

附錄 9

水環境之危害 指導

附錄 9

水環境之危害指導

目 錄

	頁次
A9.1 導言	457
A9.2 調和分類辦法	461
A9.2.1 範圍	461
A9.2.2 分類類型和標準	461
A9.2.3 基本原理	461
A9.2.4 應用	462
A9.2.5 數據有效性	463
A9.2.6 資料品質	463
A9.3 水生毒性	465
A9.3.1 導言	465
A9.3.2 測試說明	465
A9.3.3 水生毒性概念	467
A9.3.4 證據權重	469
A9.3.5 難以進行測試的物質	469
A9.3.6 資料品質的解釋	475
A9.4 降解	476
A9.4.1 導言	476
A9.4.2 可降解性資料的解釋	476
A9.4.3 一般的解釋問題	481
A9.4.4 判定方法	484
A9.5 生物蓄積作用	485
A9.5.1 導言	485
A9.5.2 生物濃縮作用資料的解釋	485
A9.5.3 需要特別注意BCF和K _{ow} 值的化學類別	490
A9.5.4 相互矛盾的資料和資料缺失	492
A9.5.5 判定方法	493
A9.6 QSAR 的使用	494
A9.6.1 歷史回顧	494
A9.6.2 實驗人為因素導致的危害低估	494
A9.6.3 量化結構活性相關性（QSAR）模式問題	495
A9.6.4 使用QSAR做水體分類	496

A9.7 金屬和金屬化合物分類	500
A9.7.1 導言.....	500
A9.7.2 水生毒性資料和溶解度數據在分類中的應用.....	501
A9.7.3 環境轉變的評估.....	503
A9.7.4 生物蓄積作用.....	503
A9.7.5 金屬和金屬化合物分類標準的應用.....	504
 附件一 有機物質可降解性的測定.....	 509
附件二 影響水生環境可降解性的因素.....	515
附件三 利用測試和估計方法確定有機物質BCF 和Kow 值的基本原理.....	519
附件四 外部和內部因素對有機物質生物濃縮作用潛力的影響.....	525
附件五 測試準則.....	529
附件六 參考文獻.....	533

附錄 9

水環境危害指導*

A9.1 導言

A9.1.1 在制訂水環境危害物質分類標準時，人們一致認為，適當地對環境的危害所需要下定義的細目的是一個複雜系統，對於這樣的系統，某些適當的指導必不可少。因此，本文有以下兩個目的：

- 描述系統將如何運作，並給予指導；
- 對於如何理解適用分類標準時所用的資料給予指導；

A9.1.2 目前已經制訂了危害分類辦法，目的在於判別那些由於它們的內在特性而對水環境具有危害的化學物質。本文將水環境視為一個存在於淡水和海水中的水生生態系統和生活在其中的生物體。對於絕大多數物質來說，現有主要的資料都包含在此環境系統。但此定義的範圍有限，不包括水生沉積物，及位於水生食物鏈頂端的高等生物體，雖然這些生物體在一定程度上會被選定的標準所包括。

A9.1.3 儘管範圍有限，人們廣泛承認，這部分環境系統既容易受到侵害，因為它是許多有害物質的最終接收環境，而且生活在其中的生物體對這些有害物質很敏感。這還是一項複雜的工作，因為對於任何一個設法判別環境有害物質的系統，都必需設法定義對生態系統的廣泛影響，而不僅僅是對一個物種或一個種群中生物個體的影響。正如在後面幾章中將詳細描述的狀況，現已選擇出化學物質的一組有限的特性；通過這些特性，可以對有害物質作出最好的描述：水生毒性；缺少可降解性；以及潛在的或實際的生物蓄積作用。選擇這些資料作為定義水生危害的基本原理，將在第A9.2 章更為詳細地介紹。

A9.1.4 在此階段，應用的標準也僅限於化學物質。化學品的涵蓋範圍廣泛的包括了化學物質；對許多化學品建立分類制度，該艱難挑戰是在於其僵化的標準。因此，下面幾章將提供一些指導原則，說明如何根據使用經驗和清楚的科學原理來應對這些挑戰。調和標準可非常容易地應用於給定結構（見1.2 中的定義）的單個物質分類，但屬於這一類別的某些物質通常被稱為“複雜混合物”。在絕大多數情況下，可以將它們描述為具有一定範圍的碳鏈長度/數量或置換等級的物質的同源系列。現已提出一些特定的測試方法，可提供資料用於對水生生物的固有風險、生物蓄積作用和可降解性進行評估。相關的特定的具體的指導，可參考其他各個章節。本著指導文件的目的，這些物質將被稱為“複雜物質”或“多成分物質”。

*經濟合作發展組織環境、健康和安全管理問題出版物，測試和評估系列，第 27 期，經濟合作發展組織環境局，2001 年 4 月。

A9.1.5 每一種特性（如水生毒性、可降解性和生物蓄積作用）都可以提出一個複雜的、即使是專家也難以解釋的問題。雖然已有國際公認的測試準則，而且利用這些準則所產生的任何一個和所有的新資料，而許多可用於分類的資料卻不根據此類標準測試產生。即使在已使用此標準測試的地方，當測試結果必須用於分類判別時，某些物質，譬如複雜物質、水解不穩定物質、聚合體等，仍會存在一些難以解釋的問題。因此，現有資料可用於範圍廣泛的標準和非標準測試生物體（不論海洋生物還是淡水生物），並具有不同的持續時間及各種各樣的最終標準。降解資料可能涉及生物也可能涉及非生物性，並在環境相關性上存在差異。生物蓄積作用潛力，對於許多有機化學物質來說，可通過辛醇-水分配系數表示。但它會受到許多其他因素的影響；這些影響因素也應予以考慮與計算。

A9.1.6 全球調和制度的目標很清楚，即在議定一套共同標準後，還應使用一套共同資料，這樣，一經分類，分類結果就為全球所接受。為實現這一目標，首先必須對適用標準時可以使用的資料類型形成共識，包括類型和數量，然後在與對照標準進行比較時，對這些資料有一個共同的解釋。由於這一原因，有必要制訂一份明確的指導文件，此文件尋求擴充和解釋這些標準的方法，應使人們能夠對它們的基本原理有一個共同的理解，並有可能確定共同的資料解釋方法。這一點特別重要，因為任何一個用於“化學物質領域”的調和制度，都在很大程度上是依賴製造商和供應商的自主分類，這種分類辦法必須為各國所接受但往往不受到管理審查。因此，這一指導文件將試圖告訴讀者，在許多關鍵領域，其結果將引領形成一致的分類辦法，從而確保形成一個真正調和的自主作業系統。

A9.1.7 首先，它將對標準和選擇這些標準的基本原理作出詳細說明，並闡述這種方法在實際中如何運用（第A9.2章）。本章將描述共同的資料來源、採用高質量標準的必要性，以及當這些資料不完整，或者大量資料可能導致分類矛盾時如何進行分類；此外還將涉及其他普遍遇到的分類問題。

