



中华人民共和国国家标准

GB/T 27856—2011

化学品 土壤中好氧厌氧转化试验

Chemicals—Aerobic and anaerobic transformation in soil test

2011-12-30 发布

2012-08-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

目 次

前言 III

引言 IV

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 受试物信息 3

5 试验原理 3

6 参比物质 3

7 试验方法概述 3

8 试验程序 5

9 质量保证与质量控制 8

10 数据与报告..... 8

附录 A (资料性附录) 水张力、田间持水量(FC)和土壤持水量(WHC) 11

附录 B (资料性附录) 不同国家不同类型的土壤湿度 12

附录 C (资料性附录) 试验装置示例 13

附录 NA (资料性附录) 我国不同地区不同类型土壤的主要理化性质 14

参考文献 15

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准技术性内容和经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 307(2002 年)《土壤中的好氧和厌氧转化》(英文版)技术性内容相同。

本标准做了下列结构和编辑性修改：

- 将计量单位改为我国法定计量单位。
- 为与现有标准系列一致,将标准名称改为《化学品 土壤中好氧厌氧转化试验》。
- 删除 OECD No. 307(2002 年)《土壤中的好氧和厌氧转化》引言的资料性部分。
- 原文“受试物资料”部分对五个理化指标给出了参考的测试方法。其中六个指标的九个测试方法有对应的我国标准:GB/T 21845《化学品 水溶解度试验》、GB/T 21852《化学品 分配系数(正辛醇-水) 高效液相色谱法试验》、GB/T 21853《化学品 分配系数(正辛醇-水) 摇瓶法试验》、GB/T 21855《化学品 与 pH 有关的水解作用试验》、GB/T 22052《用液体蒸汽压力计测定液体的蒸汽压力 温度关系和初始分解温度的方法》、GB/T 22228《工业用化学品 固体及液体的蒸汽压在 10^{-1} Pa 至 10^5 Pa 范围内的测定 静态法》、GB/T 22229《工业用化学品 固体及液体的蒸汽压在 10^{-3} Pa 至 1 Pa 范围内的测定 蒸汽压平衡法》、GB/T 27854—2011《化学品 土壤微生物 氮转化试验》和 GB/T 27855—2011《化学品 土壤微生物 碳转化试验》。这九个我国标准与 OECD 化学品测试导则 No. 104《蒸汽压》、OECD 化学品测试导则 No. 112《水中解离常数》一起作为本标准的规范性引用文件。
- 术语和定义中增加了“主要转化产物”(见 3.12)。
- 增加了资料性附录 NA“我国不同地区不同类型土壤的主要理化性质”。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准起草单位:环境保护部化学品登记中心、环境保护部南京环境科学研究所、中国环境科学研究院、广东省微生物分析检测中心、上海市环境科学研究院。

本标准主要起草人:刘纯新、杨力、陈琳、单正军、王蕾、李捍东、李霁、黄星、梅承芳。

引 言

本试验方法是用来评价化学物质在土壤中的好氧和厌氧转化。本试验用来测定(i)受试物的转化率,并且(ii)确定可能暴露于植物和土壤微生物的转化产物的性质以及它们的生成率和降解率。本试验的测试对象为那些直接施用于土壤或者很可能进入土壤环境中的化学物质。此类实验室研究结果也可为相关领域的研究提供取样和分析方案。

受试物的转化途径的评价仅需采用一种土壤进行好氧和厌氧转化研究,而受试物的转化率应采用三种以上的其他土壤来研究测定。

试验土壤类型应能代表受试物使用及释放进入的环境条件。例如,可能释放到亚热带、热带的土壤中的化学物质宜用 Ferrasols 或者 Nitosols 方法来处理(FAO 体系)。本方法也可使用水稻土。

化学品 土壤中好氧厌氧转化试验

1 范围

本标准规定了化学品土壤中好氧厌氧转化试验的术语和定义、受试物信息、试验原理、参比物质、试验方法概述、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准用于评价化学物质在土壤中的好氧和厌氧转化；用于测定化学物质在植物和土壤微生物作用下的转化率，以及转化产物的性质和生成率、降解率^[1-9]。

本标准适用于低挥发性的、水溶性或非水溶性、能够被精确测定的所有化学品（包括放射性标记物或非标记物）。

本标准不适用于在土壤中具有易挥发性，且本试验条件下无法在土壤中保留的化学物质。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 21845 化学品 水溶解度试验

GB/T 21852 化学品 分配系数（正辛醇-水） 高效液相色谱法试验

GB/T 21853 化学品 分配系数（正辛醇-水） 摇瓶法试验

GB/T 21855 化学品 与 pH 有关的水解作用试验

GB/T 22052 用液体蒸汽压力计测定液体的蒸汽压力和温度关系及初始分解温度的方法

GB/T 22228 工业用化学品 固体及液体的蒸汽压在 10^{-1} Pa 至 10^5 Pa 范围内的测定 静态法

GB/T 22229 工业用化学品 固体及液体的蒸汽压在 10^{-3} Pa 至 1 Pa 范围内的测定 蒸汽压平衡法

GB/T 27854 化学品 土壤微生物 氮转化试验

GB/T 27855 化学品 土壤微生物 碳转化试验

OECD 化学品测试导则 No. 104 蒸汽压 (Vapour Pressure)

