\text{g/L}$ 的阈值水平时，不会支持微生物的生长。在更低的浓度下，甚至连生存的能量要求都得不到满足（经合发组织, 1995）。之所以采用这种较低的阈值水平，可能是由于缺少能够启动酶响应的足够的刺激物（Scow, 1982）。这通常意味着，在水生环境中，许多物质的浓度处在这样一个水平，即它们只能勉强成为降解微生物的一次基质。

3.1.2 此外，降解动力取决于与莫诺方程中所描述的饱和常数 (K_s) 相比较的物质浓度 (S_0)。饱和常数是导致最大比生长速率 50% 的比生长速率的物质浓度。在远低于饱和常数 (相当于在大多数水生环境中的正常饱和度值) 的物质浓度下，降解过程可通过一级或逻辑动力学来描述 (经合发组织, 1995)。当一种低密度微生物 (低于 10^3-10^5 细胞/mL) 占主导地位时 (比如在贫营养水中)，种群的增长率将不断降低，这是一种典型的逻辑动力现象。在较高的微生物密度条件下 (比如在富营养水中)，如果基质浓度还没有高到能够支持细胞生长的程度，则适用于一级动力学，也就是说，降解率与物质浓度成正比。实际上，要区分两种不同类型的降解动力学，由于数据的不确定性，几乎是不可能的 (经合发组织, 1995)。

3.1.3 总而言之，低浓度物质 (比如低于 $10 \mu\text{g/L}$) 有可能无法在水生环境中降解为一次基质。当浓度较高时，迅速降解物质有可能在降解率或多或少地与物质浓度成正比的环境条件下，降解为一次基质。有关物质降解为二次基质的问题，将在下面讨论。

3.2 其它基质的存在

3.2.1 在标准试验中，试验物质是作为微生物的唯一基质使用的，而在自然环境中，还存在许多其它基质。在天然水中，已溶解有机碳的浓度范围常常在 $1-10 \text{ mg C/L}$ 之间，也就是说，最高要比污染物高出 1000 倍。然而，这些有机碳中的大多数将随着距离海岸越远，持续生存物质数量的增多而相对长久地存在下去。

3.2.2 天然水中的细菌主要靠海藻分泌物来滋养。这些分泌物的矿化速度非常之快 (可在几分钟内完成)。这表明，在天然微生物群落中存在一种降解能力很强的微生物。因此，在微生物争夺天然水中的各种基质时，各种微生物之间存在着一种选择压力，这种压力导致能够依靠快速矿化基质滋养的机会种的生长，而更加分化的物种的生长受到抑制。能够降解各种宾主共栖生物的细菌隔离经验表明，这些生物体的生长速度常常比较缓慢，在与能够快速生长的细菌竞争时，能够靠复合碳源生存。在环境中存在能够发挥作用的微生物条件下，如果特定的异型生物基质不断释放，并在环境中达到足以支持生长的浓度，那它们的数量可能会增加。然而，水生环境中的绝大多数有机污染物存在的浓度较低，只能被降解为不支持生长的二次基质。

3.2.3 另一方面，浓度较高的快速矿化物质的存在，可能通过共同新陈代谢作用，促进异型生物分子的初始转化。然后，这些共同新陈代谢产生的物质可能促进降解和矿化。这样，其它基质的存在可能增加一种物质被降解的可能性。

3.2.4 现在或许可以得出这样的结论，即天然水中存在的各种不同基质，以及它们之中可以快速矿化的基质，一方面可能造成一种抑制能够降解微污染物的微生物生长的选择压力，另一方面，它又可能先通过共同新陈代谢作用，然后再通过进一步的矿化，促进降解率的提高。在天然条件下，这些过程的相对重要性可能有所不同，这一方面取决于环境条件，另一方面取决于物质。目前尚不能建立一般法则。

4. 与环境有关的因素

4.1 环境变量控制着微生物的总体活力而不是具体的降解过程。然而，在不同的生态系统和微生物物种之间，这种影响的显著性也不一样（Scow, 1982）。

4.2 氧化还原势

影响降解过程的最重要的环境因素之一，可能就是氧的存在。氧含量和相关的氧化还原势，决定着水生环境中不同类型微生物的存在；其中需氧微生物存在于水相、上层沉淀层和污水处理厂设备中，厌氧微生物存在于沉淀层和污水处理厂设备中。由于在大部分水相中，含氧条件占优势，因此，生物降解性预测应建立在需氧试验结果的基础上。然而，在某些水生环境中，由于超营养作用以及随后产生的有机物质的腐烂，氧含量在一年中的某些时段内可能达到很低的水平。在这些时段内，需氧微生物将不能降解化学物质，但厌氧过程却可能出现，前提是化学物质具有厌氧条件下的降解特性。

4.3 温度

另一个重要的参数是温度。大多数实验室试验是在 20—25 °C 温度条件下进行的（标准需氧性迅速生物降解试验），但厌氧试验可以在 35 °C 温度下进行，因为这样可以更好地模拟污染反应器内的环境条件。在 0 °C 以下到 100 °C 的温度范围，可在环境中观察到微生物活力。然而，最佳温度可能在 10 °C 至 30 °C 的范围内，在这一范围内，温度每增加 10 °C，降解率大致翻一番（de Henau, 1993）。超过这一最佳温度范围，虽然某些特殊微生物（嗜热和嗜冷细菌）仍可存活，但降解成分的活力将急剧降低。当根据实验室条件外推时，应该考虑到，某些水生环境在一年中的很长时间内都被冰雪覆盖，在寒冷的冬季，降解可能很少甚至根本没有。

4.4 pH 值

在自然环境中的整个 pH 值范围内都有活性微生物存在。然而，细菌作为一个群体，略呈碱性的条件更有利于提高它们的活度，最佳 pH 值范围为 6-8。当 pH 值低于 5 时，细菌体内的新陈代谢活力将显著降低。真菌作为一个群体，略呈酸性的条件更有利于提高它们的活度，最佳 pH 值范围为 5-6（Scow, 1982）。这样，最有利于使微生物保持活力的最佳 pH 值范围应为 5 至 8。这正是水生环境中最常见的 pH 值范围。

4.5 营养物质的存在

有无机营养物质（氮和磷）存在常常是微生物的生长所需的。但它们很少成为微生物生长常常会受到营养条件限制的水生环境中的活力限制因素。然而，营养物质的存在会影响一次生产性生物的生长，进而影响可迅速矿化的分泌物的可得性。

利用试验和估计方法确定有机物质 BCF 和 K_{ow} 值的基本原理

1 生物浓缩系数 (BCF)

