

附件 9

水生环境危害指导

附件 9

水生环境危害指导

目 录

	<u>页 次</u>
A9.1 导 言	451
A9.2 统一分类办法	454
A9.2.1 范 围.....	454
A9.2.2 分类类别和标准.....	454
A9.2.3 基本原理.....	454
A9.2.4 应 用.....	455
A9.2.5 数据有效性.....	456
A9.2.6 数据质量.....	457
A9.3 水生毒性	458
A9.3.1 导 言.....	458
A9.3.2 试验说明.....	458
A9.3.3 水生毒性概念.....	460
A9.3.4 证据权重.....	462
A9.3.5 难以进行试验的物质.....	462
A9.3.6 数据质量的解释.....	467
A9.4 降 解	468
A9.4.1 导 言.....	468
A9.4.2 对可降解性数据的解释.....	469
A9.4.3 一般的解释问题.....	473
A9.4.4 判定方法.....	475
A9.5 生物积累	476
A9.5.1 导 言.....	476
A9.5.2 生物浓缩数据的解释.....	477
A9.5.3 需要特别注意 BCF 和 K_{ow} 值的化学品类别.....	480
A9.5.4 相互矛盾的数据和缺少数据.....	482
A9.5.5 判定方法.....	482
A9.6 QSAR 的使用	483
A9.6.1 历史回顾.....	483
A9.6.2 导致危险低估的试验的人为因素.....	484
A9.6.3 QSAR 模型问题.....	484
A9.6.4 在水生分类中使用 QSAR.....	485
A9.7 金属和金属化合物分类	489
A9.7.1 导 言.....	489
A9.7.2 水生毒性数据和溶解度数据在分类中的应用.....	490
A9.7.3 环境转变的评估.....	492
A9.7.4 生物积累.....	492
A9.7.5 金属和金属化合物分类标准的应用.....	492
附录一 有机物质可降解性的确定.....	497
附录二 影响水生环境可降解性的因素.....	503
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.....	507
附录四 外部和内部因素对有机物质生物富集潜力的影响.....	513
附录五 试验准则.....	515
附录六 参考文献.....	521

附件 9

水生环境危害指导¹

A9.1 导言

A9.1.1 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一个复杂系统，为此需要某些适当的指导。因此，本文件有以下两个目的：

- (a) 描述系统将如何运作，并给予指导；
- (b) 对如何解释适用分类标准时所用的数据给予指导。

A9.1.2 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物质。本文将水生环境视为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，现有的大多数数据资料涉及这一子环境。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。

A9.1.3 尽管范围有限，人们广泛承认，这部分环境既容易受到伤害，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危害的制度，都必须设法利用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，来界定危害影响。正如在后面几节中将详细描述的那样，选定了有限的一组物质特性；通过这些特性，可以对危害作最好的描述：水生急毒性；水生慢毒性；缺少可降解性；以及潜在的或实际的生物积累。选用这些数据定义水生危害的基本原理，将在第 A9.2 节更为详细地介绍。

A9.1.4 在现阶段，本附件仅限于对物质适用标准。物质这一术语涉及范围广泛的化学品；其中许多化学品对基于刚性标准的分类制度构成了严重挑战。因此，下面各节将提供一些指导，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(见第 1.2 章的定义)的单个物质分类，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/数量或置换度的同系物质。现已提出一些进行试验的特别方法，可提供数据用于评估对水生生物的固有危险、生物积累和可降解性。更具体的指导见关于这些特性的各节。在本指导文件中，这些物质将被称为“复杂物质”或“多成分物质”。

A9.1.5 这些特性中的每一种(即水生急毒性、水生慢毒性、可降解性和生物积累)，都可能对专家也在所难免的复杂的解释问题。虽然已有国际公认的试验准则，而且应将这些准则用于得到的任何和所有新数据，但许多可用于分类的数据将不会是根据此类标准试验产生的。即使在标准试验已经使用的情况，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、聚合物等，仍会有困难的解释问题。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。降解数据可能生物的也可能非生物的，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，可用辛醇水分配系数表示。但它会受到许多其他因素的影响；这些影响因素也应予以考虑。

¹ 经合组织环境、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。

A9.1.6 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，包括类型和质量，然后在对照标准作评估时，对数据有共同的解释。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行分类，这种分类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在许多关键领域知会读者，并因此导致统一的分类办法，从而确保形成一个真正统一的自动分类系统。

A9.1.7 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 A9.2 节)。本节将涉及共同的数据源、采用质量标准的必要性、当数据集不完整或者有大的数据集导致分类不明确时如何分类、和其他经常遇到的分类问题。

A9.1.8 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具体质量标准，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。“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，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，以及为管理目的所需的数据。四种核心特性，即水生急毒性和慢毒性(第 A9.3 节)、可降解性(第 A9.4 节)和生物积累(第 A9.5 节)，将分别论述。

A9.1.9 解释问题的范围可能很广，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：

- (a) 将现有试验程序应用于一些类型的物质的困难；
- (b) 解释从这些“难以试验”的物质和从其他物质得到的数据的困难；
- (c) 解释从范围广泛的各种数据源得到的不同数据集的困难。

A9.1.10 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”：

- (a) **不易溶解物质**：这些物质很难进行试验，因为在做水生毒性试验过程中，它们在溶液制备、浓度保持和验证方面会产生问题。此外，有关这些物质的许多现有数据是使用超过水溶解度的“溶液”得到的，因此在为分类目的定义真正的 $L(E)C_{50}$ 或 NOEC 时产生严重的解释问题。对分隔行为的解释也会遇到问题，因为在水中和辛醇中的溶解性差可能再加上分析方法的敏感性不足。水溶解度可能很难确定，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；
- (b) **不稳定物质**：这种物质在试验系统中可快速降解(或起反应)，在试验和判读方面都引起问题。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；
- (c) **挥发性物质**：这种物质在用于开放系统中使用时会产生明显的试验问题，因此应对其作出评价，以确保恰当地保持接触浓度。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；

- (d) 复杂或多组分物质：这种物质，比如烃类混合物，通常不能溶解于同质溶液中，而多组分使监测不可能进行。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；
- (e) 聚合体：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，需要将这些数据用于按照分类标准解释试验数据；
- (f) 无机化合物和金属：这些物质可能与介质相互作用，产生各种水生毒性，这取决于 pH 值和水硬度等因素。对在某些水平上有益的基本元素进行试验时，也会遇到解释问题。对于金属和无机金属化合物来说，适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；
- (g) 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，即使做过仔细的溶液准备。胶质粒子的生成可导致对生物有效成分估计过高，即使是在“溶液”很明显地形成的时候。在水溶性、分配系数、生物积累和水生毒性研究中，都会出现相当大的解释问题；
- (h) 可电离物质：这种物质可根据介质中抗衡离子的水平，改变电离程度。比如，酸和碱会根据 pH 值的大小，表现出完全不同的分离行为；
- (i) 有色物质：由于遮挡入射光线，这种物质可在藻类/水生植物试验中造成问题；
- (j) 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会有%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，从而可能对毒性数据造成显著影响。

A9.1.11 这些都是确定数据的充分性、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他相关问题的详细指导，将在以下各节阐述。对急性和慢性水生毒性数据的解释，将在第 A9.3 节中阐述。该节将论述上述“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。该节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。

A9.1.12 现有范围广泛的各类降解数据，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，包括如何利用可得的半衰期、初级降解、土壤降解率及其是否适合用于外推定水生降解、和环境降解率。此外，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。该指导载于第 A9.4 节。

A9.1.13 可用于确定生物积累潜力的方法将在第 A9.5 节介绍。这一节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，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，特别是如何解决上述困难物质的特定问题，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。

A9.1.14 另外还有一节，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得的情况下。然而，并不是所有的物质都适合使用 QSAR 估计方法，第 A9.6 节中的指导将讨论这一问题。

A9.1.15 最后，还专门有一节阐述与金属及其化合物的分类有关的特殊问题。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，尽管不经由降解和生物积累破坏的原则仍然是重要的概念。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，有必要考虑物质是否可能形成金属离子并溶解于水。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，将在第 A9.7 节说明。

A9.1.16 虽然指导文件提出了一些有用的建议，说明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，应该将它视为一份活的文件，一部分说明制度的基本原则(比如以危害而不是风险为基础)和固定标准。还有一部分必须是使用本制度所积累经验的贮藏库，收藏为使显然是固定的标准能够适用于各种各样的非标准情形作出的解释。

A9.2 统一分类办法

A9.2.1 范围

在制订标准时，考虑到危险分类的现有制度，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、欧洲公路和铁路运输计划(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。为了解决所有不同部门(运输、供应和使用)的需要，有必要建立两个不同的子类——一个是水生急性危险子类，它包括三个类别；和一个水生长期危险子类，它包括四个类别。急性分类又分为两个急性危险类别(急性 2 和 3)，它们在考虑包装物品时通常不使用。对于散装运输的物质，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，既要考虑所有急性危险类别也要考虑长期危险类别。以下段落详细说明了在定义每一种危险类别时应使用的标准。

A9.2.2 分类类别和标准

急性和慢性水生毒性的危险类别及其相关标准在第 4.1 章 4.1.2.4 段和表 4.1.1 中给出。

A9.2.3 基本原理

A9.2.3.1 分类统一制度确认，对水生生物的固有危险，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管理制度确定。由于可对急性危险和慢性危险作出区分，因此，可对代表所识别的危险水平等级的这两种特性定义危险种类。很清楚，慢性毒性第 1 类所代表的危险，比慢性毒性第 2 类的危险更大。由于急性危险和长期危险代表不同的危险类型，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地用于物质分类，为所有管理制度奠定基础。

A9.2.3.2 根据标准定义的主要危险类，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，所导致的影响通常是亚致死的，如对生殖产生影响

响，并且是较长时间的接触引起的。在认识到长期危险是人们的主要关切(特别是那些经过包装的物品，它们在环境中的释放范围有限)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，大多数物质通常不易获得这类数据。另一方面，急性毒性数据通常较易得到，或者可通过高度标准化的协议获得。因此，如无法得到充分的慢毒性数据，这种急毒性被作为基本特性，用于确定急性和长期危险。然而，普遍认为，如果能够得到慢毒性数据，应将之用于确定长期危险类别。

A9.2.3.3 慢毒性和本身的归宿特性共同反映了物质的潜在危险。不能快速降解的物质具有更长期接触的可能性，因此应比可快速降解的物质划入更严格的类别(见 A9.3.3.2.2)。

A9.2.3.4 人们虽然认识到，急性毒性本身并不能够充分准确地预测慢性毒性，不可单独和直接地用来确定危害，但认为与生物积累潜力(即 $\log K_{ow} \geq 4$, 除非 $BCF < 500$)或者与长期接触潜力(也就是缺少快速降解能力)结合，它可作为适当的代用因素用于分类目的。显示急性毒性并有较高程度生物积累的、可快速生物降解的物质，这类物质当浓度大大降低时，常常显示出慢性毒性。同样，不能快速降解的物质有较高的潜力导致长期接触，从而可能产生长期毒性。因此，举例而言，在没有充分的慢毒性试验数据的情况下，如满足以下任何一项标准，应归入慢性第 1 类：

- (a) 任何适当水生物种的 $L(E)C_{50} \leq 1$ 毫克/升且生物积累潜力($\log K_{ow} \geq 4$, 除非 $BCF < 500$)；或
- (b) 任何适当水生物种的 $L(E)C_{50} \leq 1$ 毫克/升且不易快速降解。

A9.2.3.5 本制度各项核心要素的准确定义，详见第 A9.3、A9.4 和 A9.5 节。

A9.2.3.6 某些不易溶解物质，即通常被认为水溶解度 < 1 毫克/升的物质，在溶解度范围内进行的毒性试验中显示无急性毒性。然而，如果这样的物质的 $BCF \geq 500$ ，或者如不存在， $\log K_{ow} \geq 4$ (表示具有生物积累潜力)，而且该物质不快速降解，则应使用安全网分类，归入慢性第 4 类。对于这些类型的物质，短期试验的接触时间很可能太短，使物质稳定状态在试验生物体内的富集无法达到。因此，虽然在短期(急性)试验中没有检测到急性毒性，这种非快速降解并有生物积累性的物质，仍然很有可能产生慢性毒性作用，特别是因为这样缓慢的降解可能导致在水生环境中的长时接触。

A9.2.3.7 在确定水生毒性时，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分类中的某些类别。所选择的分类群，在大多数危害情况中代表“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集。通常将最小的现有毒性值用于定义危害类别。由于自然环境中有范围广泛的物种，所试验的三种只能是拙劣的代用品，因此，为谨慎起见，最小值被用来定义危险类别。在这样做时也认识到，物种敏感性的分布幅度可能有几个数量级，因此在自然环境中既存在较为敏感也存在较不敏感的物种。因此，当数据有限时，使用最敏感物种的试验数据，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。只有当有可能比一般能够做到的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。对这种大型数据集的评估，应小心谨慎。

A9.2.4 应用

A9.2.4.1 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他数据来源中查找下列数据元素：

- (a) 水溶解性;
- (b) 急性水生毒性(L(E)C_{50s});
- (c) 慢性水生毒性(NOECs 和/或等效的 EC_x);
- (d) 已知的可降解性(特别是易于生物降解的证据);
- (e) 在水中的稳定性数据;
- (f) 鱼类生物富集系数(BCF);
- (g) 辛醇/水分配系数(log K_{ow});

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,因为它们对于其他特性的数据解释很有帮助(见 A9.1.10 段)。

A9.2.4.2 为进行分类,首先需要查阅现有水生毒性数据。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)C₅₀>100 毫克/升,而慢性水生毒性大于 1 毫克/升,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。当出现这种情况,而且在试验介质中的水溶解度≥1 毫克/升时,也不必进行分类。

A9.2.4.3 如果已掌握慢性水生毒性数据,极限值将取决于物质是否可快速降解。因此,对于不能快速降解的物质和没有降解性资料的物质,极限水平要高于可确认能够快速降解的物质(见第 4.1 章、表 4.1.1 和 4.1.2)。

A9.2.4.4 当最小水生毒性数据低于 100 毫克/升时,且不掌握充分的慢性毒性数据,应首先确定毒性属于哪一种危险类别,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}≥4,或者物质不能被认为是可快速降解物质,则分别应用适当的长期危险类别和相应的急性危险类别。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,但最好还是使用试验得到的 BCF 数据。在有这一数据可得的情况下,应使用这一数据而不是分配系数。在这种情况下,BCF≥500 将表明,生物积累的情况已足以将其列入适当的慢性危险类别。如果物质既可快速降解,又有较低的生物积累潜能(BCF<500,或在无法得到该数值的情况下,log K_{ow}<4),则不能被划为长期危险类别,除非慢性毒性数据显示相反的情况(见 A9.2.4.3)。

A9.2.4.5 对于不易溶解物质,一般说来,在试验介质中的水溶解度<1 毫克/升的物质,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为慢性第 4 类。因此,如果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),则应划为慢性危险第 4 类。

A9.2.5 数据有效性

用于物质分类的数据可取自为了管理目的所要求的数据以及取自有关的参考文献,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,并用这些数据划定适当的危险类别。

A9.2.6 数据质量

A9.2.6.1 如何准确地使用现有数据，将在有关一节中阐述；但作为一般规则，根据标准国际准则和良好实验室做法生成的数据应比其他类型的数据优先使用。同样，也应认识到，可根据最好的现有数据进行分类。因此，如果没有现成数据符合上述质量标准，仍可使用不被认为是无效的数据进行分类。为有助于实现这一过程，编制了一份质量评分指南，并已广泛用于许多论坛；并一般采用符合下列类别：

- (a) 从经管理机构认可的官方数据源得到的数据，比如，欧盟水质量专著、美国环保局水质量标准等。这些数据可被认为是有效数据，可供分类使用。然而，不应假设这些是仅有的可得数据，而且应适当考虑相关报告的日期。可得的最新数据可能还没有被考虑；
- (b) 从公认的国际准则(如经合组织准则)或同等质量的国家准则中得到的数据。这些数据可以在考虑到以下各节提出的数据解释问题的情况下用于分类；
- (c) 从试验中得到的、即使不完全符合以上详述的准则，但遵循公认的科学原理和程序并且/或者在发表前经过同侪审查的数据。对于这些数据，如果没有记录所有的试验细节，需要作出某种判断、以确定是否有效。通常情况下，这样的数据可在分类办法内使用；
- (d) 通过明显偏离标准准则而且被视为不可靠的试验程序获得的数据，不应用于分类；
- (e) QSAR 数据。QSAR 数据的使用环境和有效性在有关各节中讨论；
- (f) 来自二级源，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。如果得不到质量 1、2 和 3 的数量，应对这类数据进行审查，以确定是否可用。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了影响(见 A9.3.6.2.3)。