OECD 化学品测试导则 No. 112 水中解离常数 (Dissociation Constants in Water)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

受试物 test substance

任意物质，包括母体物质或相关转化产物。

3.2

转化产物 transformation products

由受试物经生物和非生物转化生成的所有物质，包括 CO_2 和结合残留物中的产物。

3.3

结合残留物 bound residues

经提取之后仍以母体物质或者代谢产物的形式存在于土壤、植物以及动物中的化合物。提取方法不能在本质上改变化合物结构。结合的性质在一定程度上可通过改变提取方法和分析技术来确定。例如,可通过此种方法鉴别出共价键、离子键、吸附结合以及诱导效应。结合残留物的形成通常会使生物有效性和生物利用度显著减少^[1]。

3.4

好氧转化 aerobic transformation

有分子氧存在时发生的反应^[3]。

3.5

厌氧转化 anaerobic transformation

无分子氧存在时发生的反应^[3]。

3.6

土壤 soil

矿物和有机质的混合物,有机质是碳、氮量较高的大分子化合物,其间包含有活的小型生物(大部分是微生物)。

注:土壤可按以下两种状态处理:

- a) 原状土,随时间的推移,形成不同特性的土壤层;
- b) 扰动土,通常在耕地时或挖掘取样时发生扰动的土壤^[3]。

3.7

矿化 mineralization

一种有机化合物的完全降解,在好氧状态下变为 CO_2 和 H_2O ,在厌氧状态下变为 CH_4 、 CO_2 和 H_2O 。

注:本标准的试验条件下,若使用 ^{14}C 标记的化合物,矿化指由 ^{14}C 标记过的碳原子被氧化,并释放出一定量的 $^{14}\text{CO}_2$ ^[3]。

3.8

半衰期 half-life, $t_{0.5}$

当转化能够用一级反应动力学定律描述时,受试物转化 50% 所用时间。

注:受试物质半衰期与其浓度无关。

3.9

50% 衰减时间 disappearance time 50, DT_{50}

受试物质浓度减少 50% 所用时间。

注:当转化不符合一级反应动力学定律时,它不等同于半衰期 $t_{0.5}$ 。

3.10

75% 衰减时间 disappearance time 75, DT_{75}

受试物质浓度减少 75% 所用的时间。

3.11

90% 衰减时间 disappearance time 90, DT_{90}

受试物质浓度减少 90% 所用的时间。

3.12

主要转化产物 major transformation product

在试验过程中,浓度达到或超过受试物的添加剂量 10% 的转化产物。

4 受试物信息

4.1 受试物信息包括：

- a) 水中溶解度(GB/T 21845)^[13]；
- b) 有机溶剂中的溶解性；
- c) 蒸汽压(GB/T 22052、GB/T 22228、GB/T 22229 和 OECD No. 104)^[13]和亨利常数；
- d) 正辛醇-水分配系数(GB/T 21852 和 GB/T 21853)^[13]；
- e) 黑暗中的化学稳定性(水解性)(GB/T 21855)^[13]；
- f) 离解常数 pK_a 值(OECD No. 112)(对于易质子化或去质子化的受试物，应掌握该常数^[13])。

4.2 其他信息包括：

- a) 受试物对土壤微生物的毒性数据(见 GB/T 27854 和 GB/T 27855)^[13]；
- b) 受试物以及转化产物的定性和定量分析方法(包括提取与纯化方法)。

5 试验原理

在实验室可控条件下(恒定的温度与土壤湿度)，将加入了受试物的土壤置于黑暗中的静态生物计培养瓶或者动态流式系统中进行培养。经过适当时间后，提取和分析土壤中的母体物质和转化产物。用适当的吸收装置吸收挥发性产物并测定其含量。将受试物用¹⁴C 标记，分析产生的¹⁴CO₂，依据质量平衡，测定受试物的不同矿化率，确定结合残留物的构成。

6 参比物质

用光谱与色谱分析法对转化产物进行表征和/或鉴别研究时宜使用参比物质。

7 试验方法概述

7.1 仪器设备

试验所用仪器设备如下：

- a) 培养装置包括静态的密闭系统或者适当的流式系统^[7,14]。例如附录 C 中图 C.1 所示的动态流式土壤培养装置和图 C.2 所示的静态密闭生物计培养装置；
- b) 分析仪器，气相色谱仪(GC)、高效液相色谱仪(HPLC)、薄层色谱仪(TLC)、质谱仪(MS)、气相色谱质谱联用仪(GC-MS)、高效液相色谱质谱联用仪(HPLC-MS)和核磁共振仪(NMR)等用于受试物及转化产物化学分析的仪器设备，以及包括用于检测放射性同位素示踪标记、非标记受试物及反同位素稀释法的检测系统；
- c) 液闪仪和用于氧化放射性物质的氧化器；
- d) 离心机；
- e) 提取装置(例如，在回流的状态下进行连续抽提的冷抽提离心管和索氏抽提装置)；
- f) 浓缩装置(例如，旋转蒸发仪)；
- g) 水浴锅；
- h) 机械搅拌装置；
- i) 用于理化分析及生物检测的标准实验室设备和玻璃器具。

