

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

## 化学农药 水-沉积物系统代谢试验准则

Chemical pesticide—Guideline for aquatic sediment system metabolism  
test

(征求意见稿)

xxxx-xx-xx发布

xxxx-xx-xx实施

中华人民共和国农业农村部 发布

## 前 言

本标准按照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。

本标准由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本标准负责起草单位：

本标准主要起草人：

# 化学农药 水-沉积物系统代谢试验准则

## 1 范围

本标准规定了化学农药水-沉积物系统代谢试验的概述、仪器与试剂、被试物与参照物、试验用沉积物、试验方法、数据处理、质量控制以及试验报告等的基本要求。

本标准适用于挥发性较小或不具有挥发性的农药，不适用于不能在试验条件下保持在水或沉积物中的极易挥发的农药。

## 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 32723 土壤微生物生物量的测定 底物诱导呼吸法

NY/T 1121.2 土壤检测 第2部分：土壤 pH 的测定

NY/T 1121.6 土壤检测 第6部分：土壤有机质的测定

NY/T 2882.1-2016 农药登记 环境风险评估指南 第1部分：总则

NY/T 3150-2017 农药登记 环境降解动力学评估及计算指南

LY/T 1225 森林土壤颗粒组成(机械组成)的测定

ISO 5667-12 水质 采样 第12部分：河流、湖泊和河口沉积物采样指南 (Water quality - Sampling - Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments from rivers, lakes and estuarine areas)

ISO 14240-2 土壤质量 土壤微生物生物量的测定-熏蒸提取法 (Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method)

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**代谢物** metabolite

**降解产物** degradation product

供试物因生物降解或非生物降解产生的所有物质，包括二氧化碳、生物合成物和结合残留物质。

[NY/T 2882.1-2016, 定义 3.13]

### 3.2

**主要代谢物** major metabolite

**主要降解产物** major degradation product

在水-沉积物系统、水和沉积物的降解试验中，在任何一次检测时间点中摩尔分数或放射性强度

比例大于 10% 的代谢物。

[NY/T 2882.1-2016, 定义 3.14]

### 3.3

**结合残留** bound residues

用不改变其化学结构的方法不能萃取出的残留物。

[NY/T 3150-2017, 定义 3.3]

### 3.4

**已萃取残留** extracted residues

已从土壤中萃取出的残留物。

### 3.5

**未萃取残留** unextracted residues

未从土壤中萃取出的残留物。

### 3.6

**50%消失时间** 50% disappearance time

供试物消失至初始物质质量的 50%所需的时间，用  $DT_{50}$  表示。当明确消失的过程仅为降解时，可表示为  $DegT_{50}$ ；当消失的过程为消散时，可表示为  $DisT_{50}$ 。

[NY/T 3150-2017, 定义 3.4]

### 3.7

**90%消失时间** 90% disappearance time

供试物消失至初始物质质量的 90%所需的时间，用  $DT_{90}$  表示。

[NY/T 3150-2017, 定义 3.7]

### 3.8

**矿化** mineralisation

有机物在好氧条件下完全降解为二氧化碳和水或在厌氧条件下完全降解为甲烷、二氧化碳和水的过程。本标准中，当使用  $^{14}C$  标记的被试物时，矿化指被标记碳原子被氧化并释放出二氧化碳或被还原并释放出甲烷的过程。

### 3.9

**放射化学纯度** radiochemical purity

放射性标记化合物中以某种特定的化学形态存在的放射性核素的活度占总放射性核素活度的百分比。

### 3.10

质量活度 massic activity

比活度 specific activity

样品的放射性活度除以该样品的总质量。

注：单位为贝克勒尔每千克（Bq/kg）或微居里每毫克（ $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ ）， $1\mu\text{Ci}/\text{mg}=3.7\times 10^{10}\text{Bq}/\text{kg}$ 。

## 4 试验概述

将被试物添加至水-沉积物系统中，在恒定的温度条件下避光培养，用适当的吸收装置收集挥发性产物。定期取样提取和检测水、沉积物中、吸收装置和容器中的母体和代谢物，明确矿化率、结合残留和质量平衡回收率，确定主要代谢物、计算母体和主要代谢物的  $\text{DT}_{50}$  和  $\text{DT}_{90}$ 。