A9.1.8 其次，本指導將對如何解釋從現有資料庫中得到的資料，包括如何使用非標準資料，以及可能適用於單一特性的特定質量標準等問題，提供詳細的專家意見。還將對“困難物質”的資料解釋問題作出說明，並提出適當的解決辦法。此處所說的“困難物質”是指標準測試方法不適用，或者難以提出恰當解釋的物質。重點將放在資料解釋方面，而不是放在測試上。因為本制度將盡可能依靠最好的現有資料，以及為滿足管理目的所需的資料。三種核心特性，即水生毒性（第A9.3章）、可降解性（第A9.4章）和生物蓄積作用（第A9.5章）將分別論述。

A9.1.9 解釋性難題的範圍可能很廣，所以解釋將始終依賴於負責分類工作的個人的能力和經驗。然而，也有可能確定出經常產生的困難，並提供一種從專家判斷中提出可接受的指導，作為獲得可靠和一致的結果的輔助手段。這類困難可分為以下幾個相互重疊的問題：

1. 在將現今測試程序應用於多種不同類型的物質時遇到的困難；
2. 在解釋來自這些“難以測試”的物質和來自其他物質的資料時遇到的困難；
3. 在解釋來自範圍廣泛的各種資料源的各組不同資料時遇到的困難。

A9.1.10 對於許多有機物質，在適用關於經濟合作發展組織準則和分類標準時，資料的測試和解釋都不會出現問題。然而卻存在一些解釋問題，這些問題可用正在研究的物質類型加以將性化。這些物質通常被稱為“困難物質”：

- 不易溶解物質：這些物質很難進行測試，因為在對它們做水生毒性測試時，在溶解制備、濃縮保存和驗證過程中會產生問題。此外，有關這些物質的許多現有資料是通過採用過量水溶解的“溶解”法得到的，在為分類目的而定義真正的L(E)C₅₀的過程中，會產生嚴重的解釋問題。對分割行為的解釋，也會遇到問題，因為在水中和辛醇中的不易溶解可能由於分析方法中的敏感性的不足而更為嚴重。水溶解可能很難確定，而且常常被記錄為低於檢測極限，對水生毒性和生物蓄積作用研究的解釋造成問題。在生物降解研究中，溶解性差將有可能導致生物可利用率低，從而導致低於預期的生物降解率。因此，特定的測試方法或所用程序的選擇十分重要。
- 不穩定物質：在測試系統中可快速降解（或反應）的物質也會產生測試和解釋問題。因此有必要確定是否採用了正確的方法，確定測試的是一種物質還是降解/反應產物，以及所產生的資料是否與母物質的分類相關。
- 揮發性物質：這種物質在用於開放系中時會產生明顯的測試問題，因此應對其作出評估，以確保能夠恰當地保持其接觸濃度。在生物降解測試中，在採用某些測試方法時，測試物質的損失不可避免，並因此而導致對測試結果作出錯誤解釋。
- 複雜或多成分物質：這種物質，譬如煙混合物，通常不能溶解於均質溶液中，而多成分會將無法監測。因此，應考慮使用容水成分（WAFs）測試中得到的數據評估水生毒性，以及將這些資料用於分類辦法。當混合物中的每一種成分都表現出不同的行為特徵時，生物降解、生物蓄積作用、分離行為和水溶性，都會產生一些解釋問題。
- 聚合體：這種物質通常具有範圍廣泛的分子量，其中只有一部分具有水溶性。現有一種特殊方法可用於確定水溶性成分，而且，這些在按照分類標準解釋測試資料的時候，需要用到這些資料。
- 無機化合物和金屬：這些物質將有可能與介質產生交互作用，可產生各種水生毒性，這主要取決於如酸鹼值(pH) 和水硬度等一些因素。在一些測得到的必要元素進行測試時，也會遇到解釋上的問題。對於金屬和無機金屬化合物來說，用於有機化合物的降解概念只有有限的意義或根本沒有意義。同樣，使用生物蓄積作用資料時也應小心謹慎。
- 表面活性物質：這種物質可呈乳狀液形態，在這種形態下很難確定生物利用性，即使做過仔細的溶解準備。膠體離子的生成可導致對生物可利用率成分估計過高，即使是在“溶解”過程很明顯的時候。在水溶性、分配係數、生物蓄積作用和水生毒性研究中，都會出現相當大的解釋問題。
- 游離性物質：這種物質可根據介質中離子的電荷，改變電離範圍。譬如，酸和鹼將根據pH 值的大小，會表現出完全不同的分離行為。
- 有色物質：由於入射光線被遮擋，這種物質可在海藻/水生植物測試中造成問題。
- 雜質：某些物質可能含有雜質。這些雜質可能在不同的生產批次之間存在%含量和化學性質的變化。當雜質的毒性或水溶性或兩者都大於母體物質時，會出現解釋問題，

從而對毒性資料造成潛在的顯著影響。

A9.1.11 這些都是在確定資料的充分性、解釋資料以及將資料用於分類辦法時遇到的一些問題。有關如何解決這些的問題和其他相關問題的詳細指導，將在以下各章闡述。對水生毒性資料的解釋將在第A9.3 章中闡述。該章將論述上述“困難物質”所遇到的具體解釋問題，並就何時和如何將這些資料用於分類辦法提出了一些建議。該章還將對使用的測試資料和適合產生這些資料的測試方法進行一般性介紹。

A9.1.12 現有範圍廣泛的各類降解資料，對它們必須按照可快速降解性標準作出解釋。因此，需要給予指導，說明如何使用通過非標準測試方法獲得的這些資料，包括如何利用半衰期（如果有的話）、基本降解性和土壤降解率及其進行水生降解性和環境降解率外推的適當性。此外，本章還將對根據分類標準評估降解性的估計技術作出簡要說明。該指導載於A9.4 章。

A9.1.13 可用於確定生物蓄積作用潛力的方法將在第5 章介紹。這一章將說明分配係數標準和生物濃縮係數（BCF）之間的關係，並就現有資料的解釋，以及在沒有現成的測試資料的情況下，如何利用量化結構活性相關性（QSAR）估計分配係數（BCF），對於如何解決上述困難物質帶來的特定問題，提供指導。此外，還將討論涉及到高分子量物質時所遇到的問題。

A9.1.14 另外還有一章，它涉及的是在本制度內使用QSAR 的一般性問題，即對於人們關心的三個特性中每一個特性，它們應該在什麼時候使用，以及應該如何使用。作為一般方法，人們廣泛認為，在有現成的測試資料時，應使用現成測試資料，而不是QSAR 資料。因此，QSAR 資料的使用將僅限於沒有可靠的資料可供使用的情況下。然而，並不是所有的物質都適合使用QSAR 估計方法，A9.6 章中的指導將討論這一問題。

A9.1.15 最後，還專門有一章闡述與金屬及其化合物有關的特殊問題。很明顯，對於這些化合物，一些特定標準，如生物降解性和辛醇水分配係數，將無法適用。儘管缺乏生物破壞與降解資料，生物蓄積仍是一項重要的觀念。因此，需要選擇一種不同的方法。金屬和金屬化合物能與影響金屬離子溶解度、水柱中的分離和水柱中存在的金屬離子種類的介質產生相互作用。在水柱中，通常是溶解的金屬離子引起人們對毒性的關注。物質與介質之間的相互作用可能增加也可能減少離子水平和由此導致的毒性大小。因此，有必要考慮金屬離子是否可能從物質中形成並溶解於水。如果是這樣的話，它們是否能夠快速形成，引起人們的關切。如何解釋來自這類研究的成果，將在A9.7 章說明。