7.2 化学试剂

试验所用化学试剂如下：

- a) NaOH(分析纯):2 mol/L,或者其他的合适的碱性试剂(KOH 和乙醇胺);
- b) H₂SO₄(分析纯):0.05 mol/L;
- c) 乙二醇(分析纯);
- d) 固体吸收材料,例如碱石灰和聚氨酯;
- e) 有机溶剂(分析纯),例如丙酮和甲醇等;
- f) 闪烁液。

7.3 受试物添加

7.3.1 受试物以液体形式加入土壤

可将受试物溶于去离子水或蒸馏水,喷洒到受试土样中,使受试物在土壤中分散均匀。

尽量不使用助溶剂。但是对于水溶性差的受试物,可适当选择丙酮^[6]等对土壤微生物活性影响小的助溶剂,使用量应尽可能少。受试物在这些助溶剂中应能充分溶解并稳定存在。在正式试验前,应使这种溶剂从土壤中挥发掉。

应避免使用抑制微生物活性的溶剂,例如氯仿、二氯甲烷及其他卤代有机溶剂。

通常不宜使用受试物的制剂,但对于溶解性差的受试物,制剂可适当选择。

7.3.2 受试物以固体形式加入土壤

可将受试物与石英砂混合^[6],或者与少量被风干或灭菌过的受试土壤子样品混合,再与受试土壤均匀混合。如果受试物是溶于溶剂后再加入土壤子样品的,那么应先将该溶剂挥发后,再将土壤子样品加入原始非灭菌土壤。

对于通常以污水污泥或农业施用为进入土壤主要途径的一般化学物质,应首先将受试物加入到污泥中,然后再把污泥引入到土壤样品中(见 8.2.1)。

7.4 试验用土壤

7.4.1 土壤的选择

7.4.1.1 要确定受试物的转化途径,可使用一种具有代表性的土壤:砂质壤土、粉砂壤土、壤土或者是壤质砂土均可^[15],其中 pH 值为 5.5~8.0,有机碳含量为 0.5%~2.5%,微生物量至少为总有机碳含量的 1%^[10]。

7.4.1.2 要研究受试物的转化率,应至少选择另外三种有代表性的土壤。这些土壤的有机碳含量、pH 值、黏土含量及微生物含量应有所不同^[10]。

7.4.1.3 试验土壤类型应能代表受试物将施用及释放进入的环境条件。也可使用水稻土。

7.4.1.4 所有土样都应确定质地(砂、粉砂、黏土所占百分比)^[15]、pH 值、阳离子交换量、有机碳含量、容重、土壤保水性及微生物量(仅好氧研究)等其他特征^[16-20]。

7.4.1.5 土壤保水性可通过田间持水量(FC)、持水量(WHC)或者水张力(pF)确定。见附录 A 中的解释。

7.4.1.6 微生物量可用底物诱导呼吸法^[21-22]或替代的方法^[17]来确定。

7.4.2 土壤的采集、处理与储存

7.4.2.1 土壤采集地

应选择掌握准确地理位置、植被覆盖、化学物质施用、有机与无机肥料以及生物肥料施用、其他污染物情况等详细信息的地点作为土壤采集地。不能采用四年之内施用过受试物或者与受试物化学结构类似物质的土壤^[10,12]。如果冬天土壤结冰或其上覆盖着厚雪层,土壤取样困难,可采集温室中有植被覆盖的土壤(草地或者草-三叶草的混合场地)。

7.4.2.2 土壤采集和处理

如果不是水稻土,应避免在长时间干旱期、霜冻期及洪涝期(大于 30 d)^[12]的期间或之后立即采样。采集含水量便于筛分的新鲜土壤(土壤表面以下 20 cm 以内土层),尽快进行处理。首先挑出动植物残体和石块,再将土样过 2 mm 筛以去除小石块、植物根茎及其他碎屑。土壤过筛前,应避免过分干燥及碾压^[12]。可以用开口的聚乙烯袋装,运输期间放在阴暗通风处,尽量减少土壤含水量变化。

7.4.2.3 土壤储存

如果在采集后不能马上进行试验,为保持微生物活性,应严格控制对土样进行短期储存的条件。一般地,土壤样品在 4 °C ± 2 °C 条件下最长储存时间为三个月^[8,10,12,23-24]。

7.4.2.4 土壤预培养

土壤在正式试验前,应进行预培养,使种子发芽且去除种子。根据土壤从采集或储存的状态到培养状态的变化情况,重新建立微生物新陈代谢平衡。预培养时间为 2 d ~ 28 d,温度与湿度接近于实际测试条件^[12]。储存与预培养的总时间不应超过三个月。