1.1 定义

生物浓缩系数定义为生物区中化学物质浓度和周围介质中的浓度之比。周围介质在这里指的是处于稳定状态的水。通过试验方法,可在稳定状态条件下直接测量 BCF,也可以利用一级吸收率和消除速度常数,通过计算得到。这种方法对平衡条件没有要求。

1.2 通过试验确定 BCF 的适当方法

1.2.1 通过试验方法确定鱼体内生物浓度的各种试验准则现已形成文件并被采用;其中应用最广泛的是经合发组织试验准则(OECD 305, 1996)和美国试验材料学会标准指南(ASTM E 1022-94)。OECD 305 (1996) 经过修订,替代了原版本 OECD 305A-E (1981)。虽然最好使用流通试验方式(OECD 305, 1996),但也允许使用半静态方式(ASTM E 1022-94),条件是能够满足死亡率有效性标准和试验条件。对于亲脂性物质($\log K_{ow} > 3$),最好使用流通试验方法。

1.2.2 OECD 305 的原则和 ASTM 准则具有相似之处,但所描述的试验条件不同,特别是在下列方面:

- 试验用水供给方法(静态、半静态或流通水);
- 进行净化研究的要求;
- 计算 BCF 的数学方法;
- 采样频率:水中检测次数和鱼样本采集数量;
- 检测鱼的脂质含量要求;
- 摄取阶段的最短时间。

1.2.3 一般而言,试验包括两个阶段:接触(摄取)和后接触(净化)阶段。在摄取阶段,将同一品种的鱼分成几组,分别接触试验物质的至少两种不同的浓度。28 天的试验期必须满足,除非在这段时间内已经达到稳定状态。达到稳定状态条件所需要的时间,可根据 K_{ow} - k_2 相关性(比如, $\log k_2 = 1.47 - 0.41 \log K_{ow}$ (Spacie 和 Hamelink, 1982), 或 $\log k_2 = 1.69 - 0.53 \log K_{ow}$ (Gobas 等人, 1989)) 确定。于是,达到,比如,95%的稳定状态的预期时间(d),可利用下式计算: $-\ln(1-0.95)/k_2$,前提是生物浓度服从一级动力学。在净化阶段,将鱼转到一种没有试验物质的介质中。在这两个试验阶段中,均应跟踪鱼体内的试验物质浓度。BCF 表示为鱼的总湿重函数。对于许多有机物质来说,在生物浓度潜力和亲脂性之间存在着显著关系,而且在试验鱼体内的脂质含量和这类物质的生物浓度检测值之间也存在相应的关系。因此,要减少具有高亲脂性物质试验结果中的这种可变性影响因素,生物浓度表达式中既应有整体重量,也应有脂质含量(OECD 305 (1996), ECETOC (1995))。上述准则是建立在这样的假设基础上,即生物浓度可以通过一级过程(1-区域模型)作出近似估计,因此 $BCF = k_1/k_2$ (k_1 : 一级摄取

率； k_2 ：一级净化率，可用 \log -线性表达式近似值描述）。如果净化过程遵循两阶段动力学原理，也就是可以确定两个不同的净化率，则近似值 k_1/k_2 有可能显著低估 BCF。如果已经表示出一个二阶动力项，则 BCF 可根据下列关系式估计： $C_{\text{Fish}}/C_{\text{Water}}$ ，前提是鱼-水系统已经达到“稳定状态”。

1.2.4 除了详细的样品制备和存放说明外，还必须有一种已知精确度、准确度和敏感度的适用分析方法，供用于对试验溶液和生物材料中的物质进行定量分析。如果缺少这些东西，就不能确定真正的 BCF。使用放射性同位素示踪试验物质，将有助于对水和鱼的样本进行分析。然而，除非结合一种特定的分析方法，整个放射性同位素检测将潜在地反映母体的存在、可能出现的代谢物和可能存在的变形碳；这些东西已经以有机分子的形式融入鱼的组织。要确定真实的 BCF，有必要将母体与可能存在的代谢物明确区分开。如果在试验中采用放射性同位素标记物质，将有可能对总体放射性标记（即母体和代谢物）进行分析，或者样本可以被净化，以便于对母体化合物进行单独分析。

1.2.5 在 $\log K_{ow}$ 值大于 6 的范围内，BCF 检测值将会随着 $\log K_{ow}$ 值的增大而减小。这一非线性现象的概念性解释，主要指的是生物转化或者隔膜渗透力的减小，或者是大分子生物脂质溶解性的降低。其它应当考虑的因素则是试验中的人为影响，比如没有达到平衡状态、由于在水相中吸附到有机物质中而造成的生物利用率的降低和分析有误等。此外，在评价 $\log K_{ow}$ 值大于 6 的 BCF 试验数据时，应该谨慎，因为这些数据的不确定性远远大于 $\log K_{ow}$ 值小于 6 的物质的 BCF 确认值。

2. $\log K_{ow}$

2.1 定义和总体考虑

2.1.1 $\log n$ -辛醇-水分配系数（ $\log K_{ow}$ ）是一种物质的亲脂性衡量指标。同样， $\log K_{ow}$ 也是评价环境命运的一个关键参数。许多分配过程都是由 $\log K_{ow}$ 驱动的，比如吸附到土壤和沉淀物中以及生物体内的生物浓缩。

2.1.2 确定生物浓度和 $\log K_{ow}$ 关系的基础，是对鱼脂相和水脂相之间的隔离过程，以及 n -辛醇和水之间的隔离过程的模拟。之所以使用 K_{ow} ，是因为辛醇具有一种能力，它能够在鱼的组织内成为一种令人满意的脂类替代物。在鱼肝油和 triolin 中的物质的 $\log K_{ow}$ 和溶解度之间，存在着极为重要的关系（Niimi, 1991）。triolin 是在淡水鱼脂质物质中发现的存量最丰富的甘油三酯中的一种（Henderson 和 Tocher, 1987）。

2.1.3 确定 n -辛醇-水分配系数（ K_{ow} ），是在欧盟内提交基本数据组，用于通报新的和具有优先权的现有物质的要求。由于总是通过试验确定 K_{ow} 值（比如确定完全水溶性和完全亲脂性物质）是不可能的，所以也可以使用通过 QSAR 得到的 K_{ow} 值。然而，在将 QSAR 用于无法通过试验方法确定的物质（比如表面活性物质）时，应该格外谨慎。

2.2 通过试验确定 Kow 值的适当方法

2.2.1 对于如何通过试验确定 Kow 值，一些标准试验准则，比如 OECD 107（1995）、OECD 117（1983）、EEC A.8.（1992）、EPA-OTS（1982）、EPA-FIFRA（1982）、ASTM（1993），介绍了两种不同的方法：长颈瓶摇动法和 HPLC 法。推荐使用按照标准试验准则，通过长颈瓶摇动法或 HPLC 法获得的数据。对于可缓慢溶解于水的高亲脂性物质，通过缓慢搅拌法得到的数据通常更为可靠（De