A9.1.16 雖然指導文件提出了一些有用的建議，說明了如何將標準用於範圍廣泛的各種情形，但它仍只是一個指導。不能指望它涵蓋分類過程中出現的所有情形。因此，應該將它視為一份動態的文件，可大部分地說明此制度的基本原則（譬如以危害而不是風險為基礎）和固定標準。並提供一個經驗庫，顯示如何解釋這些方法，使固定標準能夠適用於各式各樣的非標準情形。

A9.2 調和分類辦法

A9.2.1 範圍

在制訂標準時，考慮到用於危害分類的現有系統，如歐洲聯盟的供給和使用制度、加拿大和美國的農藥制度、海事組織/糧農組織/教科文組織-海洋學委員會/氣象組織/衛生組織/原子能機構/聯合國/環境規劃署海洋環境保護的科學方面聯合專家組危害評估程序、海事組織海洋污染物控制計畫、歐洲公路和鐵路輸送計畫（RID/ADR）和美國陸路運輸制度。這些制度包括化學品的供應和後續使用、化學物質的海上輸送，以及化學物質的公路和鐵路運輸。因此，調和標準旨在以一種調和的方式判別危害化學品，供所有這些制度使用。為解決所有不同部門（運輸、供應和使用）的需要，有必要建立兩個不同的分類類別，一個是急性類別，它包括三個種類；另一個是慢性類別，它包括四個種類。急性分類類別還又分為兩個急性危害類（急性II 和III），它們在考慮包裝物品時通常不使用。對於散裝運輸物質，由於所考慮到的散裝數量，可單獨作出若干管理決定。對於這些情況，譬如，在需要對要使用的運輸船隻類型作出決定時，即要考慮所有急性分類種類也要考慮慢性分類種類。以下段落詳細說明了在定義每一種危害種類時應使用的標準。

A9.2.2 分類類型和標準

急性和慢性水生毒性的危害種類及其相關標準將列在第3.10 章3.10.2.2 段和圖3.10.1 。

A9.2.3 基本原理

A9.2.3.1 分類調和制度認為，對水生生物的固有危害，可用物質的急性和慢性或者長期毒性來描述；其相對重要性由所使用的特定的管理制度確定。由於可確定急性和慢性危害之間的差別，因此，可對代表所判別的危害層級等級的兩特性定義危害種類。很清楚，慢性毒性I 所代表的危害，比慢性毒性II 的危害更大。由於急性危害和慢性危害代表著不同的危害類型，因此對於它們的相對嚴重性來說，無法作出比較。這兩種危害種類應獨立用於物質分類，並建立法規管理系統之基礎。

A9.2.3.2 根據標準定義的主要危害帶，與潛在的慢性危害有很大的關聯性。它反映了人們對環境中的化學品的最重要關切，也就是說，所導致的這些影響通常是亞致死的，即對生殖產生影響，這是一種較長時間的接觸產生的作用。在認識到慢性危害是人們的主要關切（特別是那些經過包裝的物品，它們在環境中的放散從範圍上有限）的同時，也必須認識到，要獲得慢性毒性資料的成本是很高的，對於絕大多數物質來說，通常沒有現成的資料。另一方面，在急毒性方面通常有現成的資料，也可通過高度標準化的協定方式獲得。因此，在定義急性和慢性危害時作為重要特性使用的是這種急毒性。然而，人們已經認識到，在有現成的慢性毒性資料時，是有可能將這些資料用於定義適當的危害帶的。利用這些資料制訂的具體標準，在將來制訂方案時，應優先使用。

A9.2.3.3 人們認識到，急毒性本身並不足以單獨或直接準確預測慢毒性之危害。但也應該考慮到，在與潛在的化學毒性在生物體內積累（即 $\log K_{ow} \geq 4$ ，除非 $BCF < 500$ ），或者與潛在的長期接觸（也就是缺少快速降解能力）結合後，它可作為適當的代用因素用於分類目的。顯示急毒性並且其生物蓄積作用能達到顯著程度的物質，當它的濃度很低時，常常顯示出慢性毒性作用。明確的急毒性：由於慢性毒性比例很難預測，因此代用資料通常只有預防作用。

同樣，不能快速降解的物質很有可能導致長期接觸，從而使毒性長時間發揮作用。因此，譬如，當滿足下列標準時，應歸入慢性第I類：

- (i) $L(E)C_{50}$ 對於任何有關水生物種 $\leq 1 \text{ mg/l}$ 且生物蓄積作用潛力 ($\log Kow \geq 4$ ，除非 $BCF < 500$)
- (ii) $L(E)C_{50}$ 對於任何有關水生物種 $\leq 1 \text{ mg/l}$ 且不易快速降解。

A9.2.3.4 有關物種的急毒性、不易快速降解和生物蓄積作用潛力的準確定義，在A9.3、A9.4和A9.5章分別詳細說明。

A9.2.3.5 對於某些不易溶解物質，即通常被認為水溶解率 $< 1 \text{ mg/l}$ 的物質，在溶解度範圍內進行的毒性測試中顯示無急毒性。然而，如果這樣的物質， $BCF \geq 500$ ，或者不存在， $\log Kow \geq 4$ （表示具有生物蓄積作用潛力），而且該物質不能快速降解，則應使用安全網分類，歸入慢性第IV類。對於這些類型的物質，在短期測試中的接觸時間很可能太短，致使物質穩定狀態濃度無法在測試生物體內達到。因此，雖然在短期（急性）測試中沒有檢測到急毒性，但它仍然很有可能存在，這種非快速降解和生物蓄積作用性物質，有可能產生慢毒性作用，特別是因為這種緩慢的降解可能導致在水環境中的長時間接觸。

A9.2.3.6 在定義急性水生毒性時，不可能對生活在水生生態系統中的所有物種進行測試。因此，應選擇有代表性的物種，它們能夠覆蓋食物鏈中某些層和生物學中的某些分類。所選擇的分類群、代表著最容易受到危害的族群中的“基本族群”的魚類、甲殼綱和水生植物，代表著能充分有效地說明危害的三種最小資料組。通常將現有毒性最小值用於定義危害類別。由於自然環境中擁有範圍廣泛的物種，三種測試物種代表性較差。因此，為謹慎起見，最小值被用來定義危害帶。我們意識到，物種敏感性的分佈分為幾個數量級，因此在自然環境中既存在較為敏感也存在著不太敏感的物種。因此，當資料有限時，可使用最敏感的物種進行測試，給出謹慎的但可以接受的危害定義。在有些情況下可能不適合將最小毒性值作為分類基礎。只有當有可能比普通方法能夠更為準確地定義敏感性分佈，譬如在擁有大量的現成資料時，通常才會出現這種情況。對這種大型資料組的評估，應小心謹慎。

