



中华人民共和国国家标准

GB/T 31270.7—2014

化学农药环境安全评价试验准则 第7部分：生物富集试验

Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides—Part 7: Bioconcentration test

2014-10-10 发布

2015-03-11 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

前　　言

GB/T 31270《化学农药环境安全评价试验准则》分为 21 个部分：

- 第 1 部分：土壤降解试验；
- 第 2 部分：水解试验；
- 第 3 部分：光解试验；
- 第 4 部分：土壤吸附/解吸试验；
- 第 5 部分：土壤淋溶试验；
- 第 6 部分：挥发性试验；
- 第 7 部分：生物富集试验；
- 第 8 部分：水-沉积物系统降解试验；
- 第 9 部分：鸟类急性毒性试验；
- 第 10 部分：蜜蜂急性毒性试验；
- 第 11 部分：家蚕急性毒性试验；
- 第 12 部分：鱼类急性毒性试验；
- 第 13 部分：溞类急性活动抑制试验；
- 第 14 部分：藻类生长抑制试验；
- 第 15 部分：蚯蚓急性毒性试验；
- 第 16 部分：土壤微生物毒性试验；
- 第 17 部分：天敌赤眼蜂急性毒性试验；
- 第 18 部分：天敌两栖类急性毒性试验；
- 第 19 部分：非靶标植物影响试验；
- 第 20 部分：家畜短期饲喂毒性试验；
- 第 21 部分：大型甲壳类生物毒性试验。

本部分是 GB/T 31270 的第 7 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由中华人民共和国农业部提出并归口。

本部分负责起草单位：农业部农药检定所、环保部南京环境科学研究所。

本部分主要起草人：单正军、林荣华、孔祥吉、王娜、李莹、吴珉、张宏涛。

化学农药环境安全评价试验准则

第 7 部分: 生物富集试验

1 范围

GB/T 31270 的本部分规定了生物富集试验的材料、条件、操作、质量控制、数据处理、试验报告等的基本要求。

本部分适用于化学农药登记而进行的生物富集试验,仅当供试物 $\text{Log } K_{ow} > 3$ 时才进行该项试验。其他类型的农药可参照使用。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

生物富集 bioconcentration

生物体从生活环境与食物中不断吸收低剂量物质、逐渐在体内积累浓缩的过程。

同义词:生物浓缩、生物蓄积 bioaccumulation。

[NY/T 1667.5—2008,定义 3.5]

2.2

供试物 test substance

试验中需要测试的物质。

2.3

化学农药 chemical pesticide

利用化学物质人工合成的农药。其中有些以天然产品中的活性物质为母体,进行仿制、结构改造,创新而成,为仿生合成农药。

同义词:有机合成农药 synthetic organic pesticide。

[NY/T 1667.1—2008,定义 2.3.1]

2.4

原药 technical material

在制造过程中得到的有效成分及杂质组成的最终产品,不能含有可见的外来物质和任何添加物,必要时可加入少量的稳定剂。

[NY/T 1667.2—2008,定义 2.5.1]

2.5

有效成分 active ingredient; a. i.

农药产品中具有生物活性的特定化学结构成分。

[NY/T 1667.2—2008,定义 3.1]

2.6

半静态试验法 semi-static test

试验期间每隔一定时间(如 24 h)更换一次药液,保持试验药液的浓度不低于初始浓度的 80%。

2.7

静态试验法 static test

试验期间不更换试验药液。

2.8

流水式试验法 flow-through test

试验期间药液自动连续地流入试验容器,同时保持容器内药液体积的相对恒定。

3 试验概述

采用鱼类作为供试生物,按供试物的性质采用静态法、半静态法或流水式试验法。将受试鱼暴露于两个浓度的供试物溶液中,定期采样测定鱼体与药液中供试物的浓度,计算得生物富集系数(BCF),以此评价供试物的生物富集性。根据农药登记管理法规及其他规定选择相关方法进行试验。

4 试验方法

4.1 材料和条件

4.1.1 供试物

供试物应使用农药纯品、原药或制剂。

4.1.2 供试生物

试验用鱼种宜选择的斑马鱼(*Brachydonio rerio*)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、虹鳟鱼(*Oncorhynchus mykiss*)、青鳉(*Oryzias latipes*)或稀有鮈(*Gobiocypris rarus*)幼鱼,具体体长和水温条件等驯养要求参见附录A。如选用其他鱼类作为供试生物,应采用相应的驯养和试验条件,并加以说明。

试验用鱼应健康无病,大小一致。试验前应在与试验时相同的环境条件下驯养7 d~14 d,驯养期间每天喂食1次~2次,每日光照12 h~16 h,及时清除粪便及食物残渣。试验期间在必要时投入适量饵料(每天投喂量约为鱼体重的1%~2%),每天用虹吸管及时清除试验鱼缸中剩余的饵料和排泄物。

4.1.3 主要仪器设备

主要仪器设备如下:

——鱼缸;

——气相色谱仪/液相色谱仪等。

4.1.4 试验用水

试验用水为存放并去氯处理24 h以上的自来水(必要时经活性炭处理)或能注明配方的稀释水。水质硬度在10 mg/L~250 mg/L之间(以CaCO₃计),pH在6.0~8.5之间,并且试验期间变化量在±0.5之间,溶解氧保持在试验温度下饱和值的60%。