7.5 受试物标记

受试物化学纯度和/或放射化学纯度应达到 95% 以上。可使用放射性同位素示踪原子标记或非标记的受试物来测定转化率。如果研究转化途径以及确立质量平衡,应使用标记过的物质示踪。优先推荐使用 ¹⁴C 示踪原子作标记,也可用 ¹³C、¹⁵N、³H、³²P 等同位素原子作标记。尽可能地将示踪原子标记于分子最稳定的部位。如果受试物质含有一个环,应将示踪原子标记在这个环上;如果受试物质含有 2 个或更多环,应分别研究在每个环上作标记的效果、获得转化产物形成的信息。

7.6 对照组

未加受试物的土壤对照组样品与加入受试物的待测土壤样品在相同条件下(有氧)进行培养。试验进行中及结束时,测定这些对照组样品的生物量。

若受试物加入土壤时使用了有机溶剂,则土壤对照组样品应加入与待测土壤样品相同量的溶剂,并在相同条件下(有氧)进行培养。在试验开始、进行中及结束时,测定这些样品的生物量,以检测有机溶剂对微生物生物量的影响。

8 试验程序

8.1 试验条件

8.1.1 试验温度

整个试验期间,土壤应避免光、恒温培养。培养温度应能够代表受试物使用或释放的气候条件。温带

气候条件下,对所有的受试物推荐的试验温度为 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。整个试验期间应对温度进行监控。

对于较冷气候条件下使用或释放的化学物质(例如,在北方一些地区的秋季/冬季),应在较低温度下(例如 $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$)平行培养另一组土壤样品。

8.1.2 湿度

好氧转化试验中,应调整土壤湿度并保持水张力的 pF 值在 2.0~2.5 之间^[3]。土壤不要太湿或太干,以维持良好的好氧条件和微生物的营养物含量。附录 B 给出不同国家 9 种类型土壤的典型湿度;附录 NA 给出我国 13 种典型土壤的主要理化性质。含水量应用每千克干土壤中所含水的质量来表示,且应通过定期(例如每隔 2 周)称培养瓶质量、添加水(最好是无菌过滤自来水)补偿所损失质量来控制土壤湿度。在增加湿度的过程中,应防止或减少由于挥发和/或光降解(如果有)而导致的受试物和/或转化产物的损失。

对于厌氧和水稻田条件下的转化试验,应加水溢流使土壤水饱和。

8.1.3 好氧培养条件

好氧状态主要存在于表层土和次表层土。动态流式系统中,通过湿空气间歇吹扫或连续通入湿空气来模拟好氧状态。在静态生物计培养装置中,通过扩散来交换空气,维持好氧状态。

8.1.4 无菌好氧条件

为获得受试物非生物转化的相关信息,可将土壤灭菌^[13,26],加入无菌的受试物(例如,通过灭菌过滤器加入溶液)并且如 8.1.3 所描述的方式通入湿的无菌空气。

对于水稻土,土壤和水应灭菌并按 8.1.6 进行培养。

8.1.5 厌氧培养条件

先用受试物对土壤暴露处理并在好氧条件下培养 30 d 或一个 $t_{0.5}$, 或一个 DT_{50} (三者选其短),然后加水并保持浸水层 1 cm~3 cm,来建立并保持厌氧环境。动态流式培养系统用氮气或氩气等惰性气体吹扫。试验系统应能够测量 pH 值、氧浓度和氧化还原电位,并配有能收集挥发性产物的设备。静态生物计培养装置应密闭,避免空气进入。

8.1.6 水稻土培养条件

研究受试物在水稻土中的转化,转化试验前应进行至少 2 周的预培养,去除种子。

土壤深度至少为 5 cm。试验时,土壤浸水层深度保持约为 1 cm~5 cm,且受试物质应添加于水相^[9]。好氧条件下用空气进行曝气。监控并报告水层的 pH 值、氧浓度和氧化还原电位。

8.1.7 试验持续时间

速率以及转化途径试验通常不超过 120 d^[3,6,8]。如果好氧试验在 120 d 前已明显完成最终转化途径和完全矿化,试验可以提前结束。试验也可在 120 d 后结束,或至少 90% 受试物转化且形成的 CO_2 超过受试物理论 CO_2 值的 5% 时结束。

对受试物和主要转化产物的形成与降解特性试验的持续时间会超过 120 d,可能达到 6 个月或 12 个月^[8]。

8.2 受试物分装

8.2.1 分装方法一

每个培养瓶中(参见附录 C 的图 C.1 和图 C.2)加入大约 50 g~200 g 土壤(干重),并按 7.3 中所

描述方法将受试物均匀添加于土壤样品中。用刮铲搅拌或摇动将受试物与土壤完全混合。

在水稻田条件下添加受试物后,土样与水要混合完全。

取少量处理后的土壤(例如 1 g)分析其受试物含量以确定受试物在土壤中的均匀性。其他可用方法如下:

如果受试物是一种植保产品,其处理率应与其使用说明中推荐的最高施用率一致,且与土壤混合深度一致(例如,表层 10 cm 的土壤)。

注:一个地区初始浓度的计算可用方程:

$$C_{\text{土壤}} = \frac{A \times 10^6}{l \times d}$$

式中:

$C_{\text{土壤}}$ ——土壤中初始浓度,单位为毫克每千克(mg/kg);