## 5 仪器与试剂

### 5.1 仪器

5.1.1 气体流动式培养装置（参见附录 A）。

5.1.2 定性定量分析仪器，如气相色谱仪、高效液相色谱仪、质谱仪、气相色谱-质谱联用仪、高效液相色谱-质谱联用仪、核磁共振仪等。

5.1.3 液体闪烁计数仪。

5.1.4 氧化燃烧仪。

5.1.5 离心机。

5.1.6 提取、浓缩设备。

### 5.2 试剂

除另有规定外，所有试剂均为分析纯。

5.2.1 氢氧化钠（NaOH，1310-73-2），1mol/L。

5.2.2 氢氧化钾（KOH，1310-58-3），1mol/L。

5.2.3 乙二醇（ $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ ，107-21-1）。

5.2.4 2-羟基乙胺（ $\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$ ，141-43-5）。

5.2.5 硫酸（ $\text{H}_2\text{SO}_4$ ，7664-93-9），0.05mol/L。

## 6 被试物与参照物

### 6.1 被试物

应使用同位素标记的被试物，宜使用  $^{14}\text{C}$  标记。标记的位置应在化合物的最稳定部分。对含有一个环状结构的化合物，标记位点应选择在该环状结构；对含有多个环状结构的化合物，应以不同环状位置标记的化合物分别开展试验。被试物的含量和放射化学纯度应 $\geq 95\%$ 。

不宜使用制剂作为被试物，但被试物水溶解度低时可使用制剂作为被试物。

试验开始前，应了解被试物的以下信息：

- 水中溶解度；
- 有机溶剂中的溶解度；
- 饱和蒸汽压；
- 正辛醇/水分配系数；
- 吸附系数；
- 水解特性；
- 解离常数（对于易质子化或去质子化的被试物）；
- 土壤微生物毒性（如有）；
- 快速生物降解性或固有生物降解性（如有）；
- 在土壤中的代谢（如有）；
- 被试物及其代谢物的定性和定量分析方法（包括提取和净化方法）。

## 6.2 参照物

农药母体和代谢物的标准物质，不需同位素标记。

## 7 试验用沉积物的选择、采集、处理和保存

### 7.1 沉积物的选择

应使用两种有机碳含量和质地不同的沉积物系统，其中 1 种为高有机碳含量（2.5% ~ 7.5%）细质地（[粘粒+粉粒]>50%），另 1 种为低有机碳含量（0.5% ~ 2.5%）粗质地（[粘粒+粉粒]<50%）。两种沉积物的有机碳含量差异宜>2%，粘粒+粉粒的差异宜>20%。

注：[粘粒+粉粒]指沉积物中粒径<0.05 mm 的矿物组分。

当资料表明被试物在不同 pH 值条件下的土壤代谢或土壤吸附有显著差异时，选择沉积物时应考虑 pH 值的影响。

### 7.2 水和沉积物的采集

4 年内被被试物或与被试物结构类似的农药污染过的沉积物不应用于试验。宜从距岸边至少 1 m、水深至少 0.3 m 处采集水和沉积物。应采集表层 5cm~10cm 的沉积物，并同时采集足量水样。采样工具可参考 ISO 5667-12。

### 7.3 沉积物的处理

先过滤分离水和沉积物，再用多余的水将沉积物湿筛至<2 mm，用于湿筛的水不应继续用于试验。

#### 7.4 水和沉积物的保存

宜使用新鲜的水和沉积物开展试验，必须保存时，将已处理过的沉积物与水一起保存，水层深度为 6 cm~10 cm，在 4℃±2℃、黑暗条件下保存，最长保存 4 周。用于好氧代谢试验的水和沉积物，储存时应保持通风，例如储存于敞口容器中。