A9.2.6.2 也可以根据不完整的毒性数据集进行分类，比如，所有三个食物链水平的数据都得不到。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，对所有的可得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，一个特定物种或分类群如可得到优质数据应比可能也可得到的质量较差的数据优先使用。但是，对于各级食物链的所有基本数据集来说，优质数据并不是总能得到。因此，对于无法获得优质数据的各层食物链，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品的数据)，而对于其他化学品则没有这么重要。这些困难将在第 A9.3 节做进一步的论述。

A9.2.6.3 通常，根据直接从所考虑的物质试验得到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，某些化学品，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，现有试验数据往往定义降解产物的危害性，因为进行过试验的将是这些产物。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。随后的降解可在确定是适用急性还是长期危险类别时予以考虑。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。

A9.3 水生毒性

A9.3.1 导言

识别一种物质对水生环境的危害的基础，是这种物质的水生毒性。分类是根据对鱼类、甲壳纲和藻类/水生植物的现有毒性数据进行的。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比较有可能找到，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他信息，可用于更好地描述水生危害。本节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。

A9.3.2 试验说明

A9.3.2.1 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品或有机金属物质，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性，因此应选用表现出最大毒性的结果。

A9.3.2.2 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(经合组织 1998)：

“急性毒性通常利用下列手段确定：鱼类 96 个小时 LC_{50} (经合组织试验准则 203 或同等准则)，甲壳纲动物，48 小时 EC_{50} (经合组织试验准则 202 或同等准则)和/或藻类 72 或 96 小时 EC_{50} (经合组织试验准则 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，有关其他物种，如浮萍属植物的数据，也可以考虑。”

一般而言，慢性试验要求在一个较长的时间里不断和持续的接触；时间长短可用从天到年的时间周期表示，或者更长，由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。根据经合组织试验准则 210(鱼类早期生命阶段)、202 第 2 部分或 211(水蚤繁殖)和 201(藻类生长抑制)生成的数据可以接受。其他有效的和在国际上认可的试验，也可以使用。NOEC 或其他等效 $L(E)C_x$ 应当使用。”

经济合作与发展组织的一个文件(OECD 2006)介绍了分析标准化生态毒性试验数据的主要统计学方法。

A9.3.2.3 值得注意的是，被引用作为分类实例的一些经合组织准则目前正在修订或正计划更新。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。

A9.3.2.4 关于用鱼类、甲壳纲动物和藻类进行可接受的试验的准则，载于许多来源(经合组织，1999；美国环保局，1996；美国试验材料学会，1999；国际标准化组织；欧盟)。经合组织

专著第 11 号“关于工业化学品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和试验指导来源。这份文件还提供了许多适当的试验方法。

A9.3.2.5 鱼类试验

A9.3.2.5.1 急性试验

急性试验通常用体重在 0.1 至 5g 的幼鱼进行，试验时间为 96 小时。这些试验的观察目标是死亡率。大于上述范围的鱼类和/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 96 小时试验得到的可接受数据，或者用不同大小的鱼类或试验时间进行这些试验的结果会影响被划入更危险的类别时，可使用这种数据。应使用符合经合组织试验准则 203(鱼类 96 小时 LC₅₀)或同等准则的试验进行分类。

A9.3.2.5.2 慢性试验

用鱼类进行慢性或长期试验，可从受精卵、胚胎、幼鱼或具有繁殖活力的成年鱼开始。符合经合组织试验准则 210(鱼类早期生命阶段)、鱼类生命周期试验(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化成功率、生长(身长和重量变化)、产卵成功率和存活率。从技术上讲，经合组织 210 准则(鱼类早期生命阶段)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，并被用于统一制度的分类目的。鱼类早期生命阶段的毒性数据比鱼类生命周期或繁殖研究数据更容易获得。

A9.3.2.6 甲壳纲动物试验

A9.3.2.6.1 急性试验

利用甲壳纲动物进行的急性试验通常始于第一龄期幼虫。对水蚤使用的试验时间为 48 小时。对于其他甲壳纲动物，比如糖虾或其他动物，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。僵化不动定义为对轻微的针刺没有反应。符合经合组织试验准则 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)或其他同等准则的试验均应用于分类。

A9.3.2.6.2 慢性试验

利用甲壳纲动物进行慢性试验通常也是从第一龄期幼虫开始，然后经历发育成熟和繁殖阶段。对于水蚤来说，21 天即可达到成熟，并孵卵 3 次。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、成长和存活情况。建议用符合经合组织试验准则 202 第 2 部分(水蚤繁殖)或美国环保局 850.1350(糖虾慢性毒性)或其他同等准则的试验进行分类。

A9.3.2.7 藻类/植物试验

A9.3.2.7.1 藻类试验

藻类在营养丰富的介质中栽培并接触试验物质。应使用符合经合组织试验准则 201(藻类生长抑制)的试验。标准试验方法采用接种剂内的细胞密度, 以确保在整个试验阶段(通常为 3 至 4 天)的指数增长。

藻类试验是一种既可提供急性又可提供慢性终点指标的短期试验。在此项研究中, 首选的观察终点指标是藻类生长率抑制, 因为它不取决于试验设计, 而生物量既取决于试验物种的生长率和试验时间, 也取决于试验设计的其他要素。如果所报告观察终点指标只是生物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。

A9.3.2.7.2 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终点指标值, 但只有急性 EC_{50} 被用于统一制度的分类。试验时间最长 14 天, 可在类似于藻类试验所用的营养丰富的介质中进行, 但可以增强强度。应使用符合经合组织 Lemna 试验准则(在拟订中)和美国环保局 850.4400(水生植物毒性, Lemna)的试验。

A9.3.3 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、藻类毒性试验和 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)。

A9.3.3.1 急性毒性

A9.3.3.1.1 用于分类目的的急性毒性概念指的是会对短期接触物质的生物体产生有害作用的物质固有特性。急性毒性通常用可使 50% 的试验生物体致命的浓度(LC_{50})来表示; 急性毒性可对 50% 的试验生物体产生可测量的有害效应(如水蚤的僵化不动), 或者使试验生物体(经过处理)的反应比对照(未处理)生物体的反应(如藻类生长率)降低 50%。

A9.3.3.1.2 确定的急性毒性小于百万分之一(1 毫克/升)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, 具有很大的危险性; 可将它们列入慢性和/或急性第 1 类。小数段可被接受为高于这一类的急性毒性分类。测量的急性毒性百万分之一至百万分之十(1-10 毫克/升)的物质, 划为急性毒性第 2 类; 急性毒性百万分之十至百万分之一百(10-100 毫克/升)的物质, 划为急性毒性第 3 类; 急性毒性在百万分之一百以上(>100 毫克/升)的物质, 被认为是实际上无毒物质。

A9.3.3.2 慢性毒性

A9.3.3.2.1 就分类而言, 慢毒性指的是指物质本身的特性, 可对与之接触的水生生物体产生有害影响, 接触时间的长短, 根据生物体的生命周期确定。这种慢性效应通常包括一系列的亚致死终点指标, 一般用未见效应浓度(NOEC), 或相应的 EC_x 来表示。典型的观察终点指标包括存活、生长和/或繁殖。慢性毒性接触时间可有很大的不同; 这取决于测量的试验终点指标和所用的试验物种。

A9.3.3.2.2 根据慢性毒性进行分类, 必须区分易于降解和不易于降解的物质。可快速降解的物质, 确定其慢毒性 ≤ 0.01 毫克/升, 可划为慢性 1 类。对高于这个类别的慢毒性分类, 可以使用十进制。测得物质的慢毒性介于 0.01 至 0.1 毫克/升之间者, 划为慢毒性的慢性第 2 类, 毒性在 0.1 至 1.0 毫克/升之间的, 划为慢

毒性的慢性第 3 类，而慢毒性在 1.0 毫克/升以上者，视为基本上无毒。对于不能快速降解的物质，或在掌握快速降解资料的情况下，可使用两个慢性类别：当确定慢性毒性 ≤ 0.1 毫克/升时，为慢性 1 类，当测得的慢毒性在 0.1 至 1.0 毫克/升之间时，为慢性 2 类。

A9.3.3.2.3 由于慢毒性数据在某些部门不象急毒性数据那么常见，因此在分类办法中，在没有充分的慢毒性数据的情况下，适当综合考虑急性毒性、不易降解性和/或潜在或实际的生物积累的特性，确定慢毒性的潜力。然而如果确有充分的慢毒性数据，便应使用这些数据，而不采用结合急性毒性加降解性和/或生物积累情况的办法。在这种情况下，应采用下列一般做法：

- (a) 如果已经掌握所有三个营养水平的充分的慢性毒性数据，可将其直接用于确定适当的慢性危害类别；
- (b) 如果已经掌握一个或两个营养水平的充分的慢性毒性数据，应检查是否有其他营养水平的急性毒性数据。先对已知营养水平的毒性数据作可能的划分，将之与对其他营养水平的急性毒性数据所作的划分进行比较。再按最为严格的结果做出最后分类；
- (c) 使用慢毒性数据取消或降低慢性毒性的分类，必须证明，所采用的 NOEC(s)(或相当的 EC_x)，对根据急性数据结合降解性和/或生物积累方面的数据所做分类，足以消除或减少对所有分类群的关注。这通常可通过证明急性毒性试验确定的最敏感物种的长期 NOEC 来实现。比如，如果已经根据鱼类的急性 LC_{50} 进行了分类，通常不可能利用无脊椎动物毒性试验的长期 NOEC 来撤消这一分类。在这种情况下，NOEC 通常需要从同一物种或者一个等效或更为敏感的物种的长期鱼类试验中得到。同样，如果分类是根据一个以上分类群的急性毒性数据做出的，可能需要每一个分类群的 NOECs。在将一种物质划为慢性第 4 类时，必须提供充分证据，证明每一个分类群的 NOEC 或相当的 EC_x 大于 1 毫克/升或该物质的水溶解度。

A9.3.3.2.4 对海藻/浮萍进行的试验，不能用于取消/或降低分类，因为：

- (a) 海藻和浮萍试验不是长期试验研究；
- (b) 急性与慢性的比值一般比较窄；而且
- (c) 终点指标更接近其他生物体的急性终点指标。

然而，如果所做的分类仅仅根据在单一藻类/水生植物试验中观察到的急性毒性(L(E)C₅₀)，但一系列其他藻类试验却有证据显示，这种分类群的慢性毒性(NOECs)属于分类较宽的毒性范围内，或大于 1 毫克/升时，这一证据可用于考虑取消或降低分类。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的慢性毒性试验方法。

A9.3.3.3 接触途径

在急性和慢性试验中，包括在淡水和海水介质中进行的，都采用以下 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、试验物种和管理要求。

A9.3.3.4 藻类的试验介质

藻类试验应在营养丰富的介质中进行，常见组分 EDTA 或其他螯合剂的使用应慎重考虑。在试验有机化学品毒性时，在基质的复合微营养物中需要有微量的 EDTA 一类的螯合剂；如果没有的话，藻类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，对采用高浓度螯合剂的试验和/或与铁比较螯合

剂化学计量过多的试验得到的数据，应进行严格的评估。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，藻类的生长会受到铁的限制，因此，对没有或较少铁和 EDTA 的试验数据，也应谨慎对待。

A9.3.3.5 QSAR 的使用

为分类目的，在没有试验数据的情况下，可利用 QSAR 预测非电解质物质、非亲电物质和其他不起反应物质对鱼类、水蚤和藻类的急性毒性(见第 A9.6 节“QSAR 的使用”)。通过像与生物受体起相互作用或者能够与细胞蛋白质形成硫氢键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，仍然存在问题。通过基本麻醉机理起作用的化学物质，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；它们产生的生物效应是其分配系数的函数。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，都会严重低估毒性。母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效应，如果这些效应长于急性试验期的一段时间后产生。

A9.3.4 证据权重

A9.3.4.1 质量最好的数据应作为分类的基本基础。分类最好建立在一级数据源的基础上。明确和完整地说明试验条件十分重要。

A9.3.4.2 在一个分类群已有多项研究的情况下，必须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表明的高毒性结果，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程度大或小的表面结果。在这些情况下，分类也需要专家判断。

A9.3.4.3 当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。在同一物种有较大数据集(4 或 4 个以上数值)的情况下，毒性数值的几何平均可作为该物种的代表性毒性数值。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期进行的试验结果综合在一起考虑，是不可取的。

A9.3.5 难以进行试验的物质

A9.3.5.1 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溶解在水介质中。此外，生物药效接触浓度应在试验期间内保持不变。某些物质很难在水生系统中进行试验，为此编制了帮助对这些物质进行试验的指导(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(经合组织，2000)。后一文件是有关难以进行试验的物质类型，以及确保对这些物质的试验作出有效结论需采取的步骤的良好信息源。

A9.3.5.2 然而，现有的许多试验数据可能使用了这样的试验方法：不符合当今被视为最佳的做法，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、氧化或生物降解等过程的作用下快速降解。在对藻类进行试验

时，有色物质有可能因削弱细胞生长所需的光线而影响试验终点指标。同样，作为高于溶解度的云状弥散物试验的物质，有可能导致错误的毒性测量结果。用带有试验物质的水柱加载，对于微粒或诸如金属等固体可能是一个问题。在就确定 $L(E)C_{50}$ 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。

- (a) **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，可能需要可对试验物质进行更新的接触途径。最好是半静态或流通条件。对于藻类试验，标准准则通常要求进行静态试验，因此会产生一些特殊的问题。虽然用其他接触途径对甲壳纲和鱼类动物进行试验时是可能的，这些试验通常按国际议定的准则中规定的静态条件进行。在这些试验中，必须容忍一定水平的降解和其他相关因素，并在计算毒性浓度时给予适当的考虑。有关如何解决这些问题的一些方法在 A9.3.5.6 中介绍。当发生降解时，考虑降解产物的毒性对试验记录的毒性的影响，也是十分重要的。在决定数据是否可用于分类时，将需要专家作出判断；
- (b) **降解**：当化合物在试验条件下出现分解或降解，应利用专家判断进行用于分类的毒性计算，其中包括是否考虑已知的或可能的分解产物。母物质和所有显著的毒性降解产物的浓度都是需要的。如果预期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浓度水平；
- (c) **饱和**：对于单一成分物质，分类应只根据在可溶解范围内观察到的毒性反应，而不是根据溶解度之上的总化学载荷。常常有现成的数据表明毒性水平大于在水溶解度。这些数据通常被视为无效数据，但作出一些解释或许是可能的。在对不易溶解物质进行试验时，通常会出现这些问题。有关这些数据应该如何解释的指导载于 A9.3.5.7(另见关于困难物质和混合物的水生毒性试验的指导文件)；
- (d) **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。这些措施不应导致试验介质的显著变化，如果这些变化有可能造成表面毒性的增加或减小从而相应改变试验物质的分类水平；
- (e) **络合物**：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，接触浓度的测量是很困难的，在某些情况下是不可能的。有些物质，比如石油分馏物、聚合物，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解成分(WSF)或水容纳成分(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。

A9.3.5.3 对于有机化合物的分类，最好有稳定的、能够进行分析测量的试验浓度。虽然最好能够使用测量的浓度，但如果在某些条件下额定浓度研究结果是仅有的可得有效数据时，也可以根据额定浓度研究结果进行分类。如果物质可能明显的降解或者从水柱中丢失，在对数据作出解释时必须小心谨慎；而且在相关和可能的情况下，在分类时应考虑到试验过程中损失的毒性物质。此外，金属有它们自己的一套困难，将另外讨论。表 A9.3.1 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。

A9.3.5.4 在最难进行试验的条件下，实际试验浓度很可能低于额定或预期试验浓度。当难以进行试验的物质的急毒性(L(E)C_{50s})估计值<1 毫克/升时，人们可以确信，划为急毒性第 1 类(和慢毒性第 1 类，如果适用的话)是有理由的。然而，如果估计的急毒性值大于 1 毫克/升，估计毒性可能低于实际毒性。在这种情况下，需要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。如果认为试验的难度在急毒性估计值大于 1 毫克/升而且试验浓度没有测量的情况下，会对实际试验浓度造成显著影响，那么在分类时使用这种试验应当谨慎。