Bruijn 等人, 1989; Tolls 和 Sijm, 1993; OECD 准则草案, 1998)。缓慢搅拌法目前正在进行成环试验, 以便制定经合发组织最终准则。

2.2.2 长颈瓶摇动法

长颈瓶摇动法的基本原理是检测物质在两种不同的相, 即水相和 *n*-辛醇相中的溶解度。为确定分配系数, 在系统中所有相互作用的各种成分之间, 必须先达到平衡状态, 然后再确定物质在两种相中的溶解浓度。当 $\log K_{ow}$ 在-2 至 4 的范围内时, 长颈瓶摇动法适用 (OECD 107, 1995)。长颈瓶摇动法只能用于可溶解在水和 *n*-辛醇中的基本纯净物质, 而且应在 20—25 °C 范围内的恒定温度条件下进行 ($\pm 1^\circ\text{C}$)。

2.2.3 HPLC 方法

HPLC 法是在分析柱上进行的。分析柱内填满可从市场买到的含有产生化学反应后与二氧化硅结合的长碳氢链 (比如 C_8 、 C_{18}) 的固体物质。注入到这种柱体内的化学物质, 将在可移动水相和稳定碳氢相之间不同程度的隔离作用下, 以不同的速率沿柱体运动。HPLC 法不适用于强酸和强碱、金属络合物、表面活性物质或与洗脱剂起反应的物质。只有当 $\log K_{ow}$ 值在 0 至 6 范围内时, 方可使用 HPLC 法 (OECD 117, 1989)。与长颈瓶摇动法相比, HPLC 法对试验化合物中的杂质不太敏感。

2.2.4 缓慢搅拌方法

采用缓慢搅拌法, 可以精确和准确地确定 $\log K_{ow}$ 值在 8.2 以下的化合物的 K_{ow} 值 (De Bruijn 等人, 1989)。对于高亲脂性的化合物, 长颈瓶摇动法更容易受到人为因素影响 (微乳的形成); 当采用 HPLC 法时, 需要将 K_{ow} 值外推到标定范围以外, 以得到 K_{ow} 估计值。

为确定分配系数, 水、*n*-辛醇和试验化合物应先达到相互平衡, 然后再确定两相中试验化合物的浓度。在长颈瓶摇动试验过程中, 因形成微乳而造成的试验困难, 可在缓慢搅拌试验中得到一定程度的克服, 因为水、辛醇和试验化合物在轻轻搅拌的反应器内可达到平衡。搅拌可或多或少地在辛醇和水之间创造分层流动条件, 而且可强化各相之间的交换而不会形成微乳。

2.2.5 发生器塔方法

另一种普遍采用的 $\log K_{ow}$ 值检测方法是发生器塔法。在这种方法中, 发生器塔法用于隔离辛醇和水相中的试验物质。塔内填有一种载体, 并吸满了在辛醇中保持固定浓度的试验物质。试验物质是从带水的饱和辛醇的发生器塔中通过洗提得到的。从发生器塔中出来的水溶液代表着从辛醇相分离到水相中的试验物质的平衡浓度。与长颈瓶摇动法相比, 发生器塔法的主要优点是它可以完全避免微乳的形成。因此, 这种方法对于检测 K_{ow} 值大于 4.5 的物质 (Doucette 和 Andren, 1987 和 1988; Shiu 等人, 1988) 和 $\log K_{ow}$ 值小于 4.5 的物质, 特别有用。发生器塔法的一个缺点是它需要复杂的设备。《有毒物质控制法案试验准则》(美国环保局, 1985) 对发生器塔法作了详细说明。

2.3 利用 QSAR 预测 $\log K_{ow}$ (另见 A8.6 “QSAR 的使用”)

2.3.1 目前已经和正在开发许多用于估计 K_{ow} 值的 QSAR 方法。常用的几种方法都建立在碎片常数的基础上。碎片法的基础是给定分子的单个分子碎片亲脂特性的简单相加。欧洲联盟委员会的技术准则

文件建议，如果没有现成的试验数据，可使用三种可在市场上买到的 PC 机计算程序（欧洲联盟委员会，1996，第三部分）进行风险评估。

2.3.2 CLOGP（日光化学信息系统，1995）最初是为药品设计而开发的。模型建立在 Hansch 和 Leo 算法的基础上（Hansch 和 Leo, 1979）。该程序可用于计算含有 C、H、N、O、Hal、P 和/或 S 的有机化合物；但带有形式电荷的盐和化合物（硝基化合物和氧化氮除外）的 $\log K_{ow}$ 值无法计算。可电离物质，比如苯酚、胺和羧酸的 $\log K_{ow}$ 值计算结果，呈中性或未电离形式，并且依赖于 pH 值。一般说来，程序可在 $\log K_{ow}$ 值为 0 至 5 的范围内给出明确的估计（欧洲联盟委员会，1996，第 III 部分）。然而，Niemelä（1993）进行过一项有效性研究，他将试验确定的 $\log K_{ow}$ 值与估计值进行了比较。结果表明，该程序可准确预测 $\log K_{ow}$ 值范围在 0 以下至 9 以上（ $n=501$, $r^2=0.967$ ）的为数很大的一部分有机物质的 $\log K_{ow}$ 值。在对 7000 多种物质进行的一项类似的有效性研究中，使用 CLOGP 程序（PC 版 3.32，美国环保局版 1.2）计算得到的结果是， $r^2=0.89$, $s.d.=0.58$, $n=7221$ 。这些有效性研究表明，当没有试验数据可供使用时，CLOGP 程序可用于估计 $\log K_{ow}$ 值，并可得到可靠的结果。对于螯合化合物和表面活性物质，有报告说，CLOGP 程序只能达到有限的可靠性（经合发组织，1993）。然而，对于阴离子表面活性物质（LAS），有人建议用一处修正办法来估计经调整的 CLOGP 值（Roberts, 1989）。

2.3.3 LOGKOW 或 KOWWIN（锡拉库扎研究公司）使用结构碎片和校正因子。该程序可用于计算含有 C、H、N、O、Hal、Si、P、Se、Li、Na、K 和/或 Hg 的有机化合物的 $\log K_{ow}$ 值；也可计算带有形式电荷（如硝基化合物和氧化氮）的化合物的 $\log K_{ow}$ 值。可电离物质，比如苯酚、胺和羧酸的 $\log K_{ow}$ 值计算结果，呈中性或未电离形式，因此计算值依赖于 pH 值。某些表面活性物质（比如，脂肪醇乙氧基化物（Tolls, 1998）、染料和离解物质，也可以用 LOGKOW 程序作出预测（Pedersen 等人，1995）。一般说来，程序可对 $\log K_{ow}$ 值在 0 至 9 范围内的物质给出明确的估计值（TemaNord 1995: 581）。同 CLOGP 程序一样，LOGKOW 程序也被证明是有效的（表 2），并建议用于分类，因为它具有计算结果可靠、容易购买和使用方便等特点。