A ——施用率,单位为千克每平方米(kg/m²);

l ——土壤厚度,单位为米(m);

d ——土壤干容重,单位为千克每立方米(kg/m³)。

100 mg/m²(相当于每公顷 1 kg)的施用率在 10 cm 土层中的初始浓度约为 1 mg/kg(假定土壤容重为 1 g/cm³)。

例如,对于不与土壤混合的叶用或土壤用化学物质,每个瓶中的受试物的添加量与深度有关,本试验为 2.5 cm。对与土壤混合的化合物,采用其使用说明中的土壤混合深度。对于一般化学物质来说,添加率应根据其进入土壤的主要途径来评估。例如,若化学物质进入土壤的主要途径是通过污水污泥,则受试物应按一定浓度加入到污泥中,添加浓度应能反映预期污泥的浓度,并且加入土壤中污泥的量应能反映加入农田土壤中污泥的正常量。如果此浓度不足以用来确定受试物的主要转化产物,则另外培养含有受试物比例更高的土壤样品作为备用,但应避免过多的转化产物影响土壤微生物的功能(见 4.2 和 7.3.1)。

8.2.2 分装方法二

对于较大量(1 kg~2 kg)的土壤样品,可用受试物对土壤进行批处理,即将土样放入搅拌机中混合均匀,然后分装到培养瓶中,每个培养瓶中土样的质量 50 g~200 g。从处理过的批量土样中抽取 1 g 试样,用来分析受试物分布的均匀性。

注:此过程对于确保受试物在土壤中分布均匀很重要。

盛装处理后土壤的试验装置可选择如图 C.1 所示的动态流式系统,或者图 C.2 所示的静态生物计培养装置(见附录 C)。

8.3 采样与检测

间隔一定的时间取样,每次采一组两瓶平行的土壤样品,用不同极性的溶剂进行萃取,分析其受试物和/或转化产物的含量。另外,每个土壤样品处理过程中和结束阶段,间隔不同的时间(第一个月间隔 7 d,第一个月之后间隔 14 d)应收集吸收溶液或固体吸收材料并分析其挥发性物质的含量。除了添加受试物后直接取出的土壤样品(0 d 样品),还应至少选取另外五个采样点。应根据受试物降解方式及转化产物降解和生成方式选择试验时间间隔(例如,间隔 0 d、1 d、3 d、7 d;14 d、21 d;一个月、两个月、三个月等)。

若使用¹⁴C 标记受试物,对这类不能萃取的放射活性通过燃烧定量测定,并且通过每次取样计算质量平衡。

在厌氧和水稻田培养条件下,对于土壤和水相进行受试物和转化产物分析,或将水相与土壤用过滤或离心的方法分离后再萃取、分析。

8.4 供选试验

不同温度和土壤湿度条件下的好氧、非灭菌试验可用于评估温度和土壤湿度对于土壤中受试物转化率及其转化产物的影响。

可尝试用超临界萃取等方法对不可萃取的放射活性进一步测定。

9 质量保证与质量控制

9.1 回收率

受试物加入土壤后应立刻提取分析至少两个平行的土壤样品,以保证分析方法的重现性和受试物使用过程的一致性。通过各自的质量平衡得到试验后续阶段的回收率。标记过的物质^[8]的回收率应达到 90%~110%,未标记过的物质的回收率应达到 70%~110%^[3]。

9.2 分析方法的重现性与灵敏度

在培养时间足以保证转化产物形成的情况下,可通过重复分析同一土壤提取物样品的方法来检验受试物和转化产物定量分析方法的重现性(不包括最初提取率)。

受试物及其转化产物分析方法的检出限(LOD)至少应为每千克土壤中含有 0.01 mg 受试物,或含有添加剂量的 1% 以下。应给出明确定量检出限(LOQ)。

9.3 转化数据的精确度

在准一级动力学的条件下,将受试物浓度作为时间的函数进行回归分析即得到转化曲线的可信度,并据此计算 $t_{0.5}$ 置信限或 DT_{50} 值,也可计算 DT_{75} 和 DT_{90} 值。

10 数据与报告

10.1 数据处理

每次取样中的挥发性物质的含量用初始浓度百分比表示;受试物、转化产物以及不可萃取物,可以用初始浓度百分比表示,也可以用 mg/kg 土壤(干重)来表示。每次取样用加入土壤的受试物初始浓度百分数表示质量平衡。通过绘制受试物浓度-时间图可以得出转化反应的 $t_{0.5}$ 和 DT_{50} 。主要转化产物应定性定量分析,并绘制浓度-时间图,用来表征主要转化产物的形成与分解速率。

收集的挥发性产物的量可以反映受试物及其转化产物潜在的挥发性。

使用合适的动力学模型可以更精确地计算 $t_{0.5}$ 或 DT_{50} 值、 DT_{75} 值和 DT_{90} 值。报告中应同时包括 $t_{0.5}$ 、 DT_{50} 值及其所使用的动力学模型、动力学反应级数、相关系数(r^2)。除了 $r^2 < 0.7$ 的情况外,一般推荐使用一级动力学模型。必要时也可用上述方法对主要转化产物进行计算^[28-32]。