A9.2.4 應用

A9.2.4.1 一般來說，在確定一種物質是否需要分類時，應在有關資料庫和其他資料源中查找下列資料元素：

- 水溶解性；
- 辛醇/水分配係數 ($\log Kow$)；
- 魚生物濃縮係數 (BCF)；
- 急性水生毒性 ($L(E)C_{50s}$)；
- 慢性水生毒性 ($NOECs$)；
- 現有可降解性（具體來說，可立即實現的生物降解證據）；
- 水中穩定性資料。

水溶解性和穩定性資料雖然不直接用於標準，但仍然十分重要，因為它們對於其他特性

的數據解釋很有幫助（見 A9.1.11 段）。

A9.2.4.2 為進行分類，首先需要查閱現有水生毒性資料。此時需要考慮所有的現有資料，並從中選擇滿足必要的分類質量標準的那些資料。如果沒有現成資料能夠滿足國際標準化方法規定的質量標準，則需要檢查任何現有資料，以確定是否能進行分類。如果資料表明可溶性物質的水生急毒性 $L(E)C_{50} > 100 \text{ mg/l}$ ，則不應將該物質歸入危害物質。在許多情況下，測試過程中不會發現任何效應，在這種情況下，可將水生毒性記錄為大於水溶解度數值，也就是在測試介質中的水溶解度範圍內，沒有急毒性作用。當出現這種情況，而且在測試介質中的水溶解度 $\geq 1 \text{ mg/l}$ 時，也不必進行分類。

A9.2.4.3 當最小水生毒性資料低於 100 mg/l 時，應首先確定毒性屬於哪一種危害帶，然後再確定是否需要採用慢性和/或急毒性分類。通過考察現有分配係數資料、 $\log K_{ow}$ 和現有降解資料，即可做到這一點。如果 $K_{ow} \geq 4$ ，或者該物質不能被認為是一種可快速降解物質，則分別進行適當的慢性危害分類和相對應的急性危害分類。值得注意的是，雖然 $\log K_{ow}$ 是表示生物蓄積作用可能性的最容易獲得的資料，但最好還是首先選擇使用測試得到的BCF 資料。在有現成資料的情況下，應使用這些資料而不是分配係數。在這種情況下， $BCF \geq 500$ 將表明，生物蓄積作用的情況已足以半其列入適當的慢性危害種類。如果這種物質既可快速降解，又具有較小的生物蓄積作用可能性（ $BCF \geq 500$ ，或者在沒有的情況下 $\log K_{ow} < 4$ ），則不能被劃分為慢性危害帶，而只能劃分為急性危害帶（見A9.2.1）。

A9.2.4.4 對於不易溶解物質，一般說來，在測試介質中的水溶解度 $< 1 \text{ mg/l}$ 的物質，如果沒有發現具有水生毒性，應通過進一步檢查來確定是否需要劃分為慢性第IV類。因此，如何該物質既沒有可快速降解性，又具有生物蓄積作用可能性（ $BCF < 500$ ，或者在沒有的情況下 $\log K_{ow} < 4$ ），則應劃分為慢性危害第IV類。

A9.2.5 數據有效性

用於物質分類的資料最好還是來自於管理目的資料和從有關的參考文獻中得到，儘管有許多得到國際認可的資料庫可作為好的起點。這些資料庫在質量和全面性方面存在很大差異，而且任何一個資料庫也不太可能擁有分類所需的全部資料資料。有些資料庫專門收集水生毒性資料，還有些專門收集環境宿命的資料。化學品供應商有義務進行必要的研究和檢查，以確定現有資料的範圍和質量，並用這些資料進行適當的危害分類。

A9.2.6 資料品質

A9.2.6.1 如何準確地使用現有資料，將在有關章節中闡述；但作為一般規則，與其他類型的資料相比，應優先選擇來自標準國際準則和良好實驗室的資料。同樣，也應認識到，可根據最好的現有資料進行分類。因此，如果沒有現成資料能夠符合上述質量標準，只要使用的資料不是無效資料，仍可據此進行分類。為有助於實現這一過程，現已編制了一份質量評分指南，它已廣泛用於許多論壇；

它一般採用符合下列類別：

- (a) 從經過管理機構認可的官方資料源得到的資料，譬如，歐盟水品質專著、美國環保署水品質標準等。這些資料可被認為是有效資料，可供分類使用。然而，不應假設這些是唯一有效的資料，而且應適當考慮相關報告的日期。最新資料可能還沒有被考慮進來；

- (b) 從公認的國際準則（如經濟合作發展組織準則）或同等品質的國家準則中得到的資料。這些資料可以以下幾章提出的資料解釋問題為條件用於分類；
- (c) 從測試中得到的、即使不完全符合以上詳述的準則，但卻遵循了公認的科學原理和程序並且/或者在發表前經過了同儕審查的資料。對於這些資料，如果沒有記錄所有的測試細節，則需要作出某些判斷，以確定這些資料是否有效。通常這些資料可用於分類辦法；
- (d) 通過某些測試程序而獲得的資料；如果這些測試程序明顯與標準準則不同而且被視為不可靠測試，則資料將不能用於分類；
- (e) QSAR 數據。QSAR 資料的使用環境和有效性在有關章節中討論；
- (f) 來自次級來源，譬如來自手冊、評論、引用資料等的資料，這些的資料品質無法直接評估。如果資料達不到品質1、2 和3，則應對資料進行審查，以確定這些資料是否可用。這樣的資料應足夠詳細，以便於進行品質評估。在確定這些資料是否可用於分類目的時，應適當考慮測試中的困難，因為它們有可能對危害鑑定的資料品質以及報告的結果造成影響（見A9.3.6.2.3）。

A9.2.6.2 也可以根據不完整的毒性資料資料進行分類，譬如，所有三個食物鏈水平的資料資料都不全。在這種情況下，分類可被認為是“臨時”的，需要進一步收集資訊資料。一般來說，在進行分類之前，對所有的現成資料都應該予以考慮。在沒有優質資料的情況下，則需要考慮品質較差的資料。在這種情況下，需要對真實的危害層級作出判斷。譬如，對於一個特殊的物種或分類群，在有優質資料，同時也有品質較差的資料的情況下，應優先使用優質資料。但是，對於各級食物鏈的所有基本資料組來說，優質資料並不是總能得到。因此，對於這些各層食物鏈來說，在無法獲得優質資料的情況下，則有必要考慮品質較差的資料。然而，在考慮這些資料的時候，也需要考慮可能對獲得有效結果的可能性造成影響的各種困難。譬如，測試細節和測試設計可能對評估某些資料的使用性至關重要（譬如來自水解不穩定的化學物質的資料），而對於其他化學物質則沒有這麼重要。這些困難在 A9.3 章做了進一步的論述。

A9.2.6.3 通常，根據直接來自所考慮的物質測試的資訊進行危害判別並據此作出分類。然而在有些情況下，可能會在測試中遇到一些困難，或者得到的結果與常識不符。譬如，某些化學物質，雖然在瓶內很穩定，但在水中卻發生快速（或慢速）反應，生成可能具有不同性質的降解產物。當降解速度很快時，現有測試資料將用於定義降解產物的危害性，因為它就是已經進行過測試的物質。這些資料可用於按正常方式對母體物質進行分類。然而，當降解速度比較緩慢時，有可能對母體物質進行測試，從而按正常方式產生危害資料。後續發生的降解可在確定是適用急性還是慢性危害種類時予以考慮。然而，可能會出現這樣的情況，即測試物質可能發生降解，生成具有更大危害性的產物。在這些情況下，母體的分類應適當考慮降解產物的危害性，以及在正常環境條件下形成這種危害的速度。