A9.3.5.5 下面几段将对这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。许多困难的性质意味着在确定一项试验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。

A9.3.5.6 不稳定物质

A9.3.5.6.1 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，但实际上，在某些试验中要在整个试验过程中保持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。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，有些试验，特别是急性和慢性鱼类毒性试验，可以选择接触途径，以最大限度地减少不稳定造成的损失。在确定试验数据的有效性时，应将这一点考虑进去。

A9.3.5.6.2 当不稳定性是确定试验过程中接触水平的一个因素时，作数据解释的一个必要的前提条件是，存在在整个试验过程中的适当时间点上测量的接触浓度。如果没有至少在试验开始和结束时分析性地测量的浓度，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。在有测量数据的时候，则可根据数据解释指导考虑一些实际规则：

- (a) 在有试验开始和结束时的测量数据(对于急性水蚤和藻类试验来说是正常的)时，为了分类目的，L(E)C₅₀ 可根据试验开始和结束时的浓度的几何平均值计算。当试验结束时的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；
- (b) 在有介质更新期开始和结束时的测量数据(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；
- (c) 当毒性可归因于一种降解分解产物，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的几乎平均值计算 L(E)C₅₀。然后再回推母物质浓度值；
- (d) 类似的原则也可用于慢性毒性试验的测量数据。

A9.3.5.7 不易溶解物质

A9.3.5.7.1 这些物质通常被认为是在水中的溶解度<1 毫克/升的物质，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，溶解浓度经常很难测量。对于许多物质来说，在试验介质中的真正溶解度是未知的，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，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。

A9.3.5.7.2 最好利用适当的溶解技术以及在水溶解范围内准确测量的浓度进行试验。在有这些试验数据的时候，与其他数据相比，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，都不可能利用测量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：

- (a) 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 $L(E)C_{50}$ 等于或低于测量的水溶解度。在这种情况下，或许应确定为慢性第 1 类和/或急性第 1 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生物体造成实际影响的可能性。如果认为这可能是造成观察到的效应的原因，则应认为试验结果无效，不能用于分类目的；
- (b) 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 $L(E)C_{50}$ 大于测量的水溶解度。在这种情况下，应考虑慢性第 4 类是否适用。在作出物质显示无急性毒性决定的时候，应考虑到用来达到最大溶解浓度的技术。如果不认为这些技术是适当的，则应认为试验结果无效，不能用于分类目的；
- (c) 如果物质的水溶解度低于分析方法的检测极限，而且记录到急性毒性，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，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 大于水溶解度。也应充分考虑上述质量标准；
- (d) 在有慢性毒性数据的情况下，应采用相同的一般规则。如果对测量浓度的考虑不能证明这些数据有效，则用来达到最大溶解浓度的技术应被视为是适当的。

A9.3.5.8 造成浓度降低的其他因素

其他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。

- (a) 沉淀：在试验过程中，由于多种原因，可能会产生沉淀。一个常见的解释是，物质并没有真正溶解，尽管看起来颗粒已经不存在了；试验中发生的凝聚会导致沉淀。在这种情况下，为了分类目的，可认为 $L(E)C_{50}$ 或 NOEC 是基于试验结束时的浓度。同样，通过与介质发生反应也可能出现沉淀。这种现象在上文不稳定性项下考虑；
- (b) 吸收：具有较高吸收特性的物质，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结束时的浓度表示；
- (c) 生物积累：物质在试验生物体内积累会出现一些损失。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。用于分类的 $L(E)C_{50}$ ，或 NOEC 可根据试验开始和结束时的浓度几何平均值计算。

A9.3.5.9 试验介质的扰动

A9.3.5.9.1 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。如果没有有关盐的数据可供使用，一般按与阴离子或阳离子一样的方法，将盐划为受到最严格分类的离子。如果影响浓度仅与一种离子有关，在对盐进行分类时，应将分子量的差异考虑进去，即通过乘以比值 $MW_{\text{salt}}/MW_{\text{ion}}$ 来修正影响浓度。

A9.3.5.9.2 聚合物在水生系统中通常是不存在的。可分散聚合物和其他高分子量物质有可能扰乱试验系统，干扰氧的吸收，并产生机械效应或二次效应。在考虑来自这些物质的数据时，应将这些因素考虑进去。然而，许多聚合体的行为有些像络合物，有相当大的低分子量成分可以从整体聚合物中沥出。这一问题将在下面作进一步讨论。

A9.3.5.10 络合物

A9.3.5.10.1 络合物的特点是它具有各种各样的化学结构，常常属于同系物，但水溶解性和其他物理化学特性却有着很大的不同。加到水中后，溶解和不溶解成分之间会达到一种具有物质加载特性的平衡。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是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。

A9.3.5.10.2 聚合物是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/分散行为。聚合物本身可以溶解而不会出现变化，(真正的溶解度与粒度有关)，可以分散，或者低分子量成分组成的部分可能进入溶液内。在后面一种情况中，聚合体的试验实质上就是检测低分子量物质从整体聚合物中沥出的能力，并确定这种沥出物是否有毒性。因此，可以像考虑复杂混合物那样考虑，因为：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 A9.3.1: 难以进行试验的物质的分类

特 性	困难的性质	与分类的相关性
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视在溶解度时, 需要作出专家判断, 以确定这些效应是来自化学毒性还是物理效应; 如果没有观察到任何效应, 则应证明已经达到完全饱和和溶解。
低浓度毒性	达到/保持所要求的接触浓度。进行接触分析。	根据毒性<1 毫克/升进行分类。
挥发性	保持和测量接触浓度。	应根据可靠的浓度测量进行分类。
光降解	保持接触浓度。分解产物的毒性。	分类需要专家判断, 应根据测量的浓度。应确定重要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, 应根据测量的浓度, 需要说明重要分解产物的毒性。
易于氧化	达到、保持和测量接触浓度。化学结构改变或分解产物的毒性。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, 应根据测量的浓度, 需要说明重要分解产物的毒性。
易于磨蚀/转化 (指金属/金属化合物)	达到、保持和测量接触浓度。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, 应根据测量的浓度, 需要说明重要分解产物的毒性。
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, 应根据测量的浓度, 需要说明重要分解产物的毒性。
吸收	保持接触浓度。进行接触分析。因试验物质的可用性降低引起的毒性减轻。	分类应使用可用物质的测量浓度。
螯合	区别介质中的螯合和非螯合成分。	分类应使用生物有效物质的测量浓度。
有色	光线减弱(藻类问题)。	分类必须将毒性效应与由于光线减弱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。	分类应使用测量的浓度。
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, 应根据测量的浓度, 需要说明重要分解产物的毒性。
多组分	准备有代表性的试验批次。	认为与复杂混合物相同。

A9.3.6 数据质量的解释

A9.3.6.1 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, 以减少这些外在可变性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, 提高试验结果的精确性、可复制性和一致性。

A9.3.6.2 数据等级制度

A9.3.6.2.1 分类应根据高质量的原始数据。应优先选用那些符合经合组织试验准则或同等准则和良好试验室做法(GLP)的数据。最好使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方法所做的试验结果, 比

如 ISO 或 ASTM 方法。在没有相关良好实验室做法数据时，可以使用看似符合被认可的但缺乏良好实验室做法规定的试验准则的试验得到的数据。

A9.3.6.2.2 Pedersen 等人(1995 年)提出的数据质量评分制度，与目前正在使用的许多其他制度是一致的，其中包括美国环保局在它的 AQUIRE 数据库中使用的制度。也可以参阅 Mensink 等人(1995 年)在讨论数据质量时提出的评分制度。Pedersen 等人描述的数据质量评分制度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是供优先选用的数据。

A9.3.6.2.3 在统一制度下的分类所用的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。这样的审查应包括试验条件汇总，汇总应足够详细，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，如可得到原始数据的海事组织/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。

A9.3.6.2.4 在没有经验试验数据的情况下，可以使用有效的水生毒性定量结构活性关系(QSARs)。只要试验数据是有效的，试验数据应比 QSAR 预测数据优先使用。

A9.4 降解

A9.4.1 导言

A9.4.1.1 可降解性是决定物质对环境的潜在危害的重要固有特性之一。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。

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、以及其他物质的存在和浓度。因此，在水生危险分类范围内对降解特性的解释，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。本节的目的是提供有机物质降解数据解释指导。指导是根据对上述有关水生环境物质降解的各方面所做的分析提出的。根据这一指导，提出了一个将现有降解数据用于分类目的的详细判定方案。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、水生沉淀物和土壤中转化的模拟数据，以及 BOD₅/COD 数据和用于估计水生环境中可快速降解能力的技术。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非生物转化数据，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数据。

A9.4.1.2 第 4.1 章将降解一词定义为有机分子分解为较小的分子，并最终分解为二氧化碳、水和盐类。适用于有机化合物的可降解概念对于无机化合物和金属来说意义不大，或者没有什么意义。物质可能通过正常的环境过程转化，或者增加或者减小毒性物质的生物可用性。因此，本节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 A9.7 节讨论。

A9.4.1.3 有关物质的降解特性数据，可从标准化试验或其他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。本节将给出指导，更详细的资料见描述现有方法(附录 A9.一)和影响在水生环境中降解的因素(附录 A9.二)的两个段落。

A9.4.2 对可降解性数据的解释

A9.4.2.1 可快速降解性

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适用分类标准。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，说明如何解释水生环境中“快速降解”一词所包括的三种类型的降解数据(见 A9.1.8、A9.1.9、A9.1.2.3.1 至 A9.2.3.4 和第 4.1 章 4.1.2.11.3 段的定义)。

A9.4.2.2 易于生物降解性

A9.4.2.2.1 经合组织试验准则 301(经合组织 1992)给出了易于生物降解性的定义。所有可降解到比标准的经合组织易于生物降解性试验或类似试验中的合格水平更高一级水平的有机物质均应被视为易于生物降解，因此也被认为可快速降解。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，而这些条件需要评价，以表明试验是否满足易于生物降解性试验的要求。因此需要在数据用于分类目的之前，对数据的有效性做出专家判断。然而，在对一种试验物质的易于生物降解性做出结论之前，至少应该考虑下列参数。

A9.4.2.2.2 试验物质浓度

在经合组织易于生物降解性试验中，使用浓度相对较高的试验物质(2-100 毫克/升)。然而，在这样高的浓度下，许多物质可能对接种体具有毒性，导致在试验中降解缓慢，尽管物质在较低的非毒性浓度下可能快速降解。利用微生物进行的毒性试验(如经合组织试验准则 209 “活性污泥呼吸抑制试验”、ISO 9509 氮化合物抑制试验或 ISO 11348 发光细菌抑制试验)，可以显示试验物质的毒性。如果抑制可能是物质不易于降解的原因，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。可针对每一种具体情况考虑将这种试验结果用于快速降解物质分类标准，不过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。

A9.4.2.2.3 时间窗口

统一标准(见 4.1.2.11.3)包括所有易于生物降解性试验在 10 天内达到合格水平的一般要求。这可能不符合经合组织试验准则 301。该试验准则规定经合组织易于生物降解性试验适用为期 10 天的时间窗口，但 MITI I 试验(经合组织试验准则 301C)除外。在封闭瓶试验(经合组织试验准则 301D)中，如果在 10 天后不做测量，可采用为期 14 天的时间窗口。此外，生物降解试验的参考材料中常常只提供有限的信息。因此，作为一种注重实效的方法，如果得不到 10 天时间窗口的信息，则在 28 天后得到的降解百分比数据可直接用于评估易于生物降解性。然而，只有现有试验数据和不适用 10 天时间窗口的试验所得到的数据，才应接受。

如果有充分理由，复杂的、多成分物质可以不坚持 10 天的窗口条件，而适用 28 天的通过水平。这类物质的成分，即使是在它们最纯净的商业形态下，仍可能有不同的链长、等级和/或分支不为或立体异构体。对每一个单项成分进行试验，可能既昂贵又难以操作。如果对一个复杂的多成分物质进行了试验，并预料发生了单个结构有序的生物降解，则不应适用 10 天的窗口条件，解释试验结果。然而应进行逐个评估，看对这种物质进行生物降解试验是否能得到关于其降

解性的重要信息(例如关于所有成分的降解性信息), 还是需要对复杂的多成分物质, 认真选择其中的单个成分, 查清其降解性。

A9.4.2.3 BOD₅/COD

只有当没有其他有关降解的测量数据可供使用时, 方可将 5 天生化需氧量(BOD₅)信息用于分类目的。这样, 应优先使用易于生物降解性试验和有关水生环境中可降解性的模拟研究得到的数据。BOD₅ 试验是一种传统的生物降解试验, 现已被易于生物降解性试验所替代。因此, 今天不能再为评价物质的易于生物降解性而进行这一试验。然而, 在没有其他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), 并将计算结果代替化学需氧量(COD)来使用。

A9.4.2.4 其他令人信服的科学证据

A9.4.2.4.1 水生环境中的快速降解, 也可以用第 4.1 章 4.1.2.11.3 (a)和(b)段中所提到者以外的其他数据来说明。这些数据可以是生物和/或非生物降解数据。只有在证明降解产物不能被定为水生环境危险品, 也就是它们不符合分类标准时, 方可使用原始降解数据。

A9.4.2.4.2 要符合 4.1.2.11.3 (c)段所述标准, 要求物质在水生环境中在 28 天期间内降解到 >70%的水平。如果假设一级动力学——这在大多数水生环境中常见的低物质浓度下是合理的假设, 则降解率在 28 天试验期内将保持相对稳定。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 $t_{1/2} < \ln 2/0.043 = 16 \text{ 天}$ 。

A9.4.2.4.3 而且, 由于降解过程随着温度的变化而变化, 因此, 在评估环境中的降解时, 也应当考虑这一参数。应使用在实际的环境温度下进行的研究得到的数据进行评价。当需要比较在不同温度条件下进行的研究得到的数据时, 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。

A9.4.2.4.4 对数据是否符合这一标准的评估, 应针对具体情况由专家作出判断。然而, 有关对有可能用于表明在水生环境中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, 人们认为只有水生生物降解模拟试验得到的数据可直接使用。然而, 其他环境区间的模拟试验数据也可以考虑, 但这些数据在使用之前, 一般需要先作出更多的科学判断。

A9.4.2.4.5 水生模拟试验

水生模拟试验是在试验室中进行的试验, 但模拟环境条件, 而且使用天然样本作为接种体。水生模拟试验结果可直接用于分类目的, 如果模拟的是地表水中实际的环境条件, 也就是:

- (a) 物质浓度合乎一般水生环境中的实际浓度(通常在低 $\mu\text{g/l}$ 范围内);
- (b) 来自相关水生环境的接种体;
- (c) 合乎实际的接种体浓度(10^3 - 10^6 细胞/ml);
- (d) 合乎实际的温度(如 5°C 至 25°C); 而且
- (e) 确定最终降解率(即确定整个生物降解路径中的矿化率或个体降解率)。

在这些条件下在 28 天内至少降解 70%, 也就是半衰期 < 16 天的物质, 被视为可快速降解。

A9.4.2.4.6 实地调查

与实验室模拟试验平行的是实地调查或 mesocosm 试验。在这种研究中，可以考察化学品在环境或环境封闭域内的正常演化过程和/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生成不可降解中间产物，而且考虑到由于比如被沉淀物吸附或从水生环境中挥发等其他过程被从水生系统中除去的成分。

A9.4.2.4.7 监测数据

监测数据可显示，污染物从水生环境中去除的情况。然而，这些数据很难用于分类目的。在使用这些数据之前，应考虑以下几个方面：

- (a) 这种去除是降解的结果，还是其他过程产生的结果，比如稀释或在环境区间之间的分布(吸附、挥发)？
- (b) 不可降解中间物的生成是否排除在外？

只有在能够证明最终降解结果去除满足快速降解标准时，方可考虑将这些数据用于分类目的。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。

A9.4.2.4.8 固有生物降解试验

在固有生物降解试验(经合组织试验准则 302)中降解超过 70%的物质，有最终生物降解的潜力。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，增加了生物降解的潜力。因此，正结果一般不能被解释为在环境中可快速降解的证据²。