研究不同温度下的转化速率,根据 Arrhenius 方程,将转化速率常数在试验温度范围内写成与温度相关的函数,见式(1):

$$k = A \cdot e^{-B/T} \text{ 或者 } \ln k = \ln A - \frac{B}{T} \dots\dots\dots (1)$$

式中:
T ——开尔文温度;
k ——在温度 T 下的速率常数;
lnA ——常数,lnk-1/T 线性回归直线的截距;

B ——常数, $\ln k - 1/T$ 线性回归直线的斜率。

由于转化过程中微生物作用占主导,因此应注意 Arrhenius 方程适用的温度范围。

10.2 试验报告

试验报告应包括以下内容:

a) 受试物:

- 通用名、化学名、CAS 号、结构式(如果用了放射性标记物标记,应指出标记的位置)及相关的物理化学特性(见 4.1);
- 纯度(杂质);
- 标记化学品的放射化学纯度和活度(适用时)。

b) 参比物质:

- 用来对转化产物进行表征和/或鉴别研究的参比物质的化学名称和结构。

c) 受试土壤:

- 采集地的详细信息;
- 土壤采样的日期与程序;
- 土壤的 pH、有机碳含量、质地(砂、粉砂土、黏土的百分比)、阳离子交换量、容重、持水性及微生物的生物量等特性;
- 土壤储存的时间及条件(如有储存);
- 土壤的持水性和容重是在原状土还是在扰动(过程)土中测得的。

d) 试验条件:

- 试验操作日期;
- 受试物使用量;
- 所用溶剂及受试物添加方法;
- 处理后土样的初始质量及每次用于分析的土样质量;
- 培养系统详细信息;
- 空气流速(仅适用动态流式系统);
- 试验设置温度;
- 培养过程中的土壤湿度;
- 好氧研究的初始、过程中及最终阶段的微生物量;
- 厌氧和水稻田研究的初始、过程中及最终阶段的土壤 pH 值、氧浓度及氧化还原电位;
- 萃取方法;
- 土壤和吸附材料中受试物和主要转化产物的定性、定量检测方法;
- 平行样和对照组样品的数量;
- 如果培养期较长,应说明并记录此过程及其结束时测定的生物量。

e) 试验结果:

- 微生物活性测定结果;
- 分析方法的重现性和灵敏度;
- 回收率(9.1 中给出了有效试验的范围);
- 用初始剂量的百分数制表,并用 mg/kg 土壤(干重)表示;
- 试验过程中和结束时的质量平衡;
- 在土壤中不可萃取放射物质及残留物描述;
- 释放 CO_2 以及其他挥发性化合物的量;
- 土壤中受试物浓度-时间图,也可以给出主要转化产物-时间图;

- 受试物及主要转化产物的 $t_{0.5}$ 、DT₅₀、DT₇₅ 和 DT₉₀，包括置信区间；
- 灭菌条件下受试物的非生物降解率；
- 受试物及主要转化产物的转化动力学分析；
- 可给出受试物的转化途径；
- 试验结果的讨论与说明；
- 原始数据(例如样品的色谱分析图，样品转化率的计算以及转化产物的鉴别方法)。

10.3 评价和结果说明

尽管此试验在人工实验室条件下进行，但其结果可用于估算受试物在田间环境中的转化率以及转化产物的生成率和衰减率^[33-34]。

化学物质进入土壤后，在化学和生物作用下，结构会发生改变。本试验中受试物转化途径研究的结果，可以提供相关信息。

附录 A
(资料性附录)

水张力、田间持水量(FC)和土壤持水量(WHC)

A.1 水张力、田间持水量(FC)和土壤持水量(WHC)见表 A.1。

表 A.1 水张力、田间持水量(FC)和土壤持水量(WHC)¹⁾

水柱高度/ cm	pF ^a	bar ^b	备 注
10 ⁷	7	10 ⁴	干燥土壤
1.6×10 ⁴	4.2	16	萎蔫点
10 ⁴	4	10	
10 ³	3	1	
6×10 ²	2.8	0.6	
3.3×10 ²	2.5	0.33 ^c	田间持水量范围 ^d
10 ²	2	0.1	
60	1.8	0.06	
33	1.5	0.033	
10	1	0.01	WHC(近似值)
1	0	0.001	水饱和土壤
^a pF=水柱厘米数对数值。 ^b 1 bar=10 ⁵ Pa。 ^c 大致的含水量为:砂土中 10%,壤土中 35%,黏土中 45%。 ^d 田间持水量不稳定,但不同土壤类型中 pF 变化值在 1.5~2.5 之间。			

水张力以 cm 水柱或者 Pa 表示,由于吸水压的范围较大,可用水柱厘米数的对数值来简单表示。

田间持水量(FC)是自然土壤经过较长时间的雨期浸透或充分灌溉 2 d 后,克服重力吸收储存的水量。其数值为在未经扰动的原位土壤中的测量结果,因此不能被应用于扰动的实验室土壤样品。扰动土壤中测出的 FC 值可能有很大的系统差异性。