水和沉积物运输和储存过程中不应冷冻。

#### 7.5 水和沉积物理化性质的测定

至少应按表 1 测定试验用水和沉积物的理化性质。

表 1 试验用水和沉积物的理化性质测定项目及测定时间

测定项目		试验阶段					
		采样	处理后	预培养开始	试验开始	试验期间	试验结束
水	采样地点/来源	*					
	温度	*					
	pH 值	*		*	*	*	*
	总有机碳			*	*		*
	溶解氧	*		*	*	*	*
	氧化还原电位			*	*	*	*
沉积物	采样地点/来源	*					
	采样深度	*					
	pH 值		*	*	*	*	*
	粒径分布		*				
	总有机碳		*	*	*		*
	微生物生物量		*		*		*
	氧化还原电位	#		*	*	*	*
*：应测定该项目；							
#：采样时根据颜色、气味判断沉积物处于好氧或厌氧条件。							

沉积物的总有机碳按 NY/T 1121.6 测定。

沉积物的 pH 值按 NY/T 1121.2 测定。

沉积物的粒径分布按 LY/T 1225 测定。

好氧代谢试验中沉积物的微生物生物量宜按 ISO 14240-2 测定，也可按 GB/T 32723 或平板菌落计数法测定；厌氧代谢试验中沉积物的微生物量宜按 ISO 14240-2 测定，也可通过检测甲烷生成率

测定。

## 7.6 水-沉积物系统预培养

试验开始前，水-沉积物系统应先进行预培养。将沉积物和水按一定比例混合后加入培养瓶，在与试验条件相同的环境下预培养。通过测定 pH 值、溶解氧以及水和沉积物的氧化还原电位判断水-沉积物系统是否已达到稳定状态。除处理组和对照组外，每种沉积物系统应额外设置一个培养瓶用于预培养期间水和沉积物理化性质的测定。预培养时间宜为 1 周~2 周，不应超过 4 周。

## 8 试验方法

### 8.1 培养装置

培养装置应使用玻璃容器，但正辛醇/水分配系数或土壤吸附等资料表明被试物可吸附在玻璃表面时，可使用聚四氟乙烯等替代材料，也可采用以下方法处理：

- 测定吸附在玻璃器皿表面的被试物和代谢物；
- 试验结束时用溶剂清洗玻璃容器并测定放射性；
- 以制剂为被试物；
- 增加助溶剂的量。

培养瓶中进气管应在水面以下以使 O<sub>2</sub> 或 N<sub>2</sub> 在水中分布更均匀。不应去除空气中的 CO<sub>2</sub>，以免提高水的 pH 值。

可用 NaOH 或 KOH 吸收 CO<sub>2</sub>，乙二醇、2-羟基乙胺吸收挥发性有机物，H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 吸收碱性挥发性物质。厌氧代谢试验中，用分子筛吸收甲烷。

### 8.2 试验条件

培养瓶中水和沉积物的体积比为 3:1~4:1，沉积物层深度为 (2.5±0.5) cm。每个培养瓶中沉积物干重宜 ≥50 g。

整个试验周期内，水-沉积物系统应在黑暗、10℃~30℃恒温条件下培养，试验温度宜为 (20±2)℃。

好氧代谢试验中，应通入空气，并保持溶解氧浓度为 7 mg/L~10mg/L；厌氧代谢试验中，应通入 N<sub>2</sub>，并保持水和沉积物的氧化还原电位 < -100mV。

### 8.3 添加被试物

#### 8.3.1 被试物添加量

直接用于水体的农药，根据农药最大推荐用量和培养瓶中水体面积按式 1 计算被试物添加量。其他情况根据农药在水体中的预测浓度确定被试物的添加浓度。满足以下条件之一的，应提高被试物的初始添加量（如提高 10 倍）：