A9.4.2.4.9 污水处理厂模拟试验

污水处理厂条件模拟试验(如经合组织试验准则 303)得到的结果，不能用于评估在水生环境中的降解。主要原因是，污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，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。

A9.4.2.4.10 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降解率大致相同的非吸附(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

² 关于相当于经合组织慢性第 4 类统一标准的降解数据的解释，欧盟物质的环境危险分类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这一分类标准的物质进行分类的基础。

有关的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)。在这方面使用的条件为：

- (a) 试验方法不得使用预接触(预适应)微生物；
- (b) 在每个试验中的适应时间应有限制，试验终点指标应仅仅涉及矿化，合格水平和达到这一水平的的时间应分别为：
 - (一) 在 14 天内，MITI II 合格水平>60%
 - (二) 在 7 天内，Zahn Wellens 试验>70%。

此，当一种物质在土壤模拟试验中已经表明可快速降解时，它很有可能也会在水生环境中快速降解。因此建议，只要试验确定可在土壤中快速降解，就足以证明会在地表水中快速降解，条件是：

- (a) 没有发生土壤微生物的预接触(预适应)；而且
- (b) 用于试验的物质浓度合乎环境中的实际浓度；而且
- (c) 物质在 28 天内最终降解，半衰期<16 天，相当于降解率>0.043/天⁻¹。

上述论点被认为对在有氧条件下的沉淀物降解数据同样是有有效的。

A9.4.2.4.11 厌氧性降解数据

有关厌氧性降解的数据不能用于确定一种物质是否应被视为可快速降解，因为一般认为水生环境是比如像用于水生危险分类的水生微生物生活的一种有氧环境。

A9.4.2.4.12 水解

只有在 pH 值为 4-9 的范围内确定的最长半衰期 $t_{1/2}$ 小于 16 天时，方考虑将水解数据(比如经合组织试验准则 111)用于分类目的。然而，水解并不是最终的降解，可能生成各种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，生成的水解产物并不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。

当物质能够快速水解时(比如 $t_{1/2}$ <几天)，这一过程将是在生物降解试验中确定的降解的一部分。水解可能是生物降解的初始转化过程。

A9.4.2.4.13 光化学降解

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

A9.4.2.4.14 降解估计

A9.4.2.4.14.1 现已提出一些 QSAR, 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，水解半衰期只能十分谨慎地用于分类，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 的适用性很有限，只能预测少数化学品类别的水解潜力。比如，QSAR 程序 HYDROWIN(1.67 版，锡拉库扎研究公司)，只能预测小于 1/5th 具有明确(精确)分子结构的现有欧盟物质的水解潜力(Niemelä, 2000)。

A9.4.2.4.14.2 一般而言，目前还没有估算有机物质生物降解程度的定量估计方法(QSAR)能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 BIOWIN 3.67 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，物质应被视为不可快速降解(经合组织，1994；Pedersen 等人，1995 和 Langenberg 等人，1996)。此外，还可使用其他一些(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，物质不能快速降解的 QSAR 预测是比使用缺省分类更好的分类证据。

A9.4.2.4.15 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。由于挥发性只代表化学物质从水相中去除，因此亨利定律常数不能用于评估与水生危险分类有关的物质降解性。然而，对于在环境温度下是气体的物质，可以在这方面进行进一步的考虑(另见 Pedersen 等人，1995)。

A9.4.2.5 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——可得的情况下，物质应被视为不可快速降解。

A9.4.3 一般的解释问题

A9.4.3.1 复杂物质

化学品水生环境危险分类的统一标准主要集中在单个物质上。某些类型的固有复杂物质属于多组分物质。它们一般属于自然起源，偶而需要予以考虑。从矿物油或植物材料中产生或提取的化学品可能属于这种情况。在管理方面，这些复杂化学品通常被视为单一物质。在大多数情况下，在一定的碳链长度和/或置换度范围内，它们被定义为同系物质。在这种情况下，可以预见，在可降解方面不会有显著的差异，因此可根据复杂化学品试验结果，确定可降解度。一个例外情况是当发现边缘状态的降解时，因为在这种情况下，某些单个物质可能会快速降解，而其他物质不会快速降解。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复杂物质的主要部分时(如超过 20%，或者对于有害成分而言，甚至更低一些)，应该将该物质视为不可快速降解。

A9.4.3.2 物质的可用性

A9.4.3.2.1 有机物质在环境中的降解，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，物质溶解在包围着微生物的水相中，是细菌、真菌和基质之间最直接的接触途径。

A9.4.3.2.2 研究物质可降解性的现有标准方法是针对易于溶解的试验化合物制定的。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 毫克/升试验物质，因此，水溶解性低的物质很难达到足够的可用性。对于一些轻微溶解物质，可使用连续混合和/或增加接触时间的试验，或者采用试验物质浓度低于水溶解度的特殊设计的试验。

A9.4.3.3 试验时间小于 28 天

A9.4.3.3.1 有时有报告说，在标准试验规定的 28 天试验期结束之前终止的试验中出现降解现象(如 MITI, 1992)。当所得到的降解水平大于或等于合格水平时，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。一种可能性是试验时间太短，化学结构有可能在为期 28 天的生物降解试验中降解。如果在短时间内出现大量的降解现

象, 可将这种情况与 $BOD_5/COD \geq 0.5$ 标准或者与在 10 天的时间窗口内降解的要求进行比较。在这种情况下, 可认为物质易于降解(因此可快速降解), 条件是:

- (a) 最终生物降解率在 5 天内 $>50\%$; 或者
- (b) 在这段时间内的最终降解率常数 $>0.1/\text{天}^{-1}$, 相当于半衰期 7 天。

A9.4.3.3.2 提出这些标准的目的是为了确实出现快速矿化现象, 虽然试验是在 28 天前和达到合格水平之前结束的。在解释那些不符合规定的合格水平的试验数据时, 必须特别小心。必须考虑低于合格水平的生物降解是否是由于物质的部分降解, 而不是完全矿化。如果部分降解是所观察到的生物降解的可能解释, 则应将物质视为不能迅速生物降解。

A9.4.3.4 一次生物降解

在某些试验中, 只有比如通过使用特定或群特定化学分析方法监测试验物质的降解来确定母体化合物的消失(即一次降解)。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危险分类标准时, 才可用一次生物降解数据证明快速降解性。

A9.4.3.5 甄别试验的结果互相矛盾

A9.4.3.5.1 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, 利用适当的生物降解试验方法做过多次试验的一种物质, 如果出现相互矛盾的结果, 可通过“证据权重方法”进行解释。这意味着, 如果在对一种物质进行的迅速生物降解试验得到的结果, 是正结果(比如, 降解率高于合格水平)和负结果都有时, 则应将质量水平最高和记录最好的数据用于确定物质的易于生物降解性。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)接种体)的情况下, 应将易于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, 在确定是否可以用它们之前, 应先进行认真的评估。

A9.4.3.5.2 因此, 有许多因素可以解释甄别试验得到的相互矛盾的生物降解数据:

- (a) 接种体;
- (b) 试验物质毒性;
- (c) 试验条件;
- (d) 试验物质溶解度; 以及
- (e) 试验物质挥发特性。

A9.4.3.5.3 接种体对试验物质降解的适合性取决于是否存在适当的降解促进物及其数量的多少。当接种体取自先前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。但对于被无所不在地大量使用并或多或少地连续广泛释放的有些物质来说, 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, 以查明在微生物群体适应性方面存在的差异是否是原因。

A9.4.3.5.4 如上所述, 许多物质在易于生物降解试验中的相对较高浓度下对接种体可能具有毒性, 或者有抑制作用。特别是在经过改进的 MITI (I) 试验(经合组织试验准则 301 C)和测压呼吸计量试验(经合组织试验准则 301 F)中, 规定采用较高的浓度(100 毫克/升)。最低试验物质浓度在封闭瓶试验(经合组织试验准则 301 D)中有明确的规定, 浓度为 2-10 毫克/升。对毒性效应可能

性的评估，可通过在易于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(经合组织试验准则 209)、硝化抑制试验(ISO 9509)，或者在无其他微生物毒性试验可得时生物发光抑制试验(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。如果物质在接近环境的浓度下没有抑制作用，则可将甄别试验中测量的最大降解值用作分类依据。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，因为可能使用了较低的无抑制性物质浓度，从而可以更可靠地显示接近实际环境条件的物质生物降解半衰期。

A9.4.3.5.5 当试验物质的溶解度低于试验中使用的浓度时，该参数可能是测量的实际降解水平的限制因素。在这种情况下，应以采用最低试验物质浓度的试验结果为准，也就是通常是封闭瓶试验(经合组织试验准则 301D)。一般说来，DOC 消沉试验(经合组织试验准则 301A)和经过改进的经合组织甄别试验(经合组织试验准则 301E)，不适合用于不易溶解物质的生物降解试验(比如，经合组织试验准则 301)。

A9.4.3.5.6 挥发性物质只能在像封闭瓶试验(经合组织试验准则 301D)、MITI I 试验(经合组织试验准则 301C)和测压呼吸计量试验(经合组织试验准则 301F)这样的封闭系统内进行试验。对于其他试验的结果应作出认真评价，只有在能够证明(比如通过质量平衡估计)试验物质的去除不是挥发的结果时，才能考虑它们。

A9.4.3.6 模拟试验数据的变化

某些高优先化学品可能有许多模拟试验数据可得。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试验条件的差异。所有这些可能都与环境有关。分类时，应从这种试验中观察到的半衰期范围的高端选择合适的半衰期，办法是，采用证据权重方法并将所做试验的切合实际性和与环境条件的相关性考虑进去。一般来说，在评价水生环境中的快速降解性时，地表水模拟试验数据优先于水生沉淀物或土壤试验数据。

A9.4.4 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品的分类。

一种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) 物质在为期 28 天的易于生物降解试验中显示可快速生物降解。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在 14 天时间窗口内或者在试验结束以后评定通过水平；或者
- (b) 物质在地表水模拟试验³中显示最终降解，半衰期<16 天内(相当于在 28 天内降解>70%)；或者
- (c) 物质在水生环境中显示一次降解(生物或非生物降解)，半衰期<16 天内(相当于在 28 天内降解>70%)，而且可以证明，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) 物质在水生沉淀物或土壤模拟试验³中显示最终降解，半衰期<16 天内(相当于在 28 天内降解>70%); 或者
- (e) 在只有 BOD₅ 和 COD 数据的情况下，BOD₅/COD 比值≥0.5。同样的标准适用于试验时间少于 28 天的易于生物降解试验，条件是半衰期<7 天。
- 如果上述各类数据都不具备，可将物质视为不可快速降解物质。这种判定可以由至少满足下列标准之一来支持：
- (一) 物质在固有生物降解试验中被证明不是固有的可降解；或者
 - (二) 科学上有效的 QSAR, 比如生物降解概率程序，预测物质可缓慢地生物降解，快速降解分值(线性或非线性模型)<0.5；或者
 - (三) 根据间接证据，比如，对结构类似物质的认识，物质被视为不能快速降解；或者
 - (四) 没有其他降解数据可得。

A9.5 生物积累

A9.5.1 导 言

A9.5.1.1 生物积累是决定物质对环境的潜在危害的重要固有特性之一。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。在关于物质的人类健康和环境影响的统一综合分类制度中(经合组织，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，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，生物富集定义为物质通过食物链的积累和转化，导致在营养链高端的生物体内浓度的增加(欧洲委员会，1996)。对于大多数有机化学品来说，从水中摄取(生物浓度)被认为是最主要的摄取途径。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)衡量生物积累潜力。由于这些原因，本指导文件只考虑生物浓度，通过食物或其他途径的摄取则没有讨论。

A9.5.1.2 物质的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从生物体排泄等。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)的环境条件作出评估。以这一指南为基础，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。本节的重点是有机物质和有机金属。金属的生物积累在第 A9.7 节也有讨论。

A9.5.1.3 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。在解释用于分类目的的这种生物浓度数据时，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，附加了两个附录。这两个附录介绍了现有方法(附件 9 附录三)和影响生物浓度潜力的因素(附件 9 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 9 附录五)和参考文献清单(附件 9 附录六)。

³ 模拟试验应反映实际环境条件，比如较低的化学品浓度、接近实际的温度，以及使用先前没有接触过化学品的环境微生物。

A9.5.2 生物浓度数据的解释

A9.5.2.1 物质的环境危险分类，通常是根据其环境特性的现有数据确定的。只有在很少的情况下，产生试验数据的主要目的才是为了便于分类。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，说明如何在危险分类中解释现有试验数据。

A9.5.2.2 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 是按生物体内浓度与处于稳定状态的水中浓度作比较测量的，或者是利用摄入率常数(k_1)和消除率常数(k_2)(OECD 305, 1996)作估计。一般说来，有机物质的生物富集潜力与物质的亲油性有很大关系。亲油性的一个测量标准是正辛醇-水分配系数(K_{ow})。亲脂性非离子有机物质在生物体内的最低新陈代谢或生物转化与生物浓缩系数存在相关关系。因此， K_{ow} 系数常常用于根据 $\log BCF$ 和 $\log K_{ow}$ 之间的经验关系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，将在下面与关于需要特别注意的化学品种类评估的指导一并给出。

A9.5.2.3 生物富集系数(BCF)

A9.5.2.3.1 生物富集系数定义为化学物质在生物中的浓度和在稳定状态的周围介质(这里为水)中的浓度之间的重量比。因此，可通过在稳定状态条件下进行的试验，根据测量的浓度得到 BCF。然而，BCF 也可以作为一级摄取和消除率常数之比计算得到；这是一种不需要平衡条件的方法。

A9.5.2.3.2 通过试验确定鱼类生物浓度的各种试验准则已编成文件并受到采纳，其中最普遍的是经合组织试验准则(经合组织 305, 1996)。

A9.5.2.3.3 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} 。

A9.5.2.3.4 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加以说明；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。如果提供适当的描述(比如，根据良好试验室做法)，能够确认有效性标准得到满足，即可将试验视为高质量研究。此外，还必须采用适当的分析方法，对水中和鱼类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 节)。

A9.5.2.3.5 如果 BCF 值质量低或者不可靠，有可能提供虚假和过低的 BCF 值；比如使用试验物质在鱼类和水中的测量浓度，但测量是在没有达到稳定状态条件的很短的接触时间后进行的(参看经合组织 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，应对它们进行谨慎评价，并应考虑使用 K_{ow} 值。

A9.5.2.3.6 如果没有鱼类物种的 BCF 值可供使用，可以使用其他物种的高质量 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。

A9.5.2.3.7 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，主要指大分子的膜渗透动力降低或者油脂溶解度减小。因此将会出现这些物质在生物体内较低的生物药效率和摄取。其他因素包括试验中的人为因素，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 试验数据时，需要特别谨慎，因为与较低亲脂性物质的 BCF 值相比，这些数据的不确定性高得多。

A9.5.2.3.8 不同试验物种的 BCF

A9.5.2.3.8.1 用于分类目的的 BCF 值建立在整个机体的测量结果的基础上。如前所述，最佳分类数据是利用经合组织 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，较小的生物体有较高的鳃表面与重量之比，所以较小生物体会比较大生物体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测量浓度的基础上，用于生物浓度试验的生物体(鱼)的大小，要比摄取阶段所用时间更为重要。这样，如果在生物浓度试验研究中使用了大鱼，比如成年鲑鱼，应评价摄取期是否够长，能够达到稳定状态，或者能够准确确定动态摄取率常数。

A9.5.2.3.8.2 此外，在将现有数据用于分类时，BCF 值有可能是从几种不同的鱼类或其他水生生物种(比如蛤)，或从鱼类的不同器官中得到的。因此，要对这些数据进行相互比较并与标准进行比较，需要有一个公认的基础或标准化方法。人们注意到，在鱼类或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，在对各种不同鱼类物种的 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，通用方法是用通用的脂类含量来表示 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，第一步是利用鱼类或器官内的相对脂肪含量，按脂类百分比%计算 BCF 值(参看有关试验物种典型脂肪含量的文献/试验准则)。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(即小鱼)整个机体的 BCF 值。最常使用的缺省值为 5%(Pedersen 等人，1995)，因为这是经合组织 305(1996)中使用的小鱼的平均脂类含量。

A9.5.2.3.8.3 一般说来，以这一常见脂类含量表示的最高的有效 BCF 值用于确定与统一分类标准的 BCF 临界值 500(见第 4.1 章，表 4.1.1)比较的基于湿重的 BCF 值。