2.3.4 AUTOLOGP（Devillers 等人，1995）是从异类数据组中得出的，其中包括从有关文献中收集的 800 种有机化学物质。程序可用于计算含有 C、H、N、O、Hal、P 和 S 的有机化学物质的 $\log K_{ow}$ 值，但不能用于计算盐的 $\log K_{ow}$ 值。此外，某些带有形式电荷的化合物的 $\log K_{ow}$ 值也不能计算，但硝基化合物除外。可电离化学物质，比如苯酚、胺和羧酸的 $\log K_{ow}$ 值可以计算，尽管应该注意到它们的 pH 值依赖性。目前正在改进，以扩大 AUTOLOGP 程序的适用范围。根据目前可以得到的信息，AUTOLOGP 可给出精确计算值，特别是对高亲脂性物质来说（ $\log K_{ow} > 5$ ）（欧洲联盟委员会，1996）。

2.3.5 SPARC。SPARC 模型目前仍在由美国环保局设在佐治亚州阿森斯的环境研究试验室开发，尚未公开发售。SPARC 与其说是一种建立在从观测数据得到的知识基础上的确定性模型，莫如说是建立在化学热力学原理基础上的数学模型。因此，SPARC 不同于使用 QSAR 的模型（即 KOWWIN、LOGP），因为它不需要将 $\log K_{ow}$ 检测值用于化学物质的训练集。有时，如有请求，美国环保局确实为化学文摘社登记号码运行模型。只有当化合物的 $\log K_{ow}$ 值大于 5 时，SPARC 才可提供优于 KOWWIN 和 CLOGP 的结果。只有 SPARC 才可以一种通用方式，用于无机化合物和有机金属化合物。

本附录表 1 综述了基于碎片方法的各种 $\log K_{ow}$ 值估计方法。此外，还有其他一些可用于估计 $\log K_{ow}$ 值的方法，但它们只能针对具体情况使用，并需要具有适当的科学理由。

表 1 基于碎片方法、用于估计 $\log K_{ow}$ 值的 QSAR 方法综述 (Howard 和 Meylan (1997))

| 方法名称 | 方法原理 | 统计表 |
|--|--|--|
| CLOGP Hansch 和 Leo (1979), CLOGP Daylight (1995) | 碎片 + 校正因子 | 总 n = 8942, $r^2 = 0,917$, sd = 0,482 有效性: n= 501, $r^2 = 0,967$ 有效性: n= 7221, $r^2 = 0,89$, sd = 0,58 |
| LOGKOW (KOWWIN) Meylan 和 Howard (1995)) , SRC | 140 个碎片 260 个校正因子 | 标定: n= 2430, $r^2 = 0,981$, sd = 0,219, me = 0,161 有效性: n= 8855, $r^2 = 0,95$, sd = 0,427, me = 0,327 |
| AUTOLOGP Devillers 等人 (1995) | 来自 Rekker 和 Manhold (1992) 的 66 个原子和群贡献 (group contributions) | 标定: n= 800, $r^2 = 0,96$, sd = 0,387 |
| SPARC 正在由 EPA, Athens, Georgia 开发 | 基于基本的化学结构算法 | 化学物质训练集无需 $\log K_{ow}$ 检测值 |
| Rekker 和 De Kort (1979) | 碎片 + 校正因子 | 标定: n= 1054, $r^2 = 0,99$ 有效性: n= 20, $r^2 = 0,917$, sd = 0,53, me = 0,40 |
| Niemi 等人 (1992) | MCI | 标定: n= 2039, $r^2 = 0,77$ 有效性: n= 2039, $r^2 = 0,49$ |
| Klopman 等人 (1994) | 98 碎片 + 校正因子 | 标定: n= 1663, $r^2 = 0,928$, sd = 0,3817 |
| Suzuki 和 Kudo (1990) | 424 个碎片 | 总: n= 1686, me = 0,35 有效性: n= 221, me = 0,49 |
| Ghose 等人 (1988) ATOMLOGP | 110 个碎片 | 标定: n= 830, $r^2 = 0,93$, sd = 0,47 有效性: n= 125, $r^2 = 0,87$, sd = 0,52 |
| Bodor 和 Huang (1992) | 分子轨函数 (Molecule orbital) | 标定: n= 302, $r^2 = 0,96$, sd = 0,31, me = 0,24 有效性: n= 128, sd = 0,38 |
| Broto 等人 (1984) ProLogP | 110 个碎片 | 标定: n= 1868, me = ca. 0,4 |

附件 8

附录四

外部和内部因素对有机物质生物浓缩潜力的影响

1. 影响摄取的因素

亲脂性化合物摄取率主要随生物体的大小而变化 (Sijm 和 Linde, 1995)。外部因素, 比如分子尺寸、影响生物利用率的因素和不同的环境因素, 也对摄取率有着重要的影响。

1.1 生物体大小

由于较大的鱼具有较低的鳃表面与体重比, 因此可以预计, 与小鱼相比, 大鱼的摄取率常数 (k_1) 较低 (Sijm 和 Linde, 1995; Opperhuizen 和 Sijm, 1990)。此外, 鱼体内物质的吸收还进一步受到以下因素的控制: 过鳃水流、通过位于鳃上皮的水扩散层的扩散、通过鳃上皮的渗入、过鳃血流率和血液构成成分的粘合能力 (ECETOC, 1995)。

1.2 分子尺寸

离子化物质不能立即穿透薄膜; 因为水的 pH 值可能会影响物质的摄取。可以预计, 当物质具有很大的横截面积 (Opperhuizen 等人, 1985; Anliker 等人, 1988) 或很长的链长度时 ($> 4.3 \text{ nm}$) (Opperhuizen, 1986), 将会损失膜通透性。因此, 因分子尺寸而降低膜的通透性, 将导致摄取率的全部损失。分子量对生物浓度的影响, 是由于对可减小摄取率常数的物质扩散系数的影响造成的 (Gobas 等人, 1986)。