A9.3 水生毒性

A9.3.1 導言

判別一種物質對水生環境具有危害的基礎，是這種物質的水生毒性。應根據對魚類、甲殼綱動物和海藻/水生植物的現有毒性資料進行分類預測。這些分類群通常被認為對水生動物群和植物群的危害判別具有代表。有關這些特定分類群的資料更容易找到，因為它們通常被管理機構和化學工業所接受。有關降解和生物蓄積作用行為的其他資訊，可用於更好地描述水生危害。本章介紹了生態毒性的有關測試，提出了用於評估資料和使用組合測試結果進行分類的一些基本概念，總結了處理困難物質的方法，並簡要討論了資料品質的解釋問題。

A9.3.2 測試說明

A9.3.2.1 在調和制度中進行物質分類時，可將淡水和海水物種毒性資料視為等價資料。值得注意的是，某些類型的物質，如游離化有機化學或有機金屬物質，可在淡水和海水環境中表現出不同的毒性。由於分類的目的是確定水生環境中的危害特點，因此應選擇表現出最大毒性的結果。

A9.3.2.2 用於確定健康和環境危害的全球調和制度標準應是一種不偏向測試方法的標準，允許使用各種不同的方法，前提是根據現行制度中所指的關於人們關切的終點指標的國際程序和標準，它們在科學上是完善和有效的，並且能夠產生大家都可接受的資料。根據建議的制度（經濟合作發展組織1998）：

“急毒性通常利用下列手段確定：一條魚，96 個小時 LC_{50} （經濟合作發展組織測試準則203 或同等準則），一種甲殼綱動物，48 小時 EC_{50} （經濟合作發展組織測試準則202 或同等準則）和/或一種海藻生物，72 或 96 小時 EC_{50} （經濟合作發展組織測試準則201 或同等準則）。這些物種被認為是所有水生生物體的代用品。如果測試方法得當的話，有關其他物種，如浮萍Lemna 的資料，也可以考慮。”

慢性測試包括長期暴露；時間長短可用從天到年的時間週期表示，或者根據水生生物的繁殖週期確定。慢性測試可用於評估與生長、存活、繁殖和發育有關的某些終點指標。

“慢性毒性資料的可用性低於急毒性資料，而且測試程序的標準化也不如急性測試。根據經濟合作發展組織測試準則210（魚的早期生命階段）、202 第2部分或211（水蚤的繁殖）和201（海藻生長抑制）生成的資料可以接受。其他有效的和在國際上得到認可的測試，也可以使用。NOEC 或其他等效 $L(E)Cx$ 也可以使用。”

A9.3.2.3 值得注意的是，被作為分類實例引用的一些經濟合作發展組織準則，目前正在進行修訂或計畫更新。這些修訂對測試條件的修改可能並不大。因此，制訂分類調和標準的專家小組打算在測試時間甚至使用的測試物種上保持一些靈活性。

A9.3.2.4 關於用魚、甲殼綱動物和海藻進行可接受的測試的準則，可見於許多地方（經濟合作發展組織,1999；美國環保署, 1996；美國測試材料學會, 1999；國際標準化組織駐歐盟機構）。經濟合作發展組織專著11，對工業化學物質和殺蟲劑的水生毒性測試的詳細審查檔，

是一部很好的深海測試方法彙編，可作為測試指導的來源。這份檔還提供了許多適當的測試方法。

A9.3.2.5 魚類測試

A9.3.2.5.1 急性測試

急性測試通常用體重在0.1 至5g 的小魚進行，測試時間為96 小時。這些測試的觀察目標是死亡率。大於上述範圍的魚和/或時間短於96 小時，通常都不那麼敏感。然而，對於分類來說，如果沒有用較小的魚進行的96 小時測試得到的可接受資料可用，或者由於測試用魚的大小或測試時間不同於上述範圍而使測試結果會影響更危害的分類範圍時，可使用這種資料。應使用應符合經濟合作發展組織測試準則203（魚96 小時LC50）或同等準則的測試進行分類。

A9.3.2.5.2 慢性測試

用魚進行慢性也就是長期測試，可從繁殖的魚卵、胚胎、幼魚或具有繁殖能力成魚的開始。符合經濟合作發展組織測試準則 210（魚的早期生命階段）、魚的生命週期測試（美國環保署850.1500）或同等準則的測試，可用於分類辦法。測試時間可按測試目的的不同而存在很大差別（從7 天到200 天均可）。觀察終點指標可包括孵卵成功率、生長（身長和重量變化）、產卵成功率和生存力。從技術上講，經濟合作發展組織210 準則（魚的早期生命階段）不是“慢性”測試，而是一種對敏感生命階段進行的亞慢性測試。它作為慢性毒性的一個指標，已為人們普遍接受，並被於調和制度的分類目的。魚的早期生命階段的毒性資料比魚的生命週期或繁殖研究資料要容易獲得多。

A9.3.2.6 甲殼綱動物測試

A9.3.2.6.1 急性測試

利用甲殼綱動物進行的急性測試通常始於首齡幼蟲。對於水蚤來說，測試時間為48 小時。對於其他甲殼綱動物，譬如糖蝦或其他動物，典型的測試時間為96 小時。觀察終點指標是死亡率，或者用僵化不動作為死亡率的代用指標。僵化不動應定義為對輕微的針刺沒有反應。符合經濟合作發展組織測試準則 202 第1 部分（水蚤急毒性）或美國環保署OPPTS 850.1035（糖蝦急毒性）或其他同等準則的測試均應用於分類。

A9.3.2.6.2 慢性測試

利用甲殼綱動物進行慢性測試通常也是從首齡幼蟲開始，然後經歷發育成熟和繁殖階段。對於水蚤來說，測試21 天即可達到成熟，並孵化3 次卵。對於糖蝦來說，則需要28 天。觀察終點指標包括第一次產卵的時間、每只雌蟲產下的後代數量、生成和存活情況。建議用符合經濟合作發展組織測試準則 202 第2 部分（水蚤繁殖）或美國環保署850.1350（糖蝦慢性毒性）或其他同等準則的測試進行分類辦法。

A9.3.2.7 海藻/植物測試

A9.3.2.7.1 海藻測試

海藻栽培在營養豐富的介質中，並與測試物質相接觸。應使用符合經濟合作發展組織測試準則 201（海藻生長抑制）的測試。標準測試方法採用的是接種體內的細胞密度指標，以確保在整個測試階段（通常為3 至4 天）的指數增長。

海藻測試是一種短期測試，雖然它可提供急性和慢性終點指標，但只有急性EC50 被用於調和制度的分類。在此項研究中，首選的觀察終點指標是海藻生長率抑制，因為它不取決於測試設計，而單位面積或體積內生物的數量既取決於實驗動物的生長率和測試時間，也取決於其他的測試設計因素。如果所報告的觀察終點指標只是單位面積或體積內生物數量的減少或者沒有明確說明，那麼可將該值解釋為等效終點指標。