A9.5.2.3.9 放射性同位素示踪物质的使用

A9.5.2.3.9.1 使用放射性同位素示踪物质，可有助于对水和鱼类样本进行分析。然而，除非与特定的分析方法结合起来，总的放射性测量可能反映母体物质以及可能的代谢物和代谢产生的碳的存在。这些物质已经以有机分子的形式与鱼类组织融合在一起。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。

A9.5.2.3.9.2 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，测量的 BCF 值包含代谢物的 BCF 值。对于某些物质而言，正是代谢物最具毒性，而且有最大的生物富集潜力。因此，母体物质以及代谢物的测量，对于这种物质的水生危害(包括生物富集潜力)的解释具有重要的意义。

A9.5.2.3.9.3 在使用放射性同位素示踪物质进行的试验中，常常在鱼类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造成的(Comotto 等人，1979; Wakabayashi 等人，1987; Goodrich 等人，1991; Toshima 等人，1992)。在鱼类不吃东西的时候，胆囊内的物质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，喂养方式可能对测量的 BCF 值有显著影响。在文献中，有许多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。在这些研究中，生物浓度在大多数情况下可能被高估。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。

A9.5.2.3.9.4 经合组织准则 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类组织中的总残留量 $\geq 10\%$ 的降解产物进行识别和定量。如果没有代谢物的识别和量化数据可供使用，生物浓度评估则应根据测量的放射性同位素标记的 BCF 值。对于生物积累性高的物质(BCF ≥ 500)，如果只有建立在母体化合物和放射性同位素标记的测量结果上的 BCF 值，那么应将后者用于分类。

A9.5.2.4 辛醇 - 水分离系数(K_{ow})

A9.5.2.4.1 对于有机物质来说，试验得到的高质量 K_{ow} 值，或者评论性刊物中予以评价并被冠以“推荐值”的数值，应优先于其他 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 可以在不修改法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，与洗脱液起反应的物质或表面活性物质，应提供用 QSAR 估计的 K_{ow} 值或建立在单个正辛醇和水溶解性基础上的估计值，而不是分析确定的 K_{ow} 值(欧洲联盟委员会 A.8, 1992; 经合组织 117, 1989)。在对处于非离子状态的可电离物质(自由酸或自由碱)进行测量时，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。

A9.5.2.4.2 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，比如经合组织试验准则 107 (1995); 经合组织试验准则 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-测定法(拟订之中的经合组织试验准则)，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可溶于水和正辛醇的基本上纯净的物质。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(拟订之中的经合组织试验准则)，可准确和精确地确定化合物的 K_{ow} 值， $\log K_{ow}$ 值最高为 8.2 (经合组织准则草案，1998)。至于长颈瓶摇动法，缓慢搅拌法只适用于可溶于水和正辛醇的基本上纯净的物质。当 $\log K_{ow}$ 值在 0 至 6 范围内时，建议采用在分析柱上进行的 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。测量 $\log K_{ow}$ 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、亲脂性高的物质和表面活性剂来说)，所以也可使用从 QSAR 得到的 K_{ow} 值。

A9.5.2.4.3 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，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 程序基于基团贡献的加和；而 SPARC 程序建立在更基本的化学结构算法的基础上。只有 SPARC 可一般地用于无机或有机金属化合物。对于表面活性化合物、螯合

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，因为它们运行可靠、可以购买、使用方便。建议在分类时采用下列估计方法(表 A9.5.1)。

表 A9.5.1: 建议用于估计 K_{ow} 值的 QSAR

模 型	$\log K_{ow}$ 值范围	适用物质范围
CLOGP	$0 < \log K_{ow} < 9^a$	本程序计算含有 C、H、N、O、Hal、P 和/或 S 的有机化合物的 $\log K_{ow}$ 值。
LOGKOW (KOWWIN)	$-4 < \log K_{ow} < 8^b$	本程序计算含有 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	$\log K_{ow} > 5$	本程序计算含有 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	可对 $\log K_{ow} > 5$ 的化合物提供比 KOWWIN 和 CLOGP 更好的结果	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 的模型(即 KOWWIN, CLOGP, AUTOLOGP)，因为一连串的化学物质无需 $\log K_{ow}$ 测量数据。只有 SPARC 程序可普遍地用于无机或有机金属化合物。

^a 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 $\log K_{ow}$ 值从小于 0 至大于 9 ($n = 501, r^2 = 0.967$)的有机化学品的 $\log K_{ow}$ 值(TemaNord 1995: 581)。

^b 根据 $\log K_{ow}$ 估计值与试验值(对 13058 种化合物进行了试验)分布图(锡拉库扎研究公司，1999)所作的评估表明，LOGKOW 程序对于 $\log K_{ow}$ 值在-4 至 8 范围的化合物是有效的。

A9.5.3 需要特别注意 BCF 和 K_{ow} 值的化学品类别

A9.5.3.1 某些物理-化学特性可使 BCF 的确定或其测量变得困难。这些可能是生物富集的方式与与它们的其他物理-化学特性(比如位阻)一致的物质，或是使描述符的使用不适当的物质，比如表面活性，它使 $\log K_{ow}$ 值的测量和使用变得不适当。

A9.5.3.2 困难物质

A9.5.3.2.1 有些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(经合组织，2000)。经合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，以及为确保能够从对这些物质所做的试验中得出有效的结论需要采取的步骤。难以进行试验的物质可能是不易溶解、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。

A9.5.3.2.2 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，使之与预测值之间有一定的差异。比如，易于生物降解的物质，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，它们可在生物体内快速转化，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。

A9.5.3.2.3 一般说来，对于难以进行试验的物质，基于母体物质的测量 BCF 和 K_{ow} 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确认 BCF 值有效性的一个前提条件。

A9.5.3.3 不易溶解物质和复杂物质

应特别注意不易溶解物质。通常，这些物质的溶解性被记录为低于检测极限值。这给生物富集潜力的解释带来了一些困难。对于这样的物质，生物富集潜力应基于试验确定的 K_{ow} 值或根据 QSAR 估计的 $\log K_{ow}$ 值。

在多组分物质不能完全溶解于水的情况下，应尽可能确定混合物成分，并考察利用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部分时(比如大于 20%，对于有害组分来说，含量甚至更低)，应将复杂物质视为生物积累物质。

A9.5.3.4 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。这可能是由于物质通过鳃膜时的位阻造成的。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，应该考虑可能的代谢物或大分子环境降解产物的生物富集。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。

A9.5.3.5 表面活性剂

A9.5.3.5.1 这是一种包含亲脂性(最常见的是烷基链)和亲水性(头部基团)部分的物质。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。由于有各种各样的不同头部基团，表面活性物质是一种结构上种类繁多的化合物，各类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成分产生变化，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。

A9.5.3.5.2 试验得到的生物富集系数

对表面活性物质测量的 BCF 值表明, BCF 值可能会随着烷基链长度的增加而增加, 并可能与头部基团的连接位置和其他结构特点有关。

A9.5.3.5.3 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分离特点 (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 $\log K_{ow}$ 值可代表生物积累潜力; 对于其他表面活性物质, 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, $\log K_{ow}$ 估计值与生物富集之间关系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 $\log K_{ow}$ 值进行生物富集潜力分类时应谨慎。

A9.5.4 相互矛盾的数据和缺少数据

A9.5.4.1 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, 对于一种物质做过多次适当生物富集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富集潜力。如果仍然存在矛盾, 在可以得到比如不同鱼类物种的高质量 BCF 数值的情况下, 一般应使用最高的有效数值作为分类基础。

在可以得到同一物种和同一生命阶段的较大数据集(4 个或更多数值)时, BCF 数值的几何平均可作为该物种的代表性 BCF 值使用。

A9.5.4.2 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富集潜力。如果仍然存在矛盾, 则应优先选用最高的有效数值。在这种情况下, 可将用 QSAR 估计的 $\log K_{ow}$ 值作为指导。

A9.5.4.3 专家判断

如果没有试验确定的 BCF 或 $\log K_{ow}$ 数据, 也没有预测的 $\log K_{ow}$ 数据可供使用, 水生环境中的生物富集潜力可通过专家判断作出评估。这可以建立在将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} 预测值的其他物质的分子结构进行比较的基础上。

A9.5.5 判定方法

A9.5.5.1 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是否有在水生物种体内生物富集的潜力。

A9.5.5.2 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，稳定状态条件没有达到。如果没有鱼类的 BCF 数据可供使用，也可以使用其他物种(比如贻贝)的高质量 BCF 数据。

A9.5.5.3 对于有机物质来说，应优先使用试验得到的高质量 K_{ow} 值，或者在评论性刊物中作过评估并被冠以“推荐值”的数值。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、金属络合物和表面活性物质，应提供用 QSAR 估计的 K_{ow} 值，或者根据单一正辛醇和水溶解性估计的数值，而不是通过分析确定的 K_{ow} 值。

A9.5.5.4 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。

A9.5.5.5 因此，一种物质是否对水生生物具有生物富集潜力，可根据下列方法判定：

- (a) 有效/高质量的试验确定的 BCF 值→有：
 - (一) $BCF \geq 500$ ：物质具有生物富集潜力
 - (二) $BCF < 500$ ：物质不具有生物富集潜力。
- (b) 有效/高质量的试验确定 BCF 值→无：
 - 有效/高质量的试验确定的 $\log K_{ow}$ 值→有：
 - (一) $\log K_{ow} \geq 4$ ：物质具有生物富集潜力
 - (二) $\log K_{ow} < 4$ ：物质不具有生物富集潜力。
- (c) 有效/高质量的试验确定的 BCF 值→无：
 - 有效/高质量的试验确定的 $\log K_{ow}$ 值→无：
 - 利用有效的 QSAR 估计 $\log K_{ow}$ 值→是：
 - (一) $\log K_{ow} \geq 4$ ：物质具有生物富集潜力
 - (二) $\log K_{ow} < 4$ ：物质不具有生物富集潜力。

A9.6 QSAR 的使用

A9.6.1 历史回顾

A9.6.1.1 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效力，与测量的它们在橄榄油和水之间的分配系数呈正比。Overton 在他 1901 年发表的专著《麻醉研究》中假定，这一相关关系反映了生物体内某一分子点在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。这一相关关系在麻醉界被称为迈耶—欧弗顿原理。

A9.6.1.2 Corwin Hansch 和他在波莫纳学院的合作者提出将正辛醇/水用作标准隔离系统，并发现这些分配系数具有加和、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，并对结果作了统计分析。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} 为正辛醇/水分配系数；C 为化学物质对简单的非电解、无反应有机化合物对整个动物、器官、细胞，甚至纯酶的效应产生标准生物反应的克分子浓度。5 个公式，对应于 5 种简单的一羟基醇对 5 种鱼类的毒性

作用，有几乎同样的斜率和截距，它们事实上几乎与 Könemann 在 1981 年发现的完全相同，而后者似乎并不知道 Hansch 等人以前所做的工作。Könemann 和其他研究人员证明，这种简单的无反应、非电解质，在急性鱼类毒性试验中都通过麻醉机理起作用，产生最小的或基线毒性 (Lipnick, 1989b)。

A9.6.2 导致危险低估的试验人为因素

A9.6.2.1 其他非电解质的毒性可能会比这种 QSAR 预测的更大的，而不是更小，除非是试验人为因素造成的结果。这种试验人为因素包括从比如在试验过程中容易挥发的碳氢化合物以及疏水特性较强的化合物等化合物得到的数据。在对这种物质做急性试验时，试验时间可能不足以在水相(玻璃水缸试验溶液)的浓度与麻醉作用的内部疏水位点的浓度之间达到稳定状态的平衡分配。这种简单的无反应、非电解质按 QSAR 所划的 $\log K_{ow}$ 与 $\log C$ 关系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。在这一点之外，可以观察到一种双线性关系，最具毒性的化学物质有最大的 $\log K_{ow}$ 值。对于这种 $\log K_{ow}$ 值来说，这种平衡已经建立起来(Lipnick, 1995)。

A9.6.2.2 另一个试验问题是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，将观察不到有什么效应，即使在水中饱和时。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平衡分配，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观察到类似的临界值。虽然这种化合物在这些试验条件下单独进行试验时可能显示没有毒性，但它们对混合物的毒性贡献仍存在。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，受分子间氢键结合的控制，缺少构象灵活性和对称性。化合物的晶格越是对称，熔点越高(Lipnick, 1990)。

A9.6.3 QSAR 模型问题

A9.6.3.1 选择适当的 QSAR 意味着，模型将为未进行试验的化学品的毒性或生物药效率作出可靠的预测。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 QSAR 是从狭义定义的一组与候选物质结构类似的化学品得到的。从狭义定义的化学品种类得到的 QSAR 模型，通常用于药品开发，即在一种新的先驱化合物一经鉴别，需要在结构上稍微改造以获得最优活性(并降低毒性)时。总之，目标是通过内插法而不是外推法作出估计。

A9.6.3.2 比如，如果有乙醇、正丁醇、正己醇和正壬醇的黑头鲈鱼 96 小时 LC_{50} 试验数据可用，就可有一定的信心为 *n*-丙醇和 *n*-戊醇的这一终点指标作出预测。相比之下，如果要为甲醇作出这样的预测，就没有这样充足的信心，因为这是外推：甲醇的碳原子数少于任何一种试验化学品。事实上，这种同系物的第一个成员的行为通常是最反常的，不能利用来自同系列中其他成员的数据进行预测。即使是支链乙醇的毒性也可能是不合理的外推，这将取决于有关的终点指标。这种外推将会变得更不可靠，以至在特定终点指标上，毒性与代谢物的产生有关，而不是与母体化合物的特性有关。此外，如果毒性被一种特定的受体结合机理所调节，可能在化学结构有微小变化时观察到显著效应。

A9.6.3.3 最终决定这种预测有效性的是为推导特定生物学终点指标的 QSAR 所用的各种化合物通过共同的分子机制起作用的程度。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得自一系列全部通过共同的分子机制起作用的化学物质，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直接有系。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，可能并没有直接的物理解释，记住这一点十分重要。对于相关模型，数据的统计适应性由于这些限制可能比机理模型的要差。对机理并不一定完全理解，但可能掌握足够的信息，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，反应度可能类似，可以使用仅基于 $\log K_{ow}$ 参数的模型估计一种“新的”化学物质的毒性。

A9.6.3.4 作为一个例子，含有一个与羟基(也就是丙烯基或炔丙基)功能共轭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他乙醇一样，不会表现出过大的毒性，这符合机理假设。

A9.6.3.5 在化合物的同系物范围以外时，情况很快变得更为复杂。比如简单的苯衍生物。可认为一系列氯苯类似于一个同系物。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 QSAR 很可能是适当的。苯环上其他功能组被取代会怎样？与脂肪醇不同，在苯环上增加羟基功能产生的苯酚，不再是中性的，而是一种可离子化的酸性化合物，因为所产生的负电荷具有共振稳定性。由于这一原因，苯酚不具有真正麻醉剂的作用。在苯酚中增加吸电子取代基(如氯原子)，会使这些化合物作为氧化磷酸化物去耦剂(如灭草剂地乐酚)的作用有所改变。醛基被取代会通过亲电子机理导致毒性增加，因为这些化合物与氨基，比如赖氨酸 ϵ -氨基起反应产生希夫氏碱加合物。同样，苄型氯化物作为一种亲电体与巯基形成共价加合物。在对一种未经试验的化合物进行预测时，对这些和许多其他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，并设法在化学文献中找这些记录(Lipnick, 1991b)。

A9.6.3.6 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，比如回归分析得到。最常用的分子描述符 $\log K_{ow}$ 可成为第一个尝试对象。

A9.6.3.7 相比之下，要得出基于机理的 QSAR 模型，需要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适当地模拟这些作用。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。

A9.6.4 在水生分类中使用 QSAR

A9.6.4.1 物质的下列固有特性与涉及水生环境的分类目的相关：

- (a) 正辛醇—水分配系数 $\log K_{ow}$ ；
- (b) 生物富集系数 BCF；
- (c) 可降解性—非生物和生物降解；
- (d) 对鱼类、水蚤和藻类的急性水生毒性；
- (e) 对鱼类和水蚤的慢性毒性。

A9.6.4.2 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，QSAR 用于填补为进行分类缺少的数据。由于现有 QSAR 的可靠性和适用范围有着很大的差别，因此预测每一个终点指标要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(见上文)，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测量数据中的一些试验人为因素(如挥发、试验时间不够未能达到平衡状态，以及水溶解度临界值)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。