1.3 有效性

在一种物质能够在生物体内形成生物浓缩之前, 它需要在水中存在, 并能够穿透鱼鳃进入鱼体内。在自然和试验条件下影响这种有效性的因素, 与 BCF 估计值相比, 将改变实际生物浓度。由于在生物浓度试验研究中给鱼喂食, 因此, 可能出现相对较高浓度的溶解物和微粒有机物质, 从而减少可真正通过鱼鳃直接摄入的化学物质组分。McCarthy 和 Jimenez (1985) 已经阐明, 亲脂性物质被吸附到已溶解腐殖质上, 可降低物质的有效性; 物质的亲脂性越强, 有效性降低幅度越大 (Schrapp 和 Opperhuizen, 1990)。此外, 吸附到已溶解有机物质或微粒有机物质或这些有机物质的表面, 通常会在 BCF (和其它物理-化学特性) 检测过程中出现干涉现象, 从而给确定 BCF 或相应的描述符造成困难。由于鱼体内的生物浓度与水中化学物质的现有组分直接相关, 因此, 高亲脂性物质需要在摄取期间内, 将试验化学物质的现有浓度保持在相对较窄的极限范围内。

可迅速发生生物降解的物质只能在试验水中短时间存在, 因而这些物质的生物浓度将无关紧要。同样, 挥发性和水解特性也将降低浓度并缩短可供生物浓度积累的时间。

1.4 环境因素

影响生物体生理机能的环境参数也会影响物质的摄取。举例来说, 当水中的氧含量降低时, 鱼不得不使更多的水通过它们的鳃部, 以满足呼吸要求 (McKim 和 Goeden, 1982)。然而, 可能会存在

Opperhuizen 和 Schrap (1987) 所说的物种从属性。此外, 业已表明, 温度可能影响亲脂性物质的摄入率常数 (Sijm 等人 1993), 但其他作者还没有发现温度变化会产生任何一贯影响 (Black 等人 1991)。

2. 影响消除率的因素

影响消除率的主要因素是生物体的大小、脂含量、生物体的生物转化过程和试验化合物的亲脂特性。

2.1 生物体大小

就摄取率来说, 消除率取决于生物体的大小。由于与较大的生物体相比, 较小的生物体 (比如幼鱼) 具有更高的鳃表面与体重比, 因此已经表明, 与鱼的青少年/成年阶段相比, 在早期生命阶段达到稳定状态和由此导致的“中毒剂量平衡”所需的时间要更短一些 (Petersen 和 Kristensen, 1998)。由于达到稳定状态条件需要的时间取决于 k_2 , 因此, 用于生物浓度试验研究的鱼的大小, 对于达到稳定状态条件所需要的时间具有重要的意义。

2.2 脂含量

由于隔离关系, 在稳定状态条件下, 与低脂肪含量生物体相比, 高脂肪含量生物体更容易积累形成较高的亲脂性物质浓度。因此, 与“瘦”鱼, 比如鳕鱼相比, “胖”鱼, 比如鳗鲡, 常常具有较大的体重。此外, 脂质“池”可能起到存贮高亲脂性物质的作用。饥饿或其它生理变化可能改变脂质平衡, 释放这种物质, 并导致影响滞后。

2.3 新陈代谢

2.3.1 一般而言, 新陈代谢或生物转化可使母体化合物转化为更容易在水中溶解的代谢物。其结果是, 与母体化合物相比, 亲水性更强的代谢物可能更易于从体内分泌出来。当一种化合物的化学结构改变后, 化合物的许多特性将随之出现变化。因此, 在组织分布、生物积累、持续性, 以及排泄路径和排泄率等方面, 代谢物将在生物体内表现出不同的行为特点。生物转化也可以改变一种化合物的毒性。这种毒性变化可能对生物体有利, 也可能对生物体有害。生物转化可防止生物体内的浓度变得太高, 以致出现中毒反应 (解毒)。然而, 可能形成一种比母体化合物 (生物活性) 更具毒性的代谢物, 比如已知的苯并芘。

2.3.2 陆地生物拥有发达的生物转化系统, 这种系统一般优于生活在水生环境中的生物体的转化系统。形成这种差异的原因可能是这样一个事实, 即宾主共栖生物的生物转化在鱼鳃呼吸有机组织中的意义不大, 因为它们可以比较容易地将化合物排泄到水中 (Van Den Berg 等人 1995)。关于水生生物体内的生物转化能力, 宾主共栖生物的生物转化能力一般按下列规律增长: 软体动物 < 甲壳类动物 < 鱼类 (Wofford 等人, 1981)。

3. 物质的亲脂性

许多作者已经说明, 在鱼体内, k_2 (净化常数) 和 $\log K_{ow}$ (或 BCF) 之间存在着负线性关系 (比如, Spacie 和 Hamelink, 1982; Gobas 等人, 1989; Petersen 和 Kristensen, 1998), 而 k_1 (摄取率常数) 则或多或少地独立于物质的亲脂性之外 (Connell, 1990)。因此, 作为其结果的 BCF 一般也随着物质亲脂性的增加而增加, 也就是说, 对于不进行大量新陈代谢的物质的来说, $\log BCF$ 和 $\log K_{ow}$ 之间存在着相关关系。

附件 8

附录五

试验准则

1. 上述准则大多可在发布它们的组织出版的文件汇编找到。这些准则的主要参考资料有：
 - 欧洲联盟委员会准则：欧洲联盟委员会（1996）。欧洲联盟境内危险物质分类、包装和标签制度，第 2 部分——试验方法；欧洲联盟委员会。1997。ISBN92-828-0076-8。（主页：<http://ecb.ei.jrc.it/testing-methods/>）；
 - 国际标准化组织准则：可向各国家标准化组织或国际标准化组织索取（主页：<http://iso.ch/>）；
 - 经合发组织化学品试验准则。经合组织，巴黎，1993 年，定期更新（主页：<http://www.oecd.org/ehs/test/testlist.htm>）；
 - 预防、农药和有毒物质办公室准则：美国环保局主页：<http://www.epa.gov/opptsfrs/home/guidelin.htm> 和（[http://www.epa.gov/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines / Drafts](http://www.epa.gov/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts)）；
 - 美国试验材料学会：美国试验材料学会的主页：<http://www.astm.org>。可通过“标准”进一步搜寻。

2. 水生毒性试验指南*

经合发组织试验准则 201（1984）海藻，生长抑制试验
经合发组织试验准则 202（1984）水蚤 sp 急性固定试验和繁殖试验
经合发组织试验准则 203（1992）鱼，急性毒性试验
经合发组织试验准则 204（1984）鱼，延长毒性试验：14 一天研究
经合发组织试验准则 210（1992）鱼，早期生命阶段毒性试验
经合发组织试验准则 211（1998）水蚤 magna 繁殖试验
经合发组织试验准则 212（1998）鱼，短期胚胎和 Sac-Fry 阶段毒性试验
经合发组织试验准则 215（2000）鱼，幼年生长试验
经合发组织试验准则 221（准备阶段）*Lemna* sp 生长抑制试验
EC C.1: 鱼的急性毒性（1992）
EC C.2: 水蚤急性毒性（1992）
EC C.3: 海藻抑制试验（1992）
EC C.14: 鱼的幼年生长试验（2001）
EC C.15: 鱼，短期胚胎和 Sac-Fry 阶段毒性试验（2001）
EC C.20: 水蚤 Magna 繁殖试验（2001）