A9.3.2.7.2 水生大型植物測試

在水生毒性測試中最常使用的維管植物是浮萍（*Lemna gibba* 和 *Lemna minor*）。Lemna 測試是一種短期測試；雖然它可提供急性和亞慢性目標檢測值，但只有急性EC50 被用於調和制度的分類。測試時間最長14 天，可在類似於海藻測試條件的營養豐富的介質中進行，但可以增強強度。應使用符合經濟合作發展組織Lemna 測試準則（在準備過程中）和美國環保署850.4400（水生植物毒性，Lemna）的測試。

A9.3.3 水生毒性概念

本節涉及的是急性和慢性毒性資料在分類中的使用，以及對接觸途徑、海藻毒性測試和QSAR的使用的一些特殊考慮。有關水生毒性概念的更詳細討論，請參閱Rand（1996）。

A9.3.3.1 急毒性

A9.3.3.1.1 用於分類目的的急毒性概念指的是一種在短期接觸條件下，對生物體產生有害作用的物質的固有特性。急毒性通常可用對50%的測試生物體（LC50）有致命作用的濃度指標來表述；急毒性可導致對50%的測試生物體產生可檢測到的負作用（如水蚤的僵化不動），或者出現測試生物體（經過處理）的反應比對照（未處理）生物體的反應（如海藻生長率）降低50%的情況。

A9.3.3.1.2 帶有小於百萬分之一（1 mg/l）急毒性的物質，通常被認為是具有很大的毒性。接觸、使用這些物質或將其排放到周圍環境中，可帶來很大的危害；可將它們列入慢性和/或急性群I。小數段可被接受為高於這一群的急毒性分類。帶有百萬分之一至百萬分之十（1–10 mg/l）急毒性的物質，應劃分為II 類急毒性；帶有百萬分之十至百萬分之一百（10–100 mg/l）急毒性的物質，應劃分為三類急毒性；急毒性含量在百萬分之一百以上的物質，則被認為是實際上無毒性物質。

A9.3.3.2 慢性毒性

A9.3.3.2.1 以分類為目的而言，慢毒性，指的是一種物質對水生生物體長期接觸後產生負作

用的潛在的或實際特性。所謂長期接觸是相對於生物體生命週期而言的。這種慢性影響通常包括亞致死率，一般採用無可觀測到的影響濃度（NOEC），或相對應的EC_x 指標來表示。典型的觀察目標包括生存、生長和/或繁殖。慢性毒性接觸時間可在較大範圍內變化；這主要取決於測試檢測目標和所選用的物種。

A9.3.3.2.2 由於慢性毒性資料在某些領域不像急毒性資料那麼常見，對於分類辦法來說，慢毒性的可能性用急毒性、缺少可降解性和/或潛在或實際存在的生物蓄積作用等指標結合起來確定。當這些資料存在，並顯示長期NOECs > 1 mg/l 時，可在確定是否應根據急毒性資料進行分類時考慮這些資料。在這種情況下，應採用下列一般做法。為取消慢性毒性分類，必須有證據表明，所採用的NOEC 適合消除對導致分類結果的所有分類群的擔心。這通常可通過顯示對急毒性最具敏感性的物種的長期指標NOEC > 1 mg/l來實現。譬如，如果已經根據魚的急性LC₅₀ 指標進行了分類，則通常不可能利用另一個來自無脊椎動物毒性測試的長期NOEC 指標撤銷魚的LC₅₀之分類。在這種情況下，NOEC 通常需要從利用同一物種進行的長期魚類測試，或者從某一個相對應物種或更為敏感的物種的測試中得到。同樣，如果分類是根據對一個以上的分類群有效的急毒性資料做出的，則很可能需要顯示每一個分類群的測試結果為NOECs > 1 mg/l。在將一種物質定為慢性第IV 類時，只要顯示NOEC 大於所討論物質的水溶解度即可。

A9.3.3.2.3 對海藻/Lemna 進行的測試不能用於撤銷化學物質分類。因為（1）海藻和Lemna 測試不屬於長期測試研究；（2）急性與慢性的比值一般比較窄；而且（3）觀測終點指標與其他生物體的觀測終點指標不一致。

然而，在僅僅根據在單一海藻/水生植物測試中觀察到的急毒性(L(E)C₅₀)進行分類，但其他海藻測試卻有證據顯示這種分類群的慢性毒性（NOECs）大於1mg/l 時，這一證據可用於考慮取消這種分類。目前，這種方法還不能用於水生植物，因為還沒有制訂出標準化慢毒性的測試方法。

A9.3.3.2.4 全球調和制度打算提出具體的慢毒性值。當低於這一指標時，該物質將被劃分為慢毒性物質，但這種標準目前尚未確定。

A9.3.3.3 暴露途徑

在急性和慢性測試中，包括在淡水和海水介質中，採用以下4 種暴露條件：靜態、靜態更新（半靜態）、迴圈和流過。選擇使用哪種測試類型，通常取決於測試物質特性、測試時間、測試物種和有關管理要求。

A9.3.3.4 海藻的測試介質

海藻測試應在營養豐富的介質中進行，常見成分EDTA 或其他螯合劑的使用應慎重考慮。在測試有機化學物質毒性時，在基質的複合微量營養物中需要微量的EDTA 一類的螯合劑；如果沒有的話，海藻生長有可能會顯著減慢，從而影響測試的有效性。然而，螯合劑可降低金屬測試物質可檢測到的毒性。因此，對於金屬化合物來說，對於來自採用高濃度螯合劑的測試和/或相對濃度的離子，螯合劑化學計量過多的測試的資料，最好進行嚴格的評估。自由螯合劑可顯著掩蓋重金屬的毒性，特別是在使用像EDTA 一類的強螯合劑的時候。

然而，在介質中如果沒有現成的鐵，海藻的生長會受到鐵的限制，因此，對來自沒有或較少鐵含量和EDTA 量的測試資料，也應謹慎對待。

A9.3.3.5 QSAR的使用

為分類目的，在沒有測試資料的情況下，可利用QSAR 方法作出有關非電解物質、非親電物質和其他不起反應物質對魚、水蚤和海藻的急毒性的預測(見A9.6 章“QSAR 的使用”)。對於通過像與生物受體之間存在相互作用，或者能夠與細胞的蛋白質形成硫氫基群的官能基這樣的特殊機理起作用的有機磷酸酯一類的化學物質，仍然存在一些問題。對於基本麻醉機轉起作用的化學物質，目前已經得到可靠的QSAR。這些化學物質屬於低反應性非電解質，如碳氫化合物、酒精、酮和某些脂肪族氯化烴；並因其分配係數而產生不同的生物效應。每一種有機化學物質都可產生麻醉作用。然而，如果化學物質是一種電解質，或者含有也能導致非麻醉機轉的特定官能基，若僅根據分配係數進行毒性計算，都會造成對毒性的嚴重低估。如果它們是在長於急性測試期的一段時間後得到的，則母本化合物急性水生毒性的QSAR 不能用於預測毒性代謝物或降解產物的影響。