A9.6.4.3 在有两个或多个 QSAR 模型都可以使用，或者看起来可以使用使用的情况下，将这些不同模型的预测结果用与预测结果与测量结果进行比较(如上面的讨论)相同的方式进行比较是有益的。如果在这些模型之间不存在什么差异，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利用类似化合物的数据和采用类似的统计方法。另一方面，如果预测结果出入很大，则需要对这一结果做进一步的检验。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。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，以确定任何模型所根据的化学物质是否在上述两个方面都与需要预测的化学物质类似。如果一个数据集含有这样一种用于构建模型的类似物质，则应对数据库中该化合物的测量数值与模型预测值的比较进行验证。如果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模型。同样，如果没有哪一种模型含有这种类似物质的试验数据，建议对有关化学物质进行试验。

A9.6.4.4 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，建议利用化学品类别“……针对美国 HPV 清单上的所有化学品，自动编辑一种甄别信息数据集(SIDS)……(以提供)对化学物质的物理化学特性、环境命运以及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 2,800 种 HPV 化学品”。

A9.6.4.5 目前建议的一种方法“……在有科学根据的情况下……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”。这种进行有限试验法是正确的，条件是“……最终数据集必须允许人们通过类别成员之间的内插来评价未经试验的终点指标。”建议中对定义这种类别和开发这种数据的过程作了说明。

A9.6.4.6 目前正在考虑的第二种较不数据密集的方法(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“……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。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。

A9.6.4.7 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“用 QSAR 估计水溶解度和急性水生毒性”的一节(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，”正如经合组织以前的一份指导文件所援引的那样(经合组织，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。

A9.6.4.8 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，其中描述了 QSAR 如何用于“……检查数据有效性或填补数据空缺，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)。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。”该文件还讨论了基于机理的模型的优点、统计方法在 QSAR 开发中的应用以及如何对“异常值”作出评估。

A9.6.4.9 辛醇 - 水 - 分配系数(K_{ow})

A9.6.4.9.1 计算机化方法，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算法的基础上。在将计算值用于可在水中水解或发生其他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 可以普遍地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。

A9.6.4.9.2 离子化状态和非离子化(中性)状态的五氯苯酚和类似化合物的 $\log K_{ow}$ 值都可以计算。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。

A9.6.4.9.3 对于具有极高亲脂性的化合物来说，采用长颈瓶摇动法测量的数值可达到大约 6 至 6.5，使用缓慢搅拌法时， $\log K_{ow}$ 值可向上扩展到 8 左右(Bruijn 等人，1989)。即使外推到这些方法所能测量的范围以外，计算也被认为是有益的。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，预测本身也将是一种外推；事实上，人们知道，在生物富集的情况下，与 $\log K_{ow}$ 值的关系在较高数值变成非线性关系。对于 $\log K_{ow}$ 值较低的化合物，基群贡献也可以使用，但对于危害评估目的并不是非常有用，因为对于这些物质，特别是 $\log K_{ow}$ 值是负数的物质，即使进入亲脂区的分配即使有也很少，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)。

A9.6.4.10 生物浓缩系数 BCF

A9.6.4.10.1 如果可以得到试验确定的 BCF 值，应将这些数据用于分类目的。生物浓度测量必须使用纯样，在水溶解度范围内的试验浓度上进行，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，在长时间的生物富集试验中，与 $\log K_{ow}$ 的相关关系会拉平并最终减小。在环境条件下，通过从食物和水中摄取两种方式，强亲脂性化学物质在生物体内积累，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 的偏差往往反映化学物质在鱼体内新陈代谢的程度的差异。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，因为所检测到的组织内浓度，可能是一种由母体化合物和代谢物甚至是共价键连接的母体或代谢物的混合物。

A9.6.4.10.2 最好使用试验得到的 $\log K_{ow}$ 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重新测量这些数据 (Bruijn 等人, 1989)。如果仍然有理由怀疑测量数据的准确性，则应使用 $\log K_{ow}$ 计算值。

A9.6.4.11 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自由能量关系(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，也就是与紫外线起反应生成活性反应组分，可以从大气区间的估计值外推得到。虽然这些非生物过程通常不能导致有机化合物的完全降解，但常常是重要的起点，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)。经过验证的特定化合物类别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结构的化合物。确认研究显示，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“不易于生物降解”(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。

A9.6.4.12 鱼类、水蚤和藻类的急性水生毒性

无反应、非电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(见上文)存在。但对于必须预先选择适当的 QSAR 的特定毒物来说，仍然存在一些问题。由于目前还缺少简单明了的相关作用模式鉴定标准，所以在选择适用模型的时候，需要专家根据经验作出判断。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。

A9.6.4.13 鱼类和水蚤的长期毒性

鱼类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类和水蚤的长期毒性。这些模型仅以 $\log K_{ow}$ 相关关系为基础，其应用限于无反应、非电解有机化合物，不适合用于长期接触条件下，具有特殊作用模式的化学物质。慢性毒性值的可靠估计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⁴与急性试验中过大的毒性之间存在相关关系，但并不总是这样。

⁴ 过剩毒性, $T_e = (\text{预测基线毒性}) / \text{检测到的毒性}$ 。

A9.7 金属和金属化合物分类

A9.7.1 导 言

A9.7.1.1 物质统一分类制度是一种基于危害的制度，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(经合组织，1998)。由于本文件只涉及与给定物质有关危害，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适用于有金属和金属化合物可利用时(也就是以溶解的金属离子存在，比如，以 $M-NO_3$ 存在时的 M^+)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。本节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。

A9.7.1.2 在加入金属和/或金属化合物后可能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：一是它能够溶解的程度，也就是它的水溶解度；二是它与介质发生反应转化成水溶性状态的程度。在本指导中被称为“转化”的后一过程发生的速率和程度，在不同的化合物和金属自身之间可能有很大差别，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 10 中给出了用于确定转化速率的协议。

A9.7.1.3 一般说来，人们认为，物质溶解速率与其固有确定性的确定不相关。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，在化合物的溶解性非常差，采用正常溶解手段所能达到的溶解度水平无法超过可得的 $L(E)C_{50}$ 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，其他因素，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，转化数据只有按照附件 10 中给出的标准协议得到的，方可认为是可靠的，能够用于分类目的。

A9.7.1.4 该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类别。附件 10 详细介绍了试验方法。在使用根据试验协议得到的数据时应采取的策略，以及应用该策略需要的数据要求，都将予以说明。

A9.7.1.5 在考虑易于溶解和不易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 4.1 节中定义的那样，“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，在有机物质中考虑和使用的降解概念意义不大或者根本没有意义。更确切地说，物质可以通过正常的环境过程转化，而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/或可能在生物体内积累起来的概念，既适用于有机物质，也适用于金属和金属化合物。

A9.7.1.6 可溶形态的物种形成可能受到 pH 值、水硬度和其他变量的影响，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，有许多过程(比如矿化和隔离)可使金属离子从水柱中无法得到。有时候，这些过程可能很快，快到在评估慢性分类时可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他环境介质，并不一定意味着它们不再具有生物药效，也不意味着金属将永远无法再得到。

A9.7.1.7 在范围十分广泛的环境相关条件下，金属离子从水柱中分离的程度，或者金属已经或能够转变成较小毒性或者无毒性形态的程度方面的信息常常得不到。因此，需要作出许多假设，以便帮助进行分类。如果可得数据表明与这些假设之间存在出入，可以修改假设。首先，可以假设，金属离子一旦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。所根据的是这样一个假设，虽然可以出现物种形成，但原物种在环境相关条件下仍可得到。如前所述，情况不一定总是这样，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。

A9.7.1.8 可作出的进一步假设是，这是一种谨慎做法，也就是，如没有特定金属化合物的任何溶解数据，不管是检测数据还是计算数据，假设该物质具有足够的溶解性，可在 $L(E)C_{50}$ 水平产生毒性，因此可按其他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，生成适当的溶解数据不失为一种明智的做法。

A9.7.1.9 本节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节讨论范围之内：

- (a) 金属， M^0 ，当处于元素状态时，不能溶解于水，但可以转化成有效状态。这意味着，金属处于元素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，金属已经处于氧化状态，因此，当化合物进入水介质后，不大可能出现进一步的金属氧化作用。

然而，虽然氧化作用可能不改变，但与介质之间发生的反应可能会产生更多的可溶解形态。很难溶解的金属化合物可被认为是一种溶解产物可以计算，而且可以通过溶解产生少量有效形态的化合物。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。

A9.7.2 水生毒性数据和溶解度数据在分类中的应用

A9.7.2.1 水生毒性数据的解释

A9.7.2.1.1 根据公认协议进行的水生毒性研究，通常应被视为有效，可用于分类目的。对于在为分类目的评估水生毒性数据点时经常遇到的一般性问题，还应参考 A9.3 节。

A9.7.2.1.2 金属络合和物种形成

A9.7.2.1.2.1 特定金属在溶液中的毒性，似乎主要取决于(但并不完全限于)溶解的自由金属离子水平。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式影响金属毒性：(一) 影响金属在水中的化学产物形成(并因此影响生物药效)和(二) 影响生物组织对有效金属的摄取和结合。

A9.7.2.1.2.2 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，包括可能产生毒性的形态。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成分的方法，并不一定可得或经济。

A9.7.2.1.2.3 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 和无机物质)，比如 MINTEQ (Brown 和 Allison, 1987)、WHAM(Tipping, 1994)和 CHESS(Santore 和 Driscoll, 1995)，可用于计算金属离

子的不复杂和复杂成分。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(经合组织，2000)。

A9.7.2.2 可溶解性数据的解释

A9.7.2.2.1 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的 pH 值。

A9.7.2.2.2 现有数据的评估

现有数据将具有下列三种形式。某些经过充分研究的金属，会有有关各种无机金属化合物的溶度积和/或溶解性数据。也有可能知道溶解性的 pH 值关系。然而，对于许多金属或金属化合物来说，很有可能现有信息只是描述性的，比如不易溶解。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 10)生成所需要的溶解度数据。

A9.7.2.2.3 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”，可象转化/溶解协议(附件 10)中所描述的用于金属化合物。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。如果无法得到整个 pH 值范围内的数据，则应参照适当的热力学物种形成模型或其他适当方法，检查是否已实现这一最大溶解度(见 A9.7.2.1.2.3)。应该指出，这种试验只能用于金属化合物。

A9.7.2.2.4 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是，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，应在溶液中溶解的金属离子浓度达到最大的 pH 值进行完全试验。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。

根据完全试验得到的数据，有可能在 7 天后，为试验中采用的三种负荷(也就是 1 毫克/升为“小负荷”，10 毫克/升为“中等负荷”，100 毫克/升为“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 值进行的小负荷试验，可以延长到 28 天。

A9.7.2.3 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，作出是否对一种物质进行分类的决定。如果超过 L(E)C₅₀ 值，不论毒性和分解数据是否在同一 pH 值，而且如果这是仅有的可得数据，则应对物质进行分类。如果可以得到其他溶解度数据，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。

A9.7.3 环境转变的评估

A9.7.3.1 从金属的一种类型的金属到另一种类型的环境转化，并不构成适用于有机化合物的降解，但可能增加或减少毒性物质的有效性和生物药效率。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)的数据相当多，但目前还没有合并成有意义的数据库。然而，使用上面 A9.7.1 中讨论的原则和假设，有可能将这种方法也用于分类目的。

A9.7.3.2 对这种评估很难给出指导，通常要针对具体情况进行评估。然而，应考虑下列情况：

- (a) 变成非有效形态的物种形成改变，但是，出现相反方向变化的可能性也应考虑；
- (b) 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 A9.7.1.5 和 A9.7.1.6。

A9.7.4 生物积累

A9.7.4.1 虽然 $\log K_{ow}$ 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 值，它当然对无机物质，比如无机金属化合物无相关性。

A9.7.4.2 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，针对具体情况，通过专家判断，对金属的生物积累作出评价。

A9.7.4.3 虽然 BCF 能够预示生物积累潜力，但在解释金属和无机金属化合物的 BCF 测量值的时候，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 值之间是反比关系，因此在使用生物浓度数据的时候，应小心谨慎。这对于生物体所必需的金属来说特别重要。生物体所必需的金属，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较高的 BCF 以及 BCF 和金属在水中的浓度之间的反比关系。在环境浓度比较低的情况下，较高的 BCF 可能是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，可视为正常现象。此外，如果生物体调节内部浓度，则 BCF 测量值可能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定生物体所必需的，但不一定是其他生物体所必需的。因此，在一种金属不是不可少的情况下，或者当一种不可少的金属浓度高于营养水平时，应对生物积累潜力和环境问题给予特别的考虑。

A9.7.5 金属和金属化合物分类标准的应用

A9.7.5.1 金属和金属化合物分类办法介绍

A9.7.5.1.1 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 A9.7.1 中。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。

在下面几节中， $L(E)C_{50}$ 指的是用于选择金属或金属化合物分类类别的数据点。

A9.7.5.1.2 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根据的数据点应以待分类的金属化合物分子量表示。这被称为分子量修正。所以，大多数金属数据，比如，都以金属的毫克/升表示，但这一数值需要根据相应的金属化合物重量进行调整。因此：

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

NOEC 数据也需要根据相应的金属化合物重量进行调整。

A9.7.5.2 金属分类办法

A9.7.5.2.1 当我们所关心的金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值大于 100 毫克/升时，不需要在分类过程中进一步考虑这种金属。

A9.7.5.2.2 当我们所关心的金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值 \leq 100 毫克/升时，必须考虑与这些离子能够从金属中产生的速率和程度有关的现有数据。这种数据若要有效和有用，就必须是用转化/溶解协议(附件 10)获得的。

A9.7.5.2.3 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(慢性第 4 类)，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。

A9.7.5.2.4 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：

A9.7.5.2.4.1 7 天转化试验

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

- (a) 如果低负荷率的溶解金属离子浓度 $\geq L(E)C_{50}$ ，划为急性第 1 类。也划为慢性第 1 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累；
- (b) 如果中等负荷率的溶解金属离子浓度 $\geq L(E)C_{50}$ ，划为急性第 2 类。也划为慢性第 2 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累；
- (c) 如果高负荷率的溶解金属离子浓度 $\geq L(E)C_{50}$ ，划为急性第 3 类。也划分为慢性第 3 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累。

A9.7.5.2.4.2 28 天转化试验

如果 A9.7.5.2.4.1 描述的分类过程导致划为慢性第 1 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。

在所有其他情况下，进一步的数据可能是通过溶解/转化试验得到的，以便证明分类结果可以修改。如果被划为慢性第 2、第 3 或第 4 类的物质，溶解金属离子浓度在低负荷率水平上，在总计 28 天的试验期后 \leq 长期 NOEC 值，则分类应该取消。

A9.7.5.3 金属化合物分类办法

A9.7.5.3.1 当所关心的金属离子 $L(E)C_{50}$ 值 $>$ 100 毫克/升时，在分类过程中不需要进一步考虑金属化合物。

A9.7.5.3.2 如果溶解度 $\geq L(E)C_{50}$ ，根据可溶解离子进行分类。

A9.7.5.3.2.1 水溶解度(通过比如 24 小时溶解甄别试验测量；或者比如根据溶解产物估计) \geq 溶解金属离子浓度的 $L(E)C_{50}$ 值的所有金属化合物，均被视为易于溶解的金属化合物。由于溶解度测量条件可能与急性毒性测量条件有显著差别，因此对于溶解度接近急性毒性值的化合物，应谨慎对待。在这种情况下，最好优先选用溶解甄别试验结果。

A9.7.5.3.2.2 易于溶解的金属化合物根据 $L(E)C_{50}$ 进行分类(需要时可作分子量修正)：

- (a) 如果溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值 \leq 1 毫克/升，划为急性第 1 类。也划为慢性第 1 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累；
- (b) 如果溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值 $>$ 1 毫克/升，但 \leq 10 毫克/升，划为急性第 2 类。也划为慢性第 2 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累；

- (c) 如果溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值 >10 毫克/升和 ≤ 100 毫克/升，划为急性第 3 类。也划为慢性第 3 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累。