* 以下清单截至 2000 年 9 月。清单需要随着新准则的采用或准则草案的拟订定期更新。

OPPTS 关于环境影响的试验准则（850 个系列的公开草案）：

- 850.1000 进行水生环境试验室研究时需要特别考虑的事项（Adobe PDF 文件）
- 850.1000 进行水生环境试验室研究时需要特别考虑的事项（文本到 HTML 文件）
- 850.1010 水生无脊椎动物急性毒性，试验，淡水水蚤（Adobe PDF 文件）
- 850.1010 水生无脊椎动物急性毒性，试验，淡水水蚤（文本到 HTML 文件）
- 850.1020 钩虾急性毒性试验（Adobe PDF 文件）
- 850.1020 钩虾急性毒性试验（文本到 HTML 文件）
- 850.1035 糖虾急性毒性试验（Adobe PDF 文件）
- 850.1035 糖虾急性毒性试验（文本到 HTML 文件）
- 850.1045 Penaeid 急性毒性试验（Adobe PDF 文件）
- 850.1045 Penaeid 急性毒性试验（文本到 HTML 文件）
- 850.1075 鱼的急性毒性试验, 淡水和海水（Adobe PDF 文件）
- 850.1075 鱼的急性毒性试验, 淡水和海水（文本到 HTML 文件）
- 850.1300 Daphnid 慢性毒性试验（Adobe PDF 文件）
- 850.1300 Daphnid 慢性毒性试验（文本到 HTML 文件）
- 850.1350 糖虾慢性毒性试验（Adobe PDF 文件）
- 850.1350 糖虾慢性毒性试验（文本到 HTML 文件）
- 850.1400 鱼的早期生命阶段毒性试验（Adobe PDF 文件）
- 850.1400 鱼的早期生命阶段毒性试验（文本到 HTML 文件）
- 850.1500 鱼的生活周期毒性（Adobe PDF 文件）
- 850.1500 鱼的生活周期毒性（文本到 HTML 文件）
- 850.1730 鱼的 BCF（Adobe PDF 文件）
- 850.1730 鱼的 BCF（文本到 HTML 文件）
- 850.4400 利用 Lemna spp 的水生植物毒性试验，第一和第二层（Adobe PDF 文件）
- 850.4400 利用 Lemna spp 的水生植物毒性试验，第一和第二层（文本到 HTML 文件）
- 850.4450 水生植物现场试验研究，第三层（Adobe PDF 文件）
- 850.4450 水生植物现场试验研究，第三层（文本到 HTML 文件）
- 850.5400 海藻毒性，第一和第二层（Adobe PDF 文件）
- 850.5400 海藻毒性，第一和第二层（文本到 HTML 文件）

3. 生物和非生物降解试验指南*

ASTM E 1196-92

ASTM E 1279-89（95）用长颈瓶摇动消沉法进行的生物降解试验标准试验方法

ASTM E 1625-94 确定有机化学物质在半连续活性污泥中生物降解的标准试验方法（SCAS）

EC C.4. A 至 F：确定迅速生物降解。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1992）

* 以下清单截至 2000 年 9 月。清单需要随着新准则的采用或准则草案的拟订定期更新。

EC C.5. 降解：生物化学需氧量。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1992）

EC C.7. 降解：非生物降解：随 pH 值而变化的水解过程。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1992）

EC C.9. 生物降解：Zahn-Wellens 试验。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1988）

EC C.10. 生物降解：活性污泥模拟试验。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1988）

EC C.11. 生物降解：活性污泥呼吸抑制试验。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1988）

EC C.12. 生物降解：经过改进的 SCAS 试验。第 67/548/EEC 号指令，附件五（1988）

ISO 9408（1991），水质——有机化合物在水介质中“最终”生物降解评估——封闭呼吸计中需氧量确定法

ISO 9439（1990），水质——有机化合物在水介质中“最终”生物降解评估——释放二氧化碳分析法

ISO 9509（1996），水质——化学物质和废水抑制活性污泥微生物硝化作用评价方法

ISO 9887（1992），水质——有机化合物在水介质中的需氧性生物降解评估——半连续活性污泥法（SCAS）

ISO 9888（1991），水质——有机化合物在水介质中的需氧性生物降解评估——静态试验法（Zahn-Wellens 法）

ISO 10707（1994），水质——有机化合物在水介质中“最终”生物降解评估——生物化学需氧量分析法（封闭瓶试验）

ISO 11348（1997），水质——确定水样本对 *Vibrio fischeri* 光发射的抑制作用（发光细菌试验）

ISO 11733（1994），水质——有机化合物在水介质中的消失和生物降解评估——活性污泥模拟试验

ISO 11734（1995），水质——有机化合物在菌致分解污泥中“最终”厌氧性生物降解评估——沼气生产量检测法

ISO/DIS 14592（1999），水质——水中低浓度有机化合物需氧性生物降解评估，第 1 部分：采用地表水或地表水/沉淀悬浮物的长颈瓶摇动批量试验法（22.11.1999）

经合发组织试验准则 111（1981），随 pH 值而变化的水解过程，经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 209（1984），活性污泥，呼吸抑制试验，经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 301（1992），迅速生物降解，经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 302A（1981），固有生物降解：经过改进的 SCAS 试验。经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 302B（1992），Zahn-Wellens/EMPA 试验。经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 302C（1981），固有生物降解：经过改进的 MITI 试验（二）。经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 303A (1981), 模拟试验——需氧污水处理: 联结装置试验。经合发组织化学品试验准则, 有 1999 年草案增补版

经合发组织试验准则 304A (1981), 土壤中的固有生物降解。经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 306 (1992), 海水中的生物降解。经合发组织化学品试验准则