——计算出的被试物的添加浓度接近母体检测方法的 LOD；

——无法准确测定相当于被试物添加浓度 10% 的主要代谢物。

提高被试物添加量时，不对水-沉积物系统中微生物活性造成显著的负面影响。

$$m = AR \times \pi \times \left(\frac{\varphi}{2}\right)^2 \times \frac{d}{D} \div 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

m——每个培养瓶中被试物的初始添加量，单位为微克（ $\mu\text{g}$ ）；

AR——被试物的推荐用量，单位为克每公顷（ $\text{g}/\text{hm}^2$ ）；

$\varphi$ ——培养瓶内径，单位为厘米（cm）；

d——培养瓶中水层深度，单位为厘米（cm）；

D——环境中水层深度，单位为厘米（cm），默认值为 100cm；

100——单位换算系数。

### 8.3.2 被试物添加方法

将被试物配成水溶液加至培养瓶的水层，必要时可使用少量丙酮、乙醇等有机溶剂助溶。有机溶剂的加入量不应超过培养瓶中水体积的 1% 也不应对水-沉积物系统中微生物活性造成显著的负面影响。添加被试物后应轻轻搅动水相使被试物分布均匀，但不应扰动沉积物。

### 8.3.3 对照组

应同时设置未加被试物的空白对照组，与处理组在相同条件下培养，用于试验结束后测定微生物的生物量。

被试物用有机溶剂溶解后添加的，还应设置添加相同量有机溶剂但不添加被试物的溶剂对照组，用于测定微生物的生物量。

### 8.4 预试验

当不能通过被试物的其他相关试验结果估计试验周期和采样时间时，可进行预试验。预试验的试验条件与正式试验相同。如进行了预试验，在试验报告中应简要描述预试验的试验条件和结果。

### 8.5 试验周期

试验周期不宜超过 100 d，满足以下条件之一时，试验可终止：

——已明确代谢途径及在水和沉积物中的分配模式；

——90% 的被试物已降解或挥发。

### 8.6 采样与检测

在合适的时间间隔取两个培养瓶，沉积物用不同极性的有机溶剂多次提取，检测水和沉积物中

的被试物和代谢物。除 0 d 外，还应至少测定 5 次。应根据被试物的其他试验结果或预试验结果确定采样时间间隔。对于疏水性被试物，在试验开始阶段应增加采样点以确定被试物在水和沉积物间的分配速率。

沉积物和上覆水应分别测定，分离上覆水时应尽量避免扰动沉积物。取样时应注意吸附在培养容器和收集挥发物的连通管路上的物质。

同时应测定吸收装置中的 CO<sub>2</sub> 和其他挥发性有机物。每次采样均应氧化燃烧后测定沉积物中的未萃取残留。当未萃取残留>添加放射性的 10%时，应按附录 B 确定萃取方法的合理性。

## 9 数据处理

每次采样检测的被试物、代谢物、未萃取残留的量可用添加放射性的比例（%AR）表示也可用 mg/kg 表示，挥发性物质以 %AR 表示。每次采样均应计算质量平衡回收率，以 %AR 表示。

主要代谢物均应定性。对试验结束时虽<10%AR 但浓度持续增加的代谢物，应根据具体情况决定是否对其定性，并在报告中说明原因。

按 NY/T 3150 评估被试物的降解动力学并计算被试物和主要代谢物的 DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>。

## 10 质量控制

### 10.1 分析方法的回收率

被试物加入水-沉积物系统后应立即提取检测至少两个水和沉积物样品，以验证分析方法的重现性和被试物添加的一致性。使用同位素标记的被试物时，平衡回收率应为 90%~110%；使用非标记被试物时，回收率应为 70%~110%。

### 10.2 分析方法的重现性和灵敏度

使被试物在水或沉积物中充分培养生成代谢物，通过重复测定水或沉积物提取物的方式验证被试物和代谢物定量分析方法的重现性。

被试物及其代谢物分析方法的检出限（LOD）至少应为 0.01mg/kg，或初始添加量的 1%（取低值）。

## 11 试验报告

试验报告至少应包括以下内容：

### a) 被试物：

——通用名、化学名、化学文摘登录号（CAS 号）、结构式（对于放射性标记的被试物，应指出标记位置）及相关的理化性质；

——纯度；

——放射化学纯度和比活度。

b) 参照物:

——化学名、结构式。

c) 试验用水-沉积物系统:

——确切的采集地点;

——采集时间和采集方法;

——水和沉积物的理化性质, 模板参见附录 C 的表 C.1、表 C.2;