A9.7.5.3.3 如果溶解度 $<L(E)C_{50}$ ，划为缺省慢性第 4 类

A9.7.5.3.3.1 在分类标准中，将不易溶解金属化合物定义为已知溶解度(通过比如 24 小时溶解甄别试验检测；或者比如根据溶解产物估计)小于溶解金属离子的 $L(E)C_{50}$ 值的金属化合物。如果不易溶解金属化合物的金属溶解形态的 $L(E)C_{50}$ 值 ≤ 100 毫克/升，而且该物质可被视为不易溶解，应使用缺省安全网分类(慢性第 4 类)。

A9.7.5.3.3.2 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 $L(E)C_{50}$ 的水平，则应利用下列分类办法取代金属的缺省分类：

- (a) 如果低负荷率的溶解金属离子浓度 $\geq L(E)C_{50}$ ，划为急性第 1 类。也划为慢性第 1 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累；
- (b) 如果中等负荷率的溶解金属离子浓度 $>L(E)C_{50}$ ，划为急性第 2 类。也划为慢性第 2 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累；
- (c) 如果高负荷率的溶解金属离子浓度 $>L(E)C_{50}$ ，划为急性第 3 类。也划为慢性第 3 类，除非有证据表明从水柱中快速隔离，而且没有生物积累。

A9.7.5.3.3.3 28 天转化试验

如果 A9.7.5.3.3.2 描述的分类过程导致划为慢性第 1 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。

在所有其他情况下，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，以便证明分类结果可以修改。如果被划为慢性第 2、第 3 或第 4 类的不易溶解金属化合物，溶解金属离子浓度在低负荷率水平上，在总计 28 天的试验期后 \leq 长期 NOEC 值，则分类应该取消。

A9.7.5.4 粒度和表面积

A9.7.5.4.1 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的任何变化，可能引起在给定的时间窗口内释放的金属离子水平的显著变化。因此，在转化试验中粒度或表面积是固定的，以使比较性分类能够仅建立在负荷水平上。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，所生成的有关某一特定金属粉末的数据被认为不适用于大块物质的分类。比如，在能够证明试验粉末是一种结构上不同的物质(比如不同的结晶结构)和/或是通过特殊工艺生产的，不能从大块金属生成的情况下，大块物质的分类可根据更具代表性的粒度或表面积进行的试验，如果能够得到这样的数据。粉末可根据从粉末得到的数据另外分类。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。

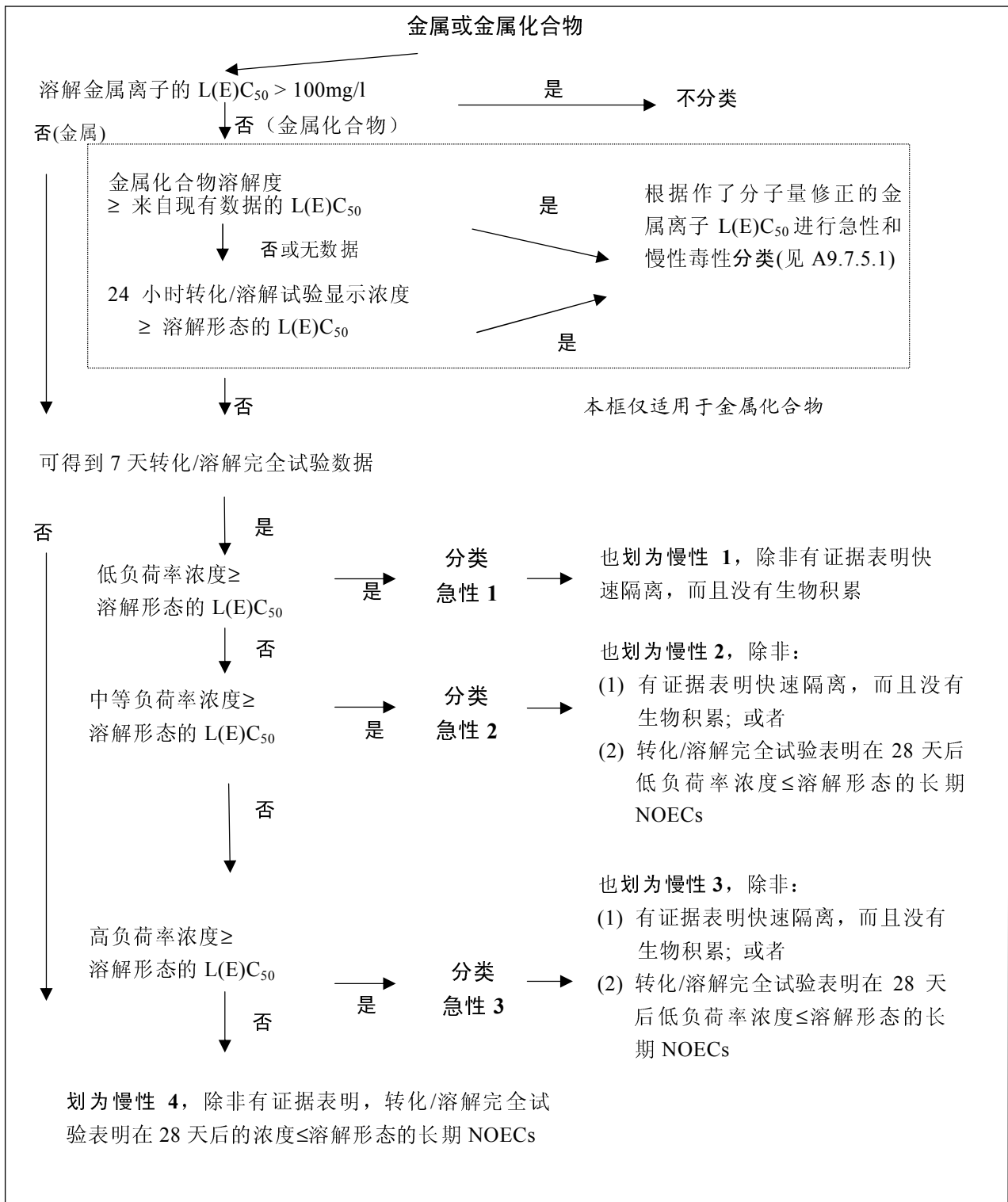
A9.7.5.4.2 对于粒度小于 1 mm 缺省直径的金属，可针对具体情况进行试验。通过不同的工艺技术生产的金属粉末，或者粉末比块状物质有更高的溶解率(或反应率)从而导致更严格的分类的情况，就是一个例子。

A9.7.5.4.3 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，则需要考虑其他来源
金属—块状物	1 mm	如果有充分的理由，可以改变缺省值

A9.7.5.4.4 对于某些金属形态，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，这一关系用所试验形态的表面积负荷的函数表示。在这种情况下，可利用 Skeaff 等人(2000)推荐的临界表面积方法，估计不同粒度的金属的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 $L(E)C_{50}$ 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。虽然这种方法通常不用于分类，但可以作为标签和下游判定提供有用信息。

图 A9.7.1: 金属和金属化合物分类办法



附件 9

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他有机化合物，但不会导致完全矿化(Schwarzenbach 等人, 1993)。化学转化被定义为一种在没有光和没有生物体的媒介情况下发生的转化，而光化学转化需要有光。

2.2 在水生环境中的重要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)。其中，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。

2.3 水解

2.3.1 水解是亲核体(nucleophile) H_2O 或 OH^- 与化学物质发生反应，化学物质的一个(离开)的原子团与一个 OH^- 基交换。许多化合物，特别是酸的衍生物，容易发生水解。水解既可以是非生物的，也可以是生物的，但对于试验来说，则只考虑非生物水解。水解可在不同的 pH 值通过相同的机理发生，有中性、酸性或碱性催化的水解，而且水解率可能在很大程度与 pH 值有关。

2.3.2 目前，一般有两种评价非生物水解的准则，经合组织试验准则 111 “水解随着 pH 值变化”(相当于 OPPTS 835.2110)和 OPPTS 835.2130 “水解随着 pH 值和温度变化”。在经合组织试验准则 111 中，确定在纯缓冲水中不同 pH 值的总体水解率。试验分为两部分。初步试验用于对水解率未知的化学物质进行试验；详细试验用于对已知是水解不稳定的化学物质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 $50^\circ C$ 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。如果化学物质浓度减小不到 10%，则该物质被认为是水解稳定的，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确定，以便有可能内插或者外推到与环境相关的温度。OPPTS 835.2130 试验在试验设计方面几乎与经合组织试验准则 111 一样，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，试验确定的水解率常数中包括其他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，在自然水和纯水中的水解率在很大程度上一致的(OPPTS 835.2110)。

2.4 光解作用

2.4.1 目前，没有关于水生环境光降解的经合组织准则，但有一份关于水生环境直接光解作用的指导文件(经合组织，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以是一次或二次光转化的形式。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后的直接结果是发生转化的情况。间接光转化是其他受激物质将能量、电子或 H 原子转移给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：化学物质与反应性短寿命物种之间发生化学反应，比如羟基、过氧基(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)根据测量得到的摩尔吸光系数计算。在第 2 层，分为两个阶段。第 1 阶段，化学物质在日光照射下被光解，得到一个近似的光解率常数。在第 2 阶段，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，确定更为准确的光解率常数。从测量参数，可计算在不同温度下和不同纬度上的实际直接光降解率。这种降解率只适用于水体的最上层，比如在水面下 50 cm 以内，而且只适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，利用包括自然水中空气减少和其他相关因数的计算机程序，可将这些结果推广到其他环境条件下。

2.4.3 OPPTS 835.5270 甄别试验涉及化学物质在含有腐殖质的水中的间接光解。试验原则是，在暴露于日光下的自然水中，测量的光转化率将包括直接和间接光转化，而只有直接光转化才会在纯水中发生。因此，根据附件 9 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，只对确定这一转化率时的季节和所在纬度有效，而不能将这些结果照搬到其他季节和纬度上。

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组织生物降解试验详细综述(OECD, 1995)。

3.2 易于生物降解性

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

3.2.2 易于生物降解试验是有严格要求的试验，为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：

- (a) 较高的试验物质浓度(2-100 毫克/升)；
- (b) 试验物质是唯一的碳和能源；
- (c) 接种体浓度从低到中(10^4 - 10^8 细胞/毫升)；
- (d) 不允许接种体的预适应；

- (e) 28 天试验期(MITI I 方法(经合组织试验准则 301 C)除外)降解发生试验窗口为 10 天;
- (f) 试验温度 $<25^{\circ}\text{C}$; 并且
- (g) 通过水平为 70%(DOC 去除)或 60%(O_2 需要量或 CO_2 产生量), 表示完全矿化(假设试验物质的残余碳变成不断增长的生物量)。

3.2.3 假设在易于生物降解试验中的一个试验得到的正结果表明物质将在环境中快速降解(经合组织试验准则)。

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易于降解。在这种试验中, 在为期 5 天的时间内将相对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, 则与化学需氧量(COD)比较。试验在 5 天内完成, 因此, 建议的危害分类标准确定的 50%通过水平, 低于易于生物降解试验的水平。

3.2.5 海水中的生物降解甄别试验(经合组织试验准则 306), 可被视为与易于生物降解试验平行的海水试验。达到经合组织试验准则 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, 可被视为易于生物降解物质, 因为在海水中的降解潜力通常低于淡水降解试验结果。

3.3 固有生物降解

3.3.1 固有生物降解试验是设计用于评价一种物质是否具有任何生物降解潜力。经合组织试验准则 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:

- (a) 试验物质与接种体有较长的接触期, 以便于在试验期内产生适应性;
- (b) 较高的微生物浓度;
- (c) 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无限期地存在下去, 但不能假设会发生快速和完全的生物降解。显示超过 70%矿化的结果表示存在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, 负结果意味着, 应假设无生物降解性(持续存在)(经合组织试验准则)。

3.3.4 在许多固有生物降解试验中, 只测量试验物质的消失。这样的结果仅仅表明存在一次生物降解, 而不是完全矿化。因此, 有可能形成一些或多或少的持续降解产物。物质的一次降解并不能表明在环境中的最终降解。

3.3.5 经合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(经合组织试验准则 302C)采用的接种体浓度只比相应的 MITI I 易于生物降解试验(经合组织试验准则 301C)浓度高 3 倍。Zahn-Wellens 试验(经合组织试验准则 302B)也是相对较“弱”的固有试验。然而, 虽然这些试验中的降解潜力并没有比易于生物降解试验中的强很多, 但结果不能外推到易于生物降解试验中和水生环境中的条件。

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(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:

- (a) 将天然水(和沉淀物)样品用作接种体; 并且
- (b) 采用低浓度试验物质(1-100 µg/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, 则只确定了一次可降解性。从观察降解动力学, 可以得到降解率常数。由于试验物质浓度低, 因此可假设一级降解动力将起主导作用。

3.4.4 也可以通过用天然沉淀物模拟沉淀物区间内的条件来进行试验。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, 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 在最长 8 周的试验中确定厌氧性降解潜力, 试验条件如下:

- (a) 在缺氧(最初为纯氮气气氛)密封罐内进行试验;
- (b) 使用经过浸渍的污泥;
- (c) 试验温度保持在 35°C; 并且
- (d) 确定顶部空间气体压力(由 CO₂ 和 CH₄ 组成)。

3.6.3 通过确定生成的气体确定最终降解。然而, 也可以通过测量残余母体物质确定一次降解。

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, 可提及经合组织试验准则 304A 关于土壤中固有生物降解的试验。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固有降解性的特殊试验特点为:

- (a) 采用天然土壤样本, 无需额外接种;
- (b) 采用放射性同位素示踪试验物质; 和
- (c) 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/水试验微生物系统生物降解试验”。包括沉淀物和水试验生态系统, 从试验现场收集, 并在系统中加入试验化合物。母体化合物的消失(即一次生物降解产物), 如果可行, 可测量代谢物的生成或最终生物降解产物。

3.7.4 目前，正在分别起草两个新的关于在土壤(经合组织试验准则，1999 a)和水生沉积系统(经合组织试验准则 1999 b)中的需氧和厌氧转化的经合组织准则。试验的目的就是确定在接近实际的环境条件包括接近实际的试验物质浓度下，试验物质的转化率以及转化产物形成和减少的性质和速率。可确定完全矿化或一次降解，这取决于确定试验物质转化所用的分析方法。

3.8 生物降解估计方法

3.8.1 最近几年提出了对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。它给出在存在各种环境微生物种群的情况下的缓慢或快速生物降解概率定性估计。美国环保局/欧洲联盟委员会(Q)SARs 联合评估项目(经合组织，1994)和 Pedersen 等人(1995)，对该程序的适用性作过评估。下面将对后者做一个简要介绍。

3.8.2 从来自 MITI (1992)的数据中，选择了一组试验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性用该程序的非线性估计模块(最可靠)估计，然后，将估计结果与测量数据进行比较。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，在 MITI I 试验中显示不具有迅速降解特性的证实。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，物质可视为不快速降解。

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 预测进行的分析。这 115 种新物质也进行过易于生物降解试验。在这一分析中，只有 9 种物质易于生物降解。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 (欧盟委员会，1996)建议在使用通过生物降解概率计算程序估计的生物降解性时要保守，也就是说，该程序预测快速生物降解的结果不能考虑，但缓慢生物降解的预测可以考虑(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率计算程序的预测结果，可以满足没有试验降解数据可得的许多物质中的某些物质的生物降解评价需要。

附件 9

附录二

影响水生环境可降解性的因素

1. 导 言

1.1 经合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在试验室条件下进行的试验得到的数据，而只有很少的试验室条件与环境条件类似。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 经合组织生物降解试验详细综述文件(经合组织，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。在这些差异中，下列差异对降解性有显著影响：

- (a) 与生物体有关的因素(存在能够发挥作用的微生物)；
- (b) 与基质有关的因素(基质浓度和其他基质的存在)；以及
- (c) 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差异极大的各种生物量，当出现足够高浓度的一种“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使物质降解的能力。然而，还有一些其他过程也会参与降解，比如酶诱导、遗传物质交换和耐毒性的形成等。

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。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。特别是在接受排放物的环境中，比如生物污水处理厂，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试验中的自适应潜力相差不大。除其他外，自适应能力取决于：

