



中华人民共和国国家标准

GB/T 27855—2011

化学品 土壤微生物 碳转化试验

Chemicals—Soil microorganisms—Carbon transformation 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

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准与经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 217《土壤微生物 碳转化测试》(英文版)技术性内容相同。

本标准作了以下编辑性修改：

——将原文中“INTRODUCTION”和“INITIAL CONSIDERATIONS”合并作为本标准的引言；

——增加了范围；

——将原文中“DEFINITIONS”中的内容作为标准中的“术语和定义”；

——计量单位统一改为我国法定计量单位；

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：湖北出入境检验检疫局、广东省微生物分析检测中心、国家环境保护部化学登记中心、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人：崔海容、郭坚、赵晖、曹渭、刘纯新、陈会明、简艳、杨顺风、叶诚。

引 言

本试验方法是为研究单一化学品对土壤微生物碳转化活性所产生的长期潜在影响而设计的。本试验方法以欧洲及地中海地区植物保护组织推荐的试验方法^[1]为基础,同时参考了德国联邦生物研究所^[2]、美国环保局^[3]、环境毒物学与化学学会及国际标准化组织的试验方法^[4]。1995年,经济合作与发展组织土壤/沉积物工作组在意大利贝尔吉拉太召开了一次会议^[5],正式确定了本试验中使用土壤的类型和数量。土壤样品的采集、处理、贮存等参见ISO的指南文件及贝尔吉拉太工作组的建议书^[6]。

在对受试物进行毒性特征评估时,例如,在需要获得有关农作物保护剂对土壤菌群的副作用数据时,或要揭示土壤微生物接触于除农用化学品以外的其他化学品可能发生的作用时,需要测定化学品对土壤微生物活动的影响。碳转化试验所针对的就是这种化学品对土壤微生物菌群的影响。如果受试物为农用化学品(如农药、肥料、林业化学品),那么氮转化和碳转化试验全部都要做。如果受试物不是农用化学品,则只需做氮转化试验即可。但是,在试验过程中,如果发现氮转化 EC_{50} 值在商用硝化抑制剂(例如,2-氯-6-三氯甲基吡啶)的范围内,则应进行碳转化试验以获得进一步的信息。

土壤由复杂的、非均相的生物和非生物复合体构成。微生物有机体对肥沃的土壤中有机物质的分解和转化起着非常重要的作用,并且不同的生物种共同作用也可对土壤肥力的各方面产生重大影响。这些生物化学过程中任何变化都可能长期潜在的干扰氮循环,从而改变土壤肥力。碳和氮的转化发生在所有的肥沃土壤中。尽管微生物群体对上述这些过程的作用因土壤类型不同而异,但其转化的途径是基本相同的。

本试验方法用于检测一种物质在好氧条件下的土壤表面对碳转化过程的长期不利影响。试验对进行碳转移的微生物群落的数量和活性的改变非常敏感,因为该群落受化学应激和碳应激的影响。砂壤有机质含量低,因而被采用。土壤经受试物处理,并且在允许微生物快速新陈代谢的条件下进行培养。在该条件下,土壤中可用的有机碳会迅速降解,从而引起有机碳的缺乏,使微生物细胞饥饿并导致休眠或者产生芽孢。如果试验超过28d,这些反应的总和在(未处理过的土壤中)对照组中作为一种新陈代谢活动损失的微生物量的形式被测量^[7]。如果试验条件下,碳应激土壤中的生物量受到化学品的影响,则可能无法恢复到与对照组相同水平上。因此,受试物在试验过程中任意时间受到的干扰常会持续到试验结束。

该试验方法主要用于土壤中环境浓度含量已知的物质。例如,土壤中使用农药的施用量是已知的。对于农用化学品,只需测定两种剂量浓度(该浓度与预期或者预测的施用量相关)。农用化学品可作为活性成分(a. i.)或者作为配制品进行测定。然而,试验不仅仅适用于具有已知环境浓度的化学物质,通过改变施用于土壤中受试物的量和数据评价的途径,此试验也适用于施用于土壤中未知浓度的化学品。因此,对于非农用化学品,可以利用该方法测定不同浓度对碳转化的影响。试验结果可用于绘制剂量-反应曲线图,并用来计算引起土壤中碳转化抑制百分率达 $x\%$ 时的受试物浓度(EC_x)值,其中 x 为碳转化抑制百分率。

化学品 土壤微生物 碳转化试验

1 范围

本标准规定了单一化学品对土壤微生物碳转化活性所产生的长期潜在影响的试验方法。
本标准适用于对受试物进行毒性特征评估,碳转化试验针对的是化学品对土壤微生物菌群的影响。

2 术语、定义和缩略语

下列术语、定义和缩略语适用于本文件。

2.1 术语和定义

2.1.1

碳转化 carbon transformation

通过微生物将有机物降解形成最终的无机物二氧化碳。

2.2 缩略语

EC_x 引起土壤中碳转化抑制百分率达 $x\%$ 时的受试物浓度(effective concentration)

EC_{50} 引起土壤中碳转化抑制百分率达 50% 时的受试物浓度(median effective concentration)

3 试验的有效性

对农用化学品测试结果的评价基于对照土壤和经过处理的土壤样品中所释放的二氧化碳或耗氧量的差异,该种差异相对较小(平均值 $\pm 25\%$),因此,对照组中出现较大差异将导致错误的结果。故对照平行样品之间的差异应少于 $\pm 15\%$ 。

4 原理

预先准备好用受试物处理过的土壤或未被处理的土壤做对照。若受试物是农用化学品,推荐至少用两个测试浓度,其中最低测试浓度应与预计在田间施用的最高浓度相关。在培养 0 d, 7 d, 14 d, 28 d 后,处理的和对照的土壤样品与葡萄糖混合,然后连续测定 12 h 内葡萄糖引起的呼吸速率。呼吸速率以释放的二氧化碳[碳(mg)/土壤(kg·h)]或消耗的氧[氧(mg)/土壤(kg·h)]来表示。处理过的土壤样品的平均呼吸速率与对照进行比较,并以对照为基础计算出处理土壤平均呼吸速率差异的百分率。全部测试至少持续 28 d。如果在第 28 天处理土壤和未处理土壤之间的差异等于或大于 25% ,则以 14 d 为间隔期继续测试,最长至 100 d。若受试物是非农用化学品,则需用一系列浓度的受试物加到土壤样品中,并在 28 d 后测定葡萄糖引起的呼吸速率(即二氧化碳形成或氧消耗量的平均值)。用回归方法对获得的系列浓度测试的结果进行分析,并计算出 EC_x 值,即 EC_{50} , EC_{25} 或 EC_{10} 。

5 试验装置

试验容器需用惰性材料制成。应使用与土壤培养所用方法相匹配的适宜容量,即以整体的或一系