——储存时间和储存条件。

d) 试验条件:

——培养系统(气体流速、搅拌方法、水体积、沉积物质量、水和沉积物厚度、培养瓶尺寸等);

——被试物添加: 添加浓度、处理组和对照组的重复数、被试物添加方法;

——培养温度;

——采样次数和时间;

——提取方法和提取效率、分析方法及其检测限;

——代谢物的定性方法。

e) 试验结果:

——代表性的原始谱图;

——分析方法的重现性及灵敏度;

——分析方法的回收率;

——分别以%AR 和 mg/kg 表示的试验结果的表格, 以%AR 表示的试验结果的模板参见附录 C 的表 C.3;

——质量平衡回收率, 模板参见附录 C 的表 C.4;

——水、沉积物及系统中被试物及其代谢物的浓度-时间图;

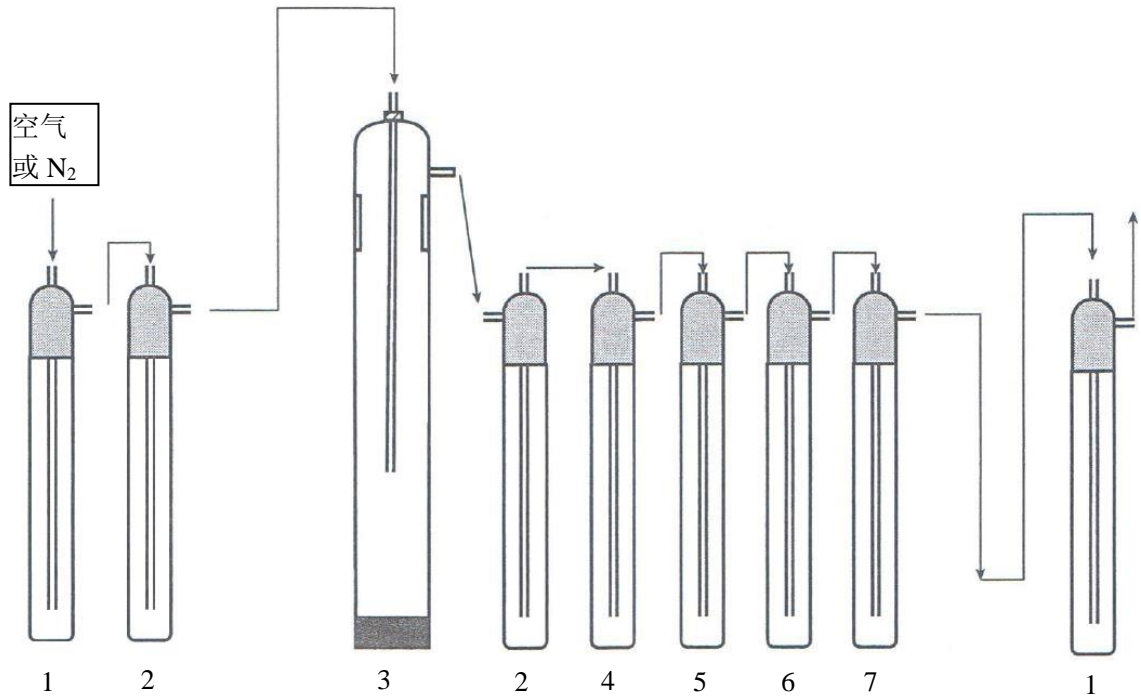
——被试物的降解动力学、被试物及其代谢物的  $DT_{50}$ 、 $DT_{90}$ ;

——代谢途径。

附录 A  
(资料性附录)  
培养装置

A.1 气体流动式培养装置

见图 A.1。



- 1——去离子水；
- 2——安全瓶；
- 3——培养瓶；
- 4——乙二醇用于收集挥发性有机物；
- 5——硫酸用于收集碱性挥发物；
- 6——氢氧化钠用于收集 CO<sub>2</sub> 及其他酸性挥发物；
- 7——氢氧化钠用于收集 CO<sub>2</sub> 及其他酸性挥发物；；