OECD (1998b), 水生沉淀物系统中的有氧和厌氧转化, 新准则建议草案, 1999 年 12 月

OECD (1999), 土壤中的有氧和厌氧转化, 新准则建议草案最后文本, 1999 年 10 月

OECD (2000), 模拟试验——地表水中的有氧转化, 新准则建议草案, 2000 年 5 月

OPPTS 835.2110 随 pH 值而变化的水解过程

OPPTS 835.2130 随 pH 值和温度而变化的水解过程

OPPTS 835.2210 日光作用下的水中直接光解率

OPPTS 835.3110 迅速生物降解

OPPTS 835.3170 长颈瓶摇动消沉试验

OPPTS 835.3180 沉淀物/水实验生态系统生物降解试验

OPPTS 835.3200 Zahn-Wellens/EMPA 试验

OPPTS 835.3210 经过改进的 SCAS 试验

OPPTS 835.3300 土壤生物降解

OPPTS 835.3400 有机化学物质的厌氧性生物降解

OPPTS 835.5270 间接光解甄别试验: 含有已溶解腐殖质的水中日光光解作用

4. 生物积累试验准则*

ASTM, 1993. 美国试验材料学会水生毒性和危害评估标准, 由美国试验材料学会委员会主持, E-47 生物学影响和环境命运。美国试验和材料协会。地址: 1916 Race Street, Philadelphia, PA 19103. ASTM PCN: 03-547093-16., ISBN 0-8032-1778-7

ASTM E 1022-94. 1997, 鱼和海产双壳贝类软体动物生物浓度试验标准指南, 美国试验材料学会

EC, 1992, EC A.8. 分配系数, 附件五 (第 67/548/EEC 号指令), 物理-化学特性、毒性和生态毒性确定方法

EC, 1998. EC.C.13 生物浓度: 鱼的流通试验

* 以下清单截至 2000 年 9 月。清单需要随着新准则的采用或准则草案的拟订定期更新。

EPA-OTS, 1982. 环境影响试验准则和支持文件。化学品命运试验准则和支持文件。美国环境保护局, 农药和有毒物质办公室, 地址: Washington, D.C. 20960. EPA 560/6-82-002 (1982年8月和增补版), 另见《行政法规汇编》。环境保护第790部分至结尾, 修订版截至1993年7月1日。有关这些试验准则的最新增补的在线信息: 美国国家技术信息系统

EPA-FIFRA, 1982. 《联邦杀虫剂、杀真菌剂和灭鼠剂法》。杀虫剂评估准则, N 分项: 化学: 环境命运; 和 E、J 和 L 分项: 危害评估。杀虫剂项目办公室。美国环境保护局。首都华盛顿 (1982 版和增补版)。有关这些试验准则的最新增补的在线信息: 美国国家技术信息系统

经合发组织试验准则 107, 1995. 经合发组织化学品试验准则, 分配系数 (n-辛醇/水): 长颈瓶摇动法

经合发组织试验准则 117, 1989. 经合发组织化学品试验准则, 分配系数 (n-辛醇/水), 高性能液体层析法 (HPLC)

经合发组织试验准则 305, 1996. 生物浓度: 鱼的流通试验, 经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则 305 A-E, 1981. 生物积累, 经合发组织化学品试验准则

经合发组织试验准则草案, 1998. 分配系数 n-辛醇/水 P_{ow} , 高疏水性化学物质缓慢搅拌法。经合发组织化学品试验准则建议草案

附件 8

附录六

参考文献

1. 水生毒性

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

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

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

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

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

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

OECD 1998. Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances. OECD, Paris.<http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>

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

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

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

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

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

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

2. 生物和非生物降解

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

OECD (1998). Harmonized integrated hazard classification system for human health and environmental effects of chemical substances. Paris. <http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>

Pedersen F., H. Tyle, J. R. Niemelä, B. Guttmann, L. Lander & A. Wedebrand (1995). Environmental Hazard Classification – data collection and interpretation guide for substances to be evaluated for classification as dangerous for the environment. Nordic Council of Ministers. 2nd edition. TemaNord 1995:581, 166 pp
Schwarzenbach R.P., P.M. Gschwend & D.M. Imboden (1993). Environmental organic chemistry 1st ed. John Wiley & Sons, Inc. New York

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

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

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

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

3. 生物积累

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

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

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

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

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

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

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

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

Comotto, R.M., Kimerle, R.A., Swisher, R.D. 1979. Bioconcentration and metabolism of linear alkylbenzenesulfonate by Daphnids and Fathead minnows. L.L.Marking, R.A. Kimerle, Eds., *Aquatic Toxicology* (ASTM, 1979), vol. ASTM STP 667

Connell, D.W., Hawker, D.W. 1988. Use of polynomial expressions to describe the bioconcentration of hydrophobic chemicals by fish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 16:242-257

Connell, D.W. 1990. Bioaccumulation of xenobiotic compounds, Florida: CRC Press, Inc. pp.1-213

- De Bruijn, J., Busser, F., Seinen, W. & Hermens, J. 1989. Determination of octanol/water partition coefficients with the "slow stirring" method. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:499-512
- Devillers, J., Bintein, S., Domine, D. 1996. Comparison of BCF models based on log P. *Chemosphere* 33(6):1047-1065
- DoE, 1996. Guidance on the aquatic toxicity testing of difficult substance. Unites Kingdom Department of the Environment, London
- Doucette, W.J., Andren, A.W. 1987. Correlation of octanol/water partition coefficients and total molecular surface area for highly hydrophobic aromatic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 21, pages 821-824
- Doucette, W.J., Andren, A.W. 1988. Estimation of octanol/water partition coefficients: evaluation of six methods for highly hydrophobic aromatic compounds. *Chemosphere*, 17, pages 345-359
- Driscoll, S.K., McElroy, A.E. 1996. Bioaccumulation and metabolism of benzo(a)pyrene in three species of polychaete worms. *Environ. Toxicol. Chem.* 15(8):1401-1410
- ECETOC, 1995. The role of bioaccumulation in environmental risk assessment: The aquatic environment and related food webs, Brussels, Belgium
- ECEOOC, 1996. Aquatic toxicity testing of sparingly soluble, volatile and unstable substances. ECETOC Monograph No. 26, ECETOC, Brussels
- European Commission, 1996. Technical Guidance Document in support of Commission Directive 93/96/EEC on Risk Assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances. Brussels
- Ghose, A.K., Protchet, A., Crippen, G.M. 1988. *J. Computational Chem.* 9:80-90
- Gobas, F.A.P.C., Opperhuizen, A., Hutzinger, O. 1986. Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish: Relationship with membrane permeation. *Environ. Toxicol. Chem.* 5:637-646
- Gobas, F.A.P.C., Clark, K.E., Shiu, W.Y., Mackay, D. 1989. Bioconcentration of polybrominated benzenes and biphenyls and related superhydrophobic chemicals in fish: Role of bioavailability and elimination into feces. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:231-245
- Goodrich, M.S., Melancon, M.J., Davis, R.A., Lech J.J. 1991. The toxicity, bioaccumulation, metabolism, and elimination of dioctyl sodium sulfosuccinate DSS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Water Res.* 25: 119-124
- Hansch, C., Leo, A. 1979. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. Wiley, New York, NY, 1979
- Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid. Res.* 26:281-347
- Howard, P.H. and Meyland, W.M., 1997. Prediction of physical properties transport and degradation for environmental fate and exposure assessments, QSAR in environmental science VII. Eds. Chen, F. and Schüürmann, G. pp. 185-205