A9.3.4 證據權重

A9.3.4.1 品質最好的資料應作為分類的基本基礎。分類最好建立在第一級數據源的基礎上。必須明確和完整地說明測試條件，這一點十分重要。

A9.3.4.2 當對於一個分類群已有多項研究的情況下，應首先確定哪些是最敏感的、品質最好的。必須針對每一種情況分別作出判斷，確定是否用觀察更敏感的非良好實驗室的研究替代良好實驗室的研究。根據非標準或非良好實驗室做法準則進行的測試所表明的高毒性結果，似乎應該能夠用於分類，而顯示毒性可以忽略不計的研究結果，則需要進行更仔細的考慮。很難進行測試的物質，有可能產生比實際毒性嚴重或輕微得多的明顯結果。在這些情況下，分類也需要專家判斷。

A9.3.4.3 當對同一個分類群有多個可以接受的測試結果時，一般應在分類中使用最敏感的測試結果(L(E)C50 或 NOEC 最低的測試結果)。然而，這必須針對具體情況分別對待。對於同一物種，在有較多資料(4 或4 個以上參數值)的情況下，可將毒性值的幾何平均數作為該物種有代表性的毒性值使用。在估計平均值的時候，將同一分類群中不同物種，或不同生命階段，或在不同的測試條件或測試週期下得到的測試結果綜合在一起考慮，是不可取的。

A9.3.5 難以進行測試的物質

A9.3.5.1 在測試準則建議的測試條件下，有效的水生毒性測試要求測試物質應在水介質中溶解。此外，生物效暴露濃度應在測試期間內保持不變。某些化學物質很難在水生系統中進行測試，為此而編制了測試指導，以幫助對這些物質進行測試(環境部 1996；歐洲生態毒理學和化學品毒理學中心1996；和美國環保署1996)。經濟合作發展組織目前正對關於難測物質和混合物的水生毒性測試的指導文件進行最終定稿(經濟合作發展組織, 2000)。後一文件提供了有關難以進行測試的各種物質的大量資訊，以及確保對這些物質所做的測試得到有效結果的具體步驟。

A9.3.5.2 然而，現存許多測試資料可能使用了這樣的測試方法學：它們不符合當今可能被視為最佳的做法，但仍可產生適合於分類標準應用的資訊。這樣的資料需要對資料解釋提供特殊指導，儘管最終還需要用專家判斷來確定資料的有效性。這種難以進行測試的物質可能溶解性很差、易揮發，或者在諸如光轉化、水解、氧化或生物降解過程的作用下，容易發生快速降解。在對海藻進行測試時，有色物質有可能藉由削弱細胞生長所需的光線，而影響測試觀察終點指標。同樣，作為高於溶解度的雲狀彌散物測試的物質，有可能會導致錯誤的毒性檢測結果。用帶有測試物質的水柱載入，可產生微粒或諸如金屬一類的固體問題。在就確定L(E)C50 值的適當濃度作出決定時，石油蒸餾物成分也會帶來載入問題和困難的解釋問題。關於難測物質和混合物的水生毒性測試的指導文件草案，介紹了有可能出現測試困難問題的許多物質類型的常見特性。

穩定性：如果測試化學品濃度可能降至正常值的80%以下，那麼為了使測試有效，可能需要由接觸途徑規定對測試物質進行更新。最好具備半靜態或流通條件。因此，對於海藻測試，通常當標準準則要求進行靜態測試時，就會產生一些特殊的問題。雖然用其他接觸途徑對甲殼綱和魚類動物進行測試時是可能的，這些測試通常會按國際認可準則中規定的靜態條件下進行。在進行這些測試時，必須容忍出現一定的降解水平和其他相關因素；而且在計算毒性濃度時，必須給予適當的考慮。有關如何解決這些問題的一些方法在A9.3.5.6 中介紹。當發生降解時，考慮降解產物的毒性作用對測試中記錄毒性的影響，也是十分重要的。在決定資料是否可用於分類時，也需要專家判斷。

可降解性：當化合物在測試條件下出現分解或降解，應將專家判斷用於為分類而進行的毒性計算，其中包括考慮到已知的或很有可能出現的分解產物。母材和所有顯著的降解產物的濃度都是需要的。如果預期的降解產物相對來說沒有什麼毒性，則需要採用可更新接觸途徑，以確保母體化合物能夠保持一定的水平。

飽和度：對於單一化合物，分類只能建立在可溶解範圍內觀察到的毒性反應基礎上，而不是在大於溶解度之上的總體化學載荷的基礎上。常常有現成的資料表明毒性的水平大於在水中的溶解度。通常這些資料被視為無效時，或許有作出一些解釋可能。在對不易溶解物質進行測試時，常常會出現這些問題。有關這些資料應該如何解釋的指導載於A9.3.5.7（另見關於難測物質和混合物的水生毒性測試的指導文件）。

測試介質的擾動：或許需要採取特別措施，以確保難以進行測試的物質的溶解度。這些物質不應導致測試介質出現顯著變化，如果這些變化有可能造成毒性的增長或減小，進而改變測試物質的分類水平的話。

混合物質：分類辦法所涉及的許多物質事實上都是混合物，對於這些物質，暴露濃度的檢測是很困難的，甚至在某些情況下是不可能的。有些物質，譬如石油蒸餾成分、聚合體，以及帶有較多雜質的物質，可能會帶來一些特殊的問題，因為毒性濃度很難定義，而且幾乎無法進行驗證。典型的測試方法通常依賴於水溶性成分（WSF）或水積累性成分（WAF）的生成，資料則按負載速率報告。這些資料可在應用分類標準中使用。

A9.3.5.3 對於有機化合物的分類，最好擁有一個穩定的、能夠進行分析檢測的測試濃度。雖然最好能夠使用檢測到的濃度，但如果在某些條件下額定濃度研究結果是唯一的有效資料時，也可以根據額定濃度研究結果進行分類。如果材料很容易出現明顯的降解或者從水柱中丟失，在對資料作出解釋時則必須小心謹慎；而且在相關和可能的情況下，在分類時應考慮測試過程中損失的毒性物質。此外，金屬還會帶來一些由於它們的自身原因而引起的困難，這些都分別予以討論。表A9.3.1 列出了幾種難以進行測試的物質的特性和它們與分類的相關性。

A9.3.5.4 在最困難的測試條件下，實際測試濃度很可能低於額定或預期測試濃度。對於某種難以進行測試的物質來說，當毒性（L（E）C50s）估計值小於1mg/l 時，人們可以確信，劃分為急性第I 類（和慢性第I 類，如果適用的話）是有理由的。然而，如果估計的毒性值大於1 mg/l，則很有可能造成對毒性的認識不夠。在這些情況下，需要借助於專家判斷來確定難以進行測試的物質的測試結果是否可被接受，用於分類。如果認為測試的困難情況在毒性估計值大於1 mg/l 而且測試濃度沒有檢測的情況下，會對實際測試濃度造成顯著影響，那麼在分類時，應謹慎使用這種測試。