图 A.1 气体流动式培养装置示意图

## 附录 B (规范性附录)

### 萃取方法的合理性判定

#### B.1 萃取方法的合理性判定

萃取离子化合物时，萃取剂体系中应包括极性溶剂；萃取中性有机化合物时，萃取剂体系中应包括非极性溶剂；混用多种溶剂，包括弱酸或弱碱，可提高萃取效率。试验期间每种沉积物均应尝试用多种极性和非极性溶剂萃取，不应以萃取剂中添加碳酸铵、强酸或强碱以及使用高温、高压、剧烈震荡、超声等萃取条件或索氏提取代替。可在使用多种不同极性溶剂的同时使用超声萃取或索氏提取的方法。萃取不应改变被试物及其代谢物的化学结构，例如对酸性条件下易水解的被试物不应使用酸性溶剂萃取。

当未萃取残留 $>10\%AR$ 时，萃取剂体系中应包括对母体溶解性最好的溶剂（根据在有机溶剂中的溶解性试验确定），除非有其他合理的理由，应从以下 3 个介电常数范围内至少各选择一种溶剂：

——介电常数为 18~80 的极性溶剂，如水、甲酸、甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮、乙腈、二甲基亚砜等；

——介电常数为 6.0~9.1 的极性溶剂，如乙酸、乙酸乙酯、四氢呋喃、二氯甲烷等；

——介电常数为 1.9~4.8 的非极性溶剂，如正己烷、苯、甲苯、1,4-二氧六环，三氯甲烷、乙醚等。

选择萃取剂时还应注意介电常数以外的其他因素，例如抗生素等在溶剂中较难溶解的化合物可通过形成乳状液的方式萃取。当被试物在酸性或碱性条件下性质有差异时，应调节萃取剂的 pH 值使回收率最大。

可在试验的后期使用额外的萃取剂体系，但样品应同时用前期使用的萃取剂体系萃取。如结果表明新萃取剂体系的萃取效率显著高于原萃取剂体系，应重新开展试验并在整个试验周期内同时使用两种萃取剂体系。

在 0 d 时回收率较低或重复性较差或试验期间未萃取残留出现减少的趋势，可判定萃取方法不合理。

附录 B  
(资料性附录)

试验报告中相关数据模板

B.1 水和沉积物的理化性质

试验报告中可按表 B.1、表 B.2 提供水和沉积物的理化性质数据。

表 B.1 水和沉积物的理化性质

参数		系统 1	系统 2
采样地点			
水	pH 值		
	TOC (mg/L)		
沉积物	取样深度 (cm)		
	pH 值及其测定方法		
	砂粒含量 (2.0 mm~0.05mm) (%)		
	粉粒含量 (0.05 mm~0.002mm) (%)		
	粘粒含量 (<0.002mm) (%)		
	TOC (mg/kg)		
	试验开始时微生物生物量		
	试验结束时微生物生物量		

表 B.2 [水-沉积物系统类型]的 pH 值、溶解氧含量和氧化还原电位

采样间隔 (d)	重复	溶解氧含量 (mg/L)	氧化还原电位 (mV)		pH 值 (水)
			水	沉积物	
0	1				
	2				
	1				
	2				
	1				
	2				
	1				
	2				

	1				
	2				
	1				
	2				

## B.2 试验结果

试验报告中可按表 B.2 提供以%AR 试验结果

表 B.2 [被试物]在[水-沉积物系统类型]的代谢，以%AR 表示

采样间隔 (d)		0											
重复		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
母体	水												
	沉积物												
	合计												
代谢物 1	水												
	沉积物												
	合计												
代谢物 2	水												
	沉积物												
	合计												
其他	水												
	沉积物												
	合计												
总可萃取放射性	水												
	沉积物												
	合计												
未萃取放射性													
CO <sub>2</sub>													
挥发性有机物													
容器													





## 参考文献

- [1] OECD (2002). Guideline for The Testing of Chemicals No.308 Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems.
- [2] US EPA (2012) . Guidance for Reviewing Environmental Fate Studies.
- [3] US EPA (2014) .Guidance for Addressing Unextracted Pesticide Residues in Laboratory Studies.
-