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

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，还取决于这些成分的生存和再生。在易于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，因此降解成分的成分和数量，都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较低，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就不那么重要，因为当存在足够浓度的合适基质时，它们将会不断生长。然而，如果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，也可能因比如带有微生物团的微生物生态龛(microbial niches)的发展而增强自适应性。当考虑在污水处理厂、沉淀层和土壤等各种不同环境条件下的自适应能力时，这一点具有重要的意义。然而，在易于生物降解试验和水生环境中的微生物总数，是同样的数量级(在易于生物降解试验中为 10^4 - 10^8 细胞/ml；在地表水中为 10^3 - 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 在讨论外推到环境条件时，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 分数)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(经合组织，1995)。此外，贫营养微生物不仅不能在浓度高于 1 毫克/升的条件下降解化学物质，甚至在高浓度条件下会受到抑制。与此相反，富营养微生物则需要在矿化开始之前有较高的基质浓度，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，水生环境降解阈值下限，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，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(大批量生产的化学物质比小批量生产的化学物质更常出现)，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，降解在开始之前可能要求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，使用的试验物质浓度很高(2-100 毫克/升)，而水生环境中预期的实际浓度则在较低的 $\mu\text{g/l}$ 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，许多物质在水生环境中的浓度水平，只能勉强使它们成为降解微生物的主要基质。

3.1.2 此外，降解动力取决于莫诺方程中所描述的与饱和常数(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%的比生长速率的基质浓度。在远低于饱和常数的基质浓度(大多数水生环境的正常情况)下，降解可通过一级或逻辑动力学来描述(经合组织，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), 如果基质浓度没有高到能够支持细胞生长的程度, 则适用一级动力学, 也就是说, 降解率与物质浓度成正比。实际上, 要区分这两个类型的降解动力学, 由于数据的不确定性, 几乎是不可能的(经合组织, 1995)。

3.1.3 总而言之, 低浓度物质(即低于 10 $\mu\text{g/l}$)有可能无法在水生环境中作为主要基质降解。当浓度较高时, 易于降解物质有可能在水生环境中作为主要基质降解, 降解率或多或少地与物质浓度成正比。物质作为次要基质降解的问题, 将在下面讨论。

3.2 其他基质的存在

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, 还存在许多其他基质。在天然水中, 溶解有机碳的浓度范围常常在 1-10 mg C/L 之间, 也就是说, 要比污染物高出 1,000 倍。然而, 大多数这些有机碳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藻类分泌物来滋养。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, 天然微生物群落有很高的降解潜力。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的选择压力, 导致能够依靠快速矿化基质滋养的机会物种的生长, 而更加专门化的物种的生长则受到抑制。隔离能够降解各种异型生物质的细菌的经验表明, 这些生物体的生长速度常常比较缓慢, 与快速生长的细菌竞争, 依靠复合碳源生存。在环境中存在能够发挥作用的微生物时, 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, 水生环境中的大多数有机污染物存在的浓度较低, 只能作为不支持生长的次要基质降解。

3.2.3 另一方面, 浓度较高的快速矿化基质的存在, 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, 共同新陈代谢产生的物质可用于进一步降解和矿化。这样, 其他基质的存在可增加一种物质被降解的可能性。

3.2.4 那么可以得出这样的结论, 即天然水中存在各种不同基质以及其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, 另一方面可能通过先共同新陈代谢, 然后进一步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。目前尚不能一概而论。

4. 与环境有关的因素

4.1 环境变量控制着一般的微生物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, 这种影响的重要性也不一样(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, 前提是化学物质能在缺氧条件下降解。

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℃ 温度条件下进行的(标准需氧性易于生物降解试验)，但厌氧试验可以在 35℃ 温度下进行，因为这可以更好地模拟污泥反应器内的条件。在温度 0℃ 以下到 100℃ 的环境中可观察到微生物活力。然而，最佳温度可能在 10℃ 至 30℃ 的范围内，在这一范围内，温度每增加 10℃，降解率大致翻一番(de Henau, 1993)。在这一最佳温度范围外，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。当从实验室条件外推时，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，最有利于微生物降解活力的 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基质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。

附件 9

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

1. 生物富集系数(BCF)

1.1 定义

生物富集系数定义为在稳定状态下化学物质在生物区中的浓度与在周围介质中的浓度之比。周围介质在这里指的是水。BCF 可通过试验在稳定状态条件下直接测量，也可以通过一级吸收率常数和消除率常数之比计算得到，这种方法不要求平衡条件。

1.2 试验确定 BCF 的适当方法

1.2.1 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被采用；其中应用最广泛的是经合组织试验准则(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法(OECD 305, 1996)，但也允许使用半静态试验方法(ASTM E 1022-94)，条件是能够满足死亡率和维持试验条件的有效性标准。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 的原则与 ASTM 准则相似，但所描述的试验条件不同，特别是在下列方面：

- (a) 试验用水供给方法(静态、半静态或流通)；
- (b) 进行净化研究的要求；
- (c) 计算 BCF 的数学方法；
- (d) 采样频率：水中测量次数和鱼样本采集数量；
- (e) 测量鱼类脂质含量的要求；
- (f) 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)和接触后(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 $K_{ow} - k_2$ 相关关系(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%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，鱼被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 用鱼的总湿重函数表示。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观测的这些物质的生物浓度之间也存在相应的关系。因此，要减少高亲脂性物质的试验结果中的这一可变性来源，生物浓度表达式中除了整体重量，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 -线性近似描述)。如果净化过程遵循两阶段动力学，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，还必须提供已知精确度、准确度和敏感度的适当分析方法，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，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，放射性测量总值可能反映母体物质的存在、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，有必要将母体物质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，以便能够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，主要提到生物转化或者隔膜渗透动力的减小，或者是大分子生物脂质溶解性的降低。其他考虑因素是试验中的人为因素，比如没有达到平衡状态、由于在水相中吸附到有机物质中造成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 的物质的 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为 $\log K_{ow}$ 值小于 6 的物质确定的 BCF 值。

2. $\log K_{ow}$

2.1 定义和一般考虑

2.1.1 \log 正辛醇—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富集。

2.1.2 生物浓度和 $\log K_{ow}$ 关系的基础，是对鱼脂相和水之间的隔离过程与正辛醇和水之间的隔离过程的比拟。之所以使用 K_{ow} ，是因为辛醇能够作为鱼组织内的脂类令人满意的替代物。 $\log K_{ow}$ 和物质在鱼肝油和 triolin 中的溶解度之间，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 确定正辛醇—水分配系数(K_{ow})，是在欧盟内，通报新的和重点现有物质要求提交的基本数据集。由于通过试验确定 K_{ow} 值不总是可能的，比如对于完全水溶性和完全亲脂性物质，所以也可以使用 QSAR 得到的 K_{ow} 值。然而，在将 QSAR 用于无法通过试验确定的物质(比如表面活性物质)时，应该格外谨慎。

2.2 通过试验确定 K_{ow} 值的适当方法

2.2.1 对于如何通过试验确定 K_{ow} 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环状试验，以便制定经合组织最终准则。

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，即水相和正辛醇相中的溶解度。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正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通过化学键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，由于可移动水相和静止碳氢相之间不同程度的隔离，将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。当 $\log K_{ow}$ 值在 0 至 6 范围内时，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、正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

另一种普遍采用的测量 $\log K_{ow}$ 值方法是发生器塔法。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。塔内填有一种固体载体，并吸满了在正辛醇中保持固定浓度的试验物质。试验物质用水从饱含辛醇的发生器塔中洗提出来的。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，这种方法对于测量 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 的物质的 K_{ow} ，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 确定 $\log K_{ow}$ (另见 A9.6 “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。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。欧洲联盟委员会的风险评估技术指导文件建议，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 程序(欧洲联盟委员会, 1996, 第三部分)。

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(Hansch 和 Leo, 1979)的基础上。该程序用于计算含有 C、H、N、O、Hal、P 和/或 S 的有机化合物的 $\log K_{ow}$ 值。不能计算盐类和带有形式电荷的化合物(硝基化合物和氧化氮除外)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, 是中性或未电离形式的值, 并且与 pH 值有关。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 以上的为数很大的有机物质的 $\log K_{ow}$ 值($n=501$, $r^2=0.967$)。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)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(经合组织, 1993)。然而, 对于阴离子表面活性物质(LAS), 有人建议用一种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, 是中性或未电离形式的值, 因此计算值与 pH 值有关。某些表面活性物质(比如, 脂肪醇乙氧基化物(Tolls, 1998)、染料和分解物质, 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, 因为它可靠、容易购买和使用方便。

2.3.4 AUTOLOGP (Devillers 等人, 1995)是从异类数据集中得出的, 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, 但不能用于计算盐类的 $\log K_{ow}$ 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与 pH 值的相关性。目前正在进行改进, 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机械模型。因此, SPARC 不同于使用 QSAR 的模型(即 KOWWIN、LOGP), 因为它不需要将 $\log K_{ow}$ 测量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 可以一般地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, 并需要有适当的科学根据。

表 1.: 根据碎片方法估计 $\log K_{ow}$ 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 9

附录四

外部和内部因素对有机物质生物富集潜力的影响

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

离子化物质不易穿透薄膜; 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 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。分子量对生物富集的影响, 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生物富集之前, 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(Schrap 和 Opperhuizen, 1990)。此外, 吸附到已溶解有机物质或微粒有机物质或一般表面, 可能干扰 BCF (和其它物理化学特性)的测量, 从而给确定 BCF 或适当的描述符造成困难。由于鱼体内的生物富集与水中化学物质的有效组分直接相关, 因此, 高亲脂性物质需要在摄取期间内, 将试验化学物质的有效浓度保持在相对较窄的极限范围内。

易于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, 挥发性和水解也将降低浓度并缩短可供生物积累的时间。

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, 鱼需要有更多的水通过它们的鳃部, 以满足呼吸需求(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性。

2.1 生物体大小

与摄取率一样，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较高浓度的亲脂性物质。因此，与“瘦”鱼，比如鳕鱼相比，“胖”鱼，比如鳗鲡，常常具有较大的负荷。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，并导致滞后影响。

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排泄出来。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。生物转化可能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更具毒性的代谢物(生物活化)，比如已知的苯并芘。

2.3.2 陆地生物体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，即异型生物质的生物转化在鳃呼吸的生物体中的意义不大，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)。关于水生生物体的生物转化能力，生物转化异型生物质的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

许多作者证明，鱼类的 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)则或多或少与物质的亲脂性无关(Connell, 1990)。因此，结果是 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来说， $\log BCF$ 和 $\log K_{ow}$ 之间存在着相关关系。

附件 9

附录五 试验准则

1. 上述准则大多可在发布者写准则的组织出版的文件汇编中找到。这些准则的主要参考资料有：

- (a) 欧洲联盟委员会准则：委员会条例 Commission Regulation (EC) No 440/2008，2008 年 5 月 30 日，规定了依照欧洲议会第 1907/2006 号条例和理事会关于化学品注册、评估、许可和限制的法规(REACH)进行试验的方法；
- (b) 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://www.iso.org/iso/home.htm>)；
- (c) 经合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/env/testguidelines>)；
- (d) 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>)；
- (e) 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¹

经合组织试验准则 201 (1984) 藻类，生长抑制试验

经合组织试验准则 202 (1984) 水蚤 *sp* 急性制动试验和繁殖试验

经合组织试验准则 203 (1992) 鱼，急性毒性试验

经合组织试验准则 204 (1984) 鱼，延长毒性试验：14 天研究

经合组织试验准则 210 (1992) 鱼，早期生命阶段毒性试验

经合组织试验准则 211 (1998) 水蚤 *magna* 繁殖试验

经合组织试验准则 212 (1998) 鱼，短期胚胎和 Sac-Fry 阶段毒性试验

经合组织试验准则 215 (2000) 鱼，幼年生长试验

经合组织试验准则 221 (拟订中) *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: 藻类抑制试验 (1992)

¹ 以下清单是截至 2000 年 9 月的准则。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.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)

OPPTS 关于环境影响的试验准则 (850 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

850.1000 进行水生环境试验室研究时需要特别考虑的事项

850.1010 水生无脊椎动物急性毒性, 试验, 淡水水蚤

850.1010 水生无脊椎动物急性毒性, 试验, 淡水水蚤

850.1020 钩虾急性毒性试验

850.1020 钩虾急性毒性试验

850.1035 糖虾急性毒性试验

850.1035 糖虾急性毒性试验

850.1045 Penaeid 急性毒性试验

850.1045 Penaeid 急性毒性试验

850.1075 鱼的急性毒性试验, 淡水和海水

850.1075 鱼的急性毒性试验, 淡水和海水

850.1300 Daphnid 慢性毒性试验

850.1300 Daphnid 慢性毒性试验

850.1350 糖虾慢性毒性试验

850.1350 糖虾慢性毒性试验

850.1400 鱼的早期生命阶段毒性试验

850.1400 鱼的早期生命阶段毒性试验

850.1500 鱼的生活周期毒性

850.1500 鱼的生活周期毒性

850.1730 鱼的 BCF

850.1730 鱼的 BCF

850.4400 利用 *Lemna spp* 的水生植物毒性试验, 第一和第二层

850.4400 利用 *Lemna spp* 的水生植物毒性试验, 第一和第二层

850.4450 水生植物现场试验研究, 第三层

850.4450 水生植物现场试验研究, 第三层

850.5400 藻类毒性，第一和第二层

850.5400 藻类毒性，第一和第二层

3. 生物和非生物降解试验指南²

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: 确定易于生物降解性。第 67/548/EEC 号指令，附件五(1992)

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 值变化的水解。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(1998)

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(1998)

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(22.11.1999)

² 以下清单是截至 2000 年 9 月的准则。清单需要随着新准则的采用或准则草案的拟订定期更新。

经合组织试验准则 111 (1981), 随 pH 值变化的水解, 经合组织化学品试验准则

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

经合组织试验准则 301 (1992), 易于生物降解性, 经合组织化学品试验准则

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

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

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

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

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

经合组织试验准则 306 (1992), 海水中的生物降解。经合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 值变化的水解

OPPTS 835.2130 随 pH 值和温度变化的水解

OPPTS 835.2210 日光作用下的水中直接光解率

OPPTS 835.3110 易于生物降解性

OPPTS 835.3170 长颈瓶摇动消沉试验

OPPTS 835.3180 沉淀物/水微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: 含有溶解腐殖质的水中日光光解作用

4. 生物积累试验准则³

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, 鱼类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

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《联邦法规汇编》。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》。农药评估准则, N 分项: 化学: 环境命运; 和 E、J 和 L 分项: 危害评估。农药项目办公室。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

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

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

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

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

经合组织试验准则草案, 1998. 正辛醇/水分配系数 Pow, 高疏水性化学物质缓慢搅拌法。经合组织化学品试验准则建议草案

³ 以下清单是截至 2000 年 9 月的准则。清单需要随着新准则的采用或准则草案的拟订定期更新。

附件 9

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, D.C.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. 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. Gasiior & 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.

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

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

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

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

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

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

3. 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 KBK models based on log P. *Chemosphere* 33(6): 1047-1065

DoE, 1996. Guidance on the aquatic toxicity testing of difficult substance. Unites Kingdom Department of the Environment, London

Doucette, W.J., Andren, A.W. 1987. Correlation of octanol/water partition coefficients and total molecular surface area for highly 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

Chose, A.K., Protchet, A., Crippen, G.M. 1988. *J. Computational Chem.* 9:80-90

Gobas, F.A.P.C., Opperhuizen, A., Hutzinger, O. 1986. Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish: Relationship with membrane permeation. *Environ. Toxicol. Chem.* 5:637-646

Gobas, F.A.P.C., Clark, K.E., Shiu, W.Y., Mackay, D. 1989. Bioconcentration of polybrominated benzenes and biphenyls and related superhydrophobic chemicals in fish: Role of bioavailability and elimination into feces. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:231-245

Goodrich, M.S., Melancon, M.J., Davis, R.A., Lech J.J. 1991. The toxicity, bioaccumulation, metabolism, and elimination of dioctyl sodium sulfosuccinate DSS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Water Res.* 25:119-124

Hansch, C., Leo, A. 1979. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. Wiley, New York, NY, 1979

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

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

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

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

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

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

Kristensen, P. 1991. Bioconcentration in fish: Comparison of KBKs 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 hydrophobia 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.

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

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

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

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

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

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

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

4. QSAR 参考文献

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

US EPA (1999) Development of Chemical Categories in the HPV Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/sarfin1.htm>

US EPA (2000a), The Use of Structure-Activity Relationships (SAR) in the High Production Volume Chemicals Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/sarfin1.htm>

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

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

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

5. 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, ENV/JM/MONO(2001)6

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

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

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

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

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

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