土壤持水量(WHC)可在实验室中通过毛细作用使原状土或扰动土达到水饱和后进行测量。该数值对于扰动土尤其适用,其数值可高于田间持水量 30%。与 FC 值相比,它更容易在实验室获得。

1) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

附 录 B
(资料性附录)

不同国家不同类型的土壤含水量

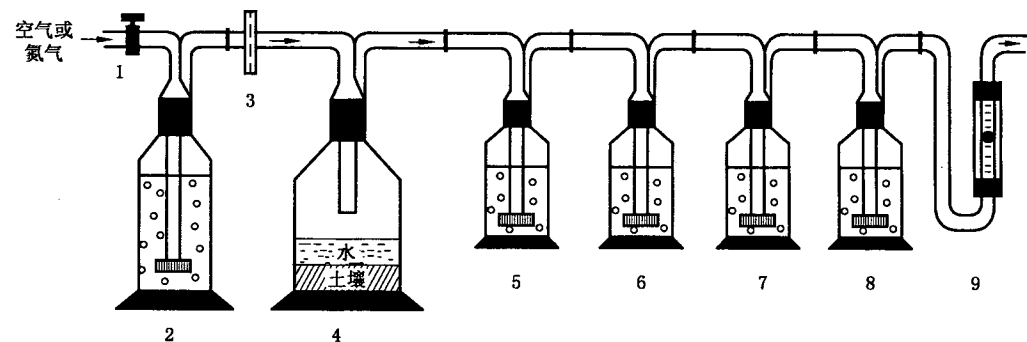
B.1 不同国家不同类型的土壤含水量见表 B.1。

表 B.1 不同国家不同类型的土壤含水量(100 g 干燥土壤中含水质量)

土壤类型	国家	土壤水含量		
		WHC	pF=1.8	pF=2.5
砂壤	德国	28.7	8.8	3.9
壤质砂土	德国	50.4	17.9	12.1
壤质砂土	瑞士	44.0	35.3	9.2
粉砂壤土	瑞士	72.8	56.6	28.4
黏壤土	巴西	69.7	38.4	27.3
黏壤土	日本	74.4	57.8	31.4
砂壤土	日本	82.4	59.2	36.0
粉砂壤土	美国	47.2	33.2	18.8
砂壤土	美国	40.4	25.2	13.3

附录 C
(资料性附录)
试验装置示例

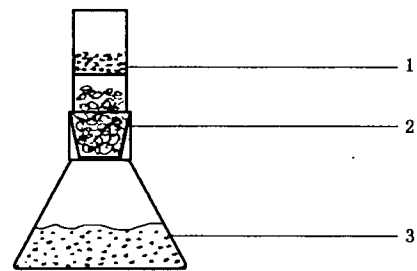
C.1 动态流式培养装置(见图 C.1)



- 1——针形阀；
- 2——含水的洗气瓶；
- 3——超滤膜(仅在无菌条件),孔径为 $0.2\mu\text{m}$ ；
- 4——土壤代谢瓶(仅在厌氧及水稻田浸水状态下水浸)；
- 5——吸收有机挥发化合物的乙二醇收集瓶；
- 6——吸收碱性挥发化合物的硫酸收集瓶；
- 7——吸收 CO_2 以及其他酸性挥发物的氢氧化钠收集瓶；
- 8——吸收 CO_2 以及其他酸性挥发物的氢氧化钠收集瓶；
- 9——流量计。

图 C.1 研究土壤中化学物质转化所用动态流式培养装置示例

C.2 静态生物计培养装置(见图 C.2)



- 1——用于吸收 CO_2 的碱石灰；
- 2——石油处理过的玻璃纤维或聚氨酯泡沫,用于吸收挥发性有机物；
- 3——土壤+受试物。

图 C.2 研究土壤中化学物质转化所用静态生物计培养装置示例

附 录 NA

(资料性附录)

我国不同地区不同类型土壤的主要理化性质

NA. 1 我国不同地区不同类型土壤的主要理化性质见表 NA. 1。

表 NA. 1 我国不同地区不同类型土壤的主要理化性质

土壤类型	质地	pH	容重/ (kg/dm ³)	土壤持水量/ %	阳离子交换量/ (cmol/kg)	
新疆灰漠土	黏壤土	7.69	2.83	24.4	9.6	2.9
吉林黑土	壤质黏土	6.72	3.35	33.6	36.6	26
北京褐潮土	砂质壤土	7.28	2.96	29.3	10.5	7.2
陕西黄土	粉砂质黏壤土	7.59	2.83	30.29	14.5	9.5
河南潮土	砂质壤土	7.02	2.84	26.11	9.2	6.2
重庆紫壤	黏质壤土	7.26	2.86	34.34	33.5	22.4
浙江水稻土	黏壤土	6.81	2.84	34.71	12.6	11.7
湖南红壤	壤质黏土	5	2.93	35.7	10.8	9.3
江西红壤	壤质黏土	6.39	2.71	33.27	10.8	6.9
江苏水稻土	壤质土	7.61	3.1	38.96	22.4	26.5
山东潮土	砂质黏壤土	8.21	3.71	30.39	9.8	10.4
河北潮土	壤质黏土	8.12	2.67	29.86	11.7	11.3
黑龙江海伦黑土	砂质黏壤土	7.04	2.63	36.99	37.7	38.7