4.2 试验操作

4.2.1 供试物溶液配制

将供试物溶于水中,难溶于水的可用少量低毒、不易降解的有机溶剂(如叔丁醇或二甲亚砜)助溶,加量小于0.1 mL/L。

4.2.2 方法的选择

按供试物的稳定性选择静态试验法、半静态试验法或流水式试验法。对于稳定性较强的供试物采用静态试验法；对具有一定稳定性的供试物，如供试物水溶液在 24 h 内浓度变化小于 20%，采用半静态试验法；对易降解与强挥发性的供试物，采用流水式试验法。方法选择详见附录 B。

4.2.3 正式试验

应先做鱼类急性毒性试验,求得 LC_{50} (96 h)值,再进行生物富集试验。配制药液浓度通常为急性毒性 LC_{50} (96 h)的 1/10 和 1/100 两个处理,每个处理至少应设两个平行。每个处理投放一定数量的试验用鱼,投放数量应满足试验分析的需要,并使生物承载量满足每天每升水承载鱼重(湿重)0.1 g~1.0 g。试验过程中定期测定水中 pH、溶解氧含量,于 0 h、24 h、48 h、96 h、144 h、192 h 分别从各处理中取水样与鱼样(称重,采集鱼尾数应满足试验分析的需要,采用虹吸法采集水样),测定水样与鱼样中的供试物含量。同时设置不加供试物的对照处理。

4.3 数据处理

检测鱼体摄入供试物的实际值。试验结束时水体及鱼体中供试物含量变化已达到平衡，则鱼体对供试物的富集系数按式(1)计算，计算结果保留三位有效数字。

式中：

BCF ——生物富集系数;

C_{fs} ——平衡时鱼体内的供试物含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C_{ws} ——平衡时水体中的供试物含量,单位为毫克每升(mg/L)。

如果在试验结束时,鱼体中农药浓度尚未达到平衡,则用上述公式求出的富集系数值应注明是 8 d 的结果,即用 BCF_{8d} 表示。

4.4 质量控制

质量控制条件包括：

- 试验前试验用鱼应在实验室内预养一周，预养期间生长正常，死亡率小于5%；
 - 水和鱼体中农药残留量测定方法回收率为70%~110%，最低检测浓度限应低于初始添加浓度的1%；
 - 试验期间水中溶解氧保持试验温度下饱和值的60%；
 - 试验期间试验鱼生长正常；
 - 试验浓度设定以满足试验要求为标准。

5 试验报告

试验报告至少应包括下列内容：

- 供试物的信息,包括供试农药的通用名、化学名称、结构式、CAS号、纯度、基本理化性质、来源等;
 - 供试生物的种名、来源、驯化时间、驯化条件、食物种类与数量、鱼龄和规格;
 - 试验条件,包括试验时间、周期、温度、试验容器、农药浓度、pH、溶解氧、助溶剂及浓度、试验鱼数量、投食时间和数量等;

- 水和鱼体中农药残留量分析方法,包括样品提取、测定条件、线性范围、添加回收率、相对标准偏差、最小检测量;
- 试验结果,包括试验期间鱼死亡率、异常反应、表征变化;富集系数对时间的曲线、生物富集系数等;
- 生物富集性划分参见附录 C。

附录 A
(资料性附录)
试验用鱼的选择

适合生物富集试验的鱼种及适宜水温条件见表 A.1。

表 A.1 试验用鱼的体长和适宜水温

鱼种	体长	适宜水温
斑马鱼	(2.0±1.0)cm	21 ℃~25 ℃
虹鳟鱼	(5.0±1.0)cm	13 ℃~17 ℃
青鳉	(2.0±1.0)cm	21 ℃~25 ℃
鲤鱼	(3.0±1.0)cm	20 ℃~24 ℃
稀有鮈鱥	(2.0±1.0)cm	21 ℃~25 ℃

附录 B
(规范性附录)
试验方法的选择

静态、半静态、动态法的选择要点见表 B.1。

表 B.1 试验方法的选择及操作要点

试验项目	试验方法	适用范围	操作说明
生物富集性	静态法	稳定农药(水解/挥发率≤10%)	试验期间不更换药液,保持水温变化±2℃之间,溶解氧不低于饱和氧60%;受试物浓度变化在±20%之内,试验期间供试鱼死亡率≤10%
	半静态法	适用于24 h水解(挥发)率介于10%~20%之间的农药	试验期间每隔一段时间更换药液(更换周期按药液浓度变化在±20%之内确定),保持水温变化±2℃之间,溶解氧不低于饱和氧60%;试验期间供试鱼死亡率≤10%
	动态法	适用于易降解、强挥发农药	供试物药液自动连续地流入试验容器,日更新量至少5倍(有效容积),并保持流速变化小于20%。试验期间供试鱼死亡率≤10%

附录 C
(资料性附录)
农药生物富集性评价标准

按生物富集系数 BCF 值的大小, 将农药生物富集性分为三级, 见表 C.1。

表 C.1 农药生物富集等级划分

富集等级	生物富集系数(BCF)
低富集性	$BCF \leqslant 10$
中等富集性	$10 < BCF \leqslant 1\,000$
高富集	$BCF > 1\,000$

参 考 文 献

- [1] NY/T 1667.1—2008 农药登记管理术语 第1部分:基本术语
 - [2] NY/T 1667.2—2008 农药登记管理术语 第2部分:产品化学
 - [3] NY/T 1667.5—2008 农药登记管理术语 第5部分:环境影响
 - [4] FAO(1989).Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.
 - [5] OECD(2012) . Guideline 305: Bioaccumulation in fish: Aqueous and Dietary Exposure. OECD Guidelines for testing of chemicals.
 - [6] USEPA(1997). Fish BCF (OPPTS 850.1730). Ecological effect test guidelines.
 - [7] 蔡道基.农药环境毒理学研究.北京:中国环境科学出版社,1999.
-