- Kimerle, R.A., Swisher, R.D., Schroeder-Comotto, R.M. 1975. Surfactant structure and aquatic toxicity, Symposium on Structure-Activity correlations in Studies on Toxicity and Bioconcentration with Aquatic Organisms, Burlington, Ontario, Canada, pp. 22-35
- Klopman, G., Li, J.Y., Wang, S., Dimayuga, M. 1994. Computer automated log P calculations based on an extended group contribution approach. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 34:752-781
- Knezovich, J.P., Lawton, M.P., Inoue, L.S. 1989. Bioaccumulation and tissue distribution of a quaternary ammonium surfactant in three aquatic species. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42:87-93
- Knezovich, J.P., Inoue, L.S. 1993. The influence of sediment and colloidal material on the bioavailability of a quaternary ammonium surfactant. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 26:253-264
- Kristensen, P. 1991. Bioconcentration in fish: Comparison of BCFs derived from OECD and ASTM testing methods; influence of particulate matter to the bioavailability of chemicals. Danish Water Quality Institute
- Mackay, D. 1982. Correlation of bioconcentration factors. *Environ. Sci. Technol.* 16:274-278
- McCarthy, J.F., Jimenez, B.D. 1985. Reduction in bioavailability to bluegills of polycyclic aromatic hydrocarbons bound to dissolved humic material. *Environ. Toxicol. Chem.* 4:511-521
- McKim, J.M., Goeden, H.M. 1982. A direct measure of the uptake efficiency of a xenobiotic chemical across the gill of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) under normoxic and hypoxic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.* 72C:65-74
- Meylan, W.M. and Howard, P.H., 1995. Atom/Fragment Contribution Methods for Estimating Octanol-Water Partition Coefficients. *J.Pharm.Sci.* 84, 83
- Niemelä, J.R. 1993. QTOXIN-program (ver 2.0). Danish Environmental Protection Agency
- Niemi, G.J., Basak, S.C., Veith, G.D., Grunwald, G. *Environ. Toxicol. Chem.* 11:893-900
- Niimi, A.J. 1991. Solubility of organic chemicals in octanol, triolin and cod liver oil and relationships between solubility and partition coefficients. *Wat. Res.* 25:1515-1521
- OECD, 1993. Application of structure activity relationships to the estimation of properties important in exposure assessment. OECD Environment Directorate. Environment Monograph No. 67
- OECD, 1998. Harmonized integrated hazard classification system for human health and environmental effects of chemical substances. As endorsed by the 28th joint meeting of the chemicals committee and the working party on chemicals in November 1998
- OECD, 2000. Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures, OECD, Paris
- Opperhuizen, A., Van der Velde, E.W., Gobas, F.A.P.C., Liem, A.K.D., Van der Steen, J.M.D., Hutzinger, O. 1985. Relationship between bioconcentration in fish and steric factors of hydrophobic chemicals. *Chemosphere* 14:1871-1896
- Opperhuizen, A. 1986. Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish. In: Poston T.M., Purdy, R. (eds), *Aquatic Toxicology and Environmental Fate: Ninth Volume*, ASTM STP 921. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 304-315

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Syracuse Research Corporation, 1999. http://esc_plaza.syrres.com/interkow/logkow.htm

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4. QSAR 参考文献

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- R.L. Lipnick (1989a). Hans Horst Meyer and the lipid theory of narcosis, *Trends Pharmacol. Sci.*, 10 (7) July, 265-269; Erratum: 11 (1) Jan (1990), p. 44
- R.L. Lipnick (1989b). Narcosis, electrophile, and proelectrophile toxicity mechanisms. Application of SAR and QSAR. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8, 1-12
- R.L. Lipnick (1990). Narcosis: Fundamental and Baseline Toxicity Mechanism for Nonelectrolyte Organic Chemicals. In: W. Karcher and J. Devillers (eds.) *Practical Applications of Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) in Environmental Chemistry and Toxicology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 129-144
- R.L. Lipnick (ed.) (1991a). *Charles Ernest Overton: Studies of Narcosis and a Contribution to General Pharmacology*, Chapman and Hall, London, and Wood Library-Museum of Anesthesiology
- R.L. Lipnick (1991b). Outliers: their origin and use in the classification of molecular mechanisms of toxicity, *Sci. Tot. Environ.*, 109/110 131-153
- R.L. Lipnick (1995). Structure-Activity Relationships. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, 2nd edition, (G.R. Rand, ed.), Taylor & Francis, London, 609-655
- Loonen, H., Lindgren, F., Hansen, B., Karcher, W., Niemela, J., Hiromatsu, K., Takatsuki, M., Peijnenburg, W., Rorije, E., and Struijs, J. (1999). Prediction of biodegradability from chemical structure: modeling of ready biodegradation test data. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 1763-1768
- Meylan, W. M. and P. H. Howard (1995), *J. Pharm. Sci.*, 84, 83-92
- OECD (1993), Structure-Activity Relationships for Biodegradation. OECD Environment Monograph No. 68 OECD, Paris, France
- OECD (1995). Environment Monographs No. 92. Guidance Document for Aquatic Effects Assessment. OECD, Paris
- F. Pedersen, H. Tyle, J. R. Niemelä, B. Guttman, L. Lander, and A. Wedebrand (1995), *Environmental Hazard Classification: Data Collection and Interpretation Guide for Substances to be Evaluated for Classification as Dangerous for the Environment*, 2nd Edition, TemaNord 1995:581, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, January
- US EPA (1999) Development of Chemical Categories in the HPV Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/categuid.htm>
- US EPA (2000a), The Use of Structure-Activity Relationships (SAR) in the High Production Volume Chemicals Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/sarfin11.htm>
- US EPA (2000b), ECOSAR, <http://www.epa.gov/oppt/newchems/21ecosar.htm>
- US EPA/EC (1993): US EPA Joint Project on the Evaluation of (Quantitative) Structure Activity Relationships, Commission of European Communities, Final Report, July
- G.D. Veith, R.L. Lipnick, and C.L. Russom (1989). The toxicity of acetylenic alcohols to the fathead minnow, *Pimephales promelas*. Narcosis and proelectrophile activation. *Xenobiotica*, 19(5), 555-565

5. 金属和金属化合物

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

OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, <http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>

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

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

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

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

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

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