参 考 文 献

- [1] US-Environmental Protection Agency (1982). Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N. Chemistry, Environmental Fate
- [2] Agriculture Canada (1987). Environmental Chemistry and Fate. Guidelines for registration of pesticides in Canada
- [3] European Union (EU) (1995). Commission Directive 95/36/EC of 14 July 1995 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Annex II, Part A and Annex III, Part A; Fate and Behaviour in the Environment
- [4] Dutch Commission for Registration of Pesticides (1995). Application for registration of a pesticide. Section G; Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air
- [5] BBA (1986). Richtlinie für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil IV, 4-1. Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden-Abbau, Umwandlung und Metabolismus
- [6] ISO/DIS 11266-1 (1994). Soil Quality—Guidance on laboratory tests for biodegradation of organic chemicals in soil-Part 1: Aerobic conditions
- [7] ISO 14239 (1997). Soil Quality—Laboratory incubation systems for measuring the mineralisation of organic chemicals in soil under aerobic conditions
- [8] SETAC (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides. Mark R. Lynch, Ed
- [9] MAFF-Japan (2000). Draft Guidelines for transformation studies of pesticides in soil-*Aerobic metabolism study in soil under paddy field conditions (flooded)*
- [10] OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments. Bel-girate, Italy, 18-20 January 1995
- [11] Guth, J. A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R. J. Hance, Ed.), Academic Press, 123-157
- [12] ISO 10381-6 (1993) Soil Quality-Sampling—Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory
- [13] OECD (1993). Guidelines for the Testing of Chemicals. Paris. OECD (1994—2000). Addenda 6-11 to Guidelines for the Testing of Chemicals
- [14] Guth, J. A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D. H. Hutson, T. R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85-114
- [15] Soil Texture Classification (US and FAO systems); Weed Science, 33, Suppl. 1 (1985) and Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 26:305 (1962)
- [16] Methods of Soil Analysis (1986). Part 1, Physical and Mineralogical Methods. A. Klute, Ed. Agronomy Series No 9, 2nd Edition
- [17] Methods of Soil Analysis (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A. L. Page, R. H. Miller and D. R. Keeney, Eds. Agronomy Series No 9, 2nd Edition
- [18] ISO Standard Compendium Environment (1994). Soil Quality-General aspects; chemical and physical methods of analysis; biological methods of analysis. First Edition
- [19] Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main
- [20] Scheffer, F. , Schachtschabel, P. (1975). Lehrbuch der Bodenkunde. F. Enke Verlag, Stutt-

gart

- [21] Anderson, J. P. E. , Domsch, K. H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10:215-221
- [22] ISO 14240-1 and 2 (1997). *Soil Quality—Determination of soil microbial biomass—Part 1: Substrate-induced respiration method; Part 2: fumigation-extraction method*
- [23] Anderson, J. P. E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. In *Pesticide Effects on Soil Microflora*. L. Somerville, M. P. Greaves, Eds. Taylor & Francis, 45-60
- [24] Kato, Yasuhiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and bio-transformation of pesticides in aqueous environment. *Proceedings of the 16th Symposium on Environmental Science of Pesticide*, 105-120
- [25] Keuken O. , Anderson J. P. E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. In *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 59-63 (SETAC-Europe)
- [26] Stenberg B. , Johansson M. , Pell M. , Sjödaahl-Svensson K. , Stenström J. , Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. In *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 68-69 (SETAC-Europe)
- [27] Gennari, M. , Negre, M. , Ambrosoli, R. (1987). Effects of ethylene oxide on soil microbial content and some chemical characteristics. *Plant and Soil* 102:197-200
- [28] Anderson, J. P. E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. *Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII* , 141-146
- [29] Hamaker, J. W. (1976). The application of mathematical modelling to the soil persistence and accumulation of pesticides. *Proc. BCPC Symposium: Persistence of Insecticides and Herbicides*, 181-199
- [30] Goring, C. A. I. , Laskowski, D. A. , Hamaker, J. W. , Meikle, R. W. (1975). Principles of pesticide degradation in soil. In *“Environmental Dynamics of Pesticides”*. R. Haque and V. H. Freed, Eds. , 135-172
- [31] Timme, G. , Frehse, H. , Laska, V. (1986). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. II. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 39: 188-204
- [32] Timme, G. , Frehse, H. (1980). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. I. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 33:47-60
- [33] Gustafson D. I. , Holden L. R. (1990). Non-linear pesticide dissipation in soil; a new model based on spatial variability. *Environm. Sci. Technol.* 24:1032-1041
- [34] Hurle K. , Walker A. (1980). Persistence and its prediction. In *Interactions between Herbicides and the Soil* (R. J. Hance, Ed.) , Academic Press, 83-122

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化学品 土壤中好氧厌氧转化试验
GB/T 27856—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 36 千字
2012年4月第一版 2012年4月第一次印刷

*

书号: 155066·1-44814 定价 24.00 元



GB/T 27856-2011

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107