A9.3.5.5 下面幾段將對某些解釋問題提供一些詳細的指導。在進行這項工作時應牢記，這只是一些指導，不能作為硬性規定使用。許多困難的性質決定了在確定測試中是否有足夠的資訊可以對其有效性作出判斷，以及是否可以確定適合在應用分類標準時使用毒性水平時，都必須借助於專家判斷。

A9.3.5.6 不穩定物質

A9.3.5.6.1 雖然採用的測試方法最好能最大限度地減少對測試介質不穩定性的影響，但在實際上，要在整個測試中保持一個濃度不變幾乎是不可能的。造成這種不穩定性的常見原因是氧化、水解、光降解和生物

降解作用。雖然後面幾種降解形式可以較為容易地控制，但在許多現有測試中，控制常常並不存在。然而，對於某些測試來說，特別是急性和慢性魚類毒性測試，可以選擇接觸途徑，以有助於最大限度地減少因不穩定而造成的損失。在確定測試資料的有效性時，應將這一點考慮進去。

A9.3.5.6.2 當不穩定性確定是測試過程中暴露劑量的一個因素時，作出資料解釋的必要前提條件是，在整個測試過程中適當的時間點確實檢測到暴露濃度。至少在測試開始和結束時，如果沒有分析到一定的濃度，則不能作出有效的解釋，而且應將測試視為無效，不得用於分類目的。在有檢測資料的時候，則可根據資料解釋指導考慮一些實際規則：

- 在有測試開始和結束時的檢測資料（對於急性水蚤和海藻測試來說是正常的）時，為了分類目的，可認為L（E）C50 可根據開始和結束點的測試濃度幾何平均值進行計算。當測試結束點濃度低於分析偵測極限時，應將這樣的濃度視為偵測極限值的一半。
- 在有介質更新期開始和結束點的檢測資料（在半靜態測試中可得到）時，應計算每個更新期的幾何平均值，並根據這些資料計算整個暴露期的平均暴露值。

- 當毒性可歸因於一種經降解分解產物，而且這種產物的濃度已知時，為了分類目的，可根據降解產物濃度計算 $L(E)C_{50}$ ，然後再回推母體濃度值。
- 類似的原則也可用於慢毒性測試的檢測資料。

A9.3.5.7 不易溶解物質

A9.3.5.7.1 這些物質通常被認為是在水中的溶解度 $< 1 \text{ mg/l}$ 的物質，常常很難在測試介質中溶解，而且在預期的低溶解度條件下，其溶解度經常很難檢測。對於許多物質來說，在測試介質中的真正溶解度是不知的，且經常通常在純水中是測不到的。然而，這些物質可能表現出毒性，在沒有發現毒性時，則必須通過判斷來確定是否可以認為測試結果有效，可用於分類目的。判斷寧可失之謹慎，也不應低估危害性。

A9.3.5.7.2 最好利用適當的溶解技術以及水溶解範圍內的準確濃度檢測結果進行測試。在有這些測試資料的時候，與其他資料相比，應優先選用這樣的資料。然而，在一般情況下，特別是在考慮到舊資料的時候，發現這種物質的記錄毒性值超過水溶解度，或者溶解值低於分析方法的檢測極限，是正常的。因此，在上述兩種情況下，都不可能利用實測資料驗證實際暴露濃度。當這些是唯一可用於分類的資料時，可根據一般指導考慮一些實際規則：

- 在記錄的急毒性值超過水溶解度時，為了分類目的，可認為 $L(E)C_{50}$ 等於或低於檢測到水溶解度。在這種情況下，或許應確定為慢性I和/或急性I種類。在作出這種決定的時候，應充分注意過多的不溶解物質對測試機轉造成實質性影響的可能。如果認為這可能是造成觀察到的影響的原因，則應認為測試結果無效，不能用於分類目的。
- 在沒有記錄到急毒性值超過水溶解度時，為了分類目的，可認為 $L(E)C_{50}$ 大於水溶解度檢測值。在這種情況下，應考慮是否可確定為慢性IV種類是否適用。在作出該物質顯示無毒性決定的時候，應充分考慮用來達到最大溶解濃度的技術。如果無法認為採用這種技術是合理的，則應認為測試結果無效，不能用於分類目的。
- 在水溶解度低於分析方法規定的該物質偵測極限，而且記錄到存在急毒性時，為了分類目的，可認為 $L(E)C_{50}$ 小於分析偵測極限值。如果沒有觀察到毒性，則為了分類目的，可認為 $L(E)C_{50}$ 大於水溶解度。此時也應充分考慮上述品質標準。
- 在有慢性毒性資料的情況下，應採用相同的一般規則。原則上，只應考慮那些顯示在水溶解度極限值沒有影響或者 $L(E)C_{50}$ 大於 1 mg/l 的資料。如果檢測濃度資料的有效性差，則應視情況考慮使用最大溶解濃度的技術。

A9.3.5.8 影響濃度降低的其他因素

其他一些因素也會使濃度降低，其中有些因素可以通過正確的測試設計加以避免，但當這樣的因素起作用的時候，經常會有必要對資料作出解釋。

- 沉澱：在測試過程中，由於多種原因，可能會產生沉澱現象。一個常見的解釋是，

物質並沒有真正溶解，儘管看起來固體顆粒已經不存在了；測試中出現的凝聚現象會導致出現沉澱。在這種情況下，為了分類目的，可認為 $L(E)C_{50}$ 建立在測試濃度末端的基礎上。同樣，通過與介質發生化學反應也可能出現沉澱現象。這種現象可按上述不穩定條件考慮。

- 攝入：具有較高攝入特性的物質，譬如高 $\log K_{ow}$ 物質，可出現這種情況。在出現這種情況的時候，濃度常常會快速降低；暴露強度最好用測試濃度終點值表示。
- 生物蓄積作用：一種物質在測試生物體內積累的過程中會出現一些損失。在水溶解度比較低， $\log K_{ow}$ 相對應比較高的情況下，它具有特別重要的意義。此時，為了分類目的，可根據在開始和結束點的測試濃度幾何平均值計算 $L(E)C_{50}$ 值。

A9.3.5.9 測試介質的擾動

A9.3.5.9.1 強酸和強鹼可造成毒性，因為它們可以改變pH 值。然而，在一般情況下，水生系統中pH 值的變化通常會受到測試介質中的緩衝系統的阻止。如果沒有有關鹽份的資料可供使用，一般按與陰離子或陽離子兩樣的方法，將鹽作為受到最嚴格分類的離子進行分類。如果影響濃度僅與一種離子有關，在對鹽進行分類時，則應將分子量的差異考慮進去，即通過乘以比例值 MW_{salt}/MW_{ion} 來修正影響濃度，。

A9.3.5.9.2 聚合體在水生系統中通常是不存在的。可分散聚合體和其他高分子物質有可能擾亂測試系統，影響氧的吸收，並產生機械作用或二次作用。在考慮來自這些物質的資料時，應將這些因素考慮進去。然而，許多聚合體的行為有些像混合物，可以從本體聚合物中濾除低分子物質。這一問題將在下面作進一步討論。

A9.3.5.10 混合物

A9.3.5.10.1 混合物的特點是它具有各種各樣的化學結構，通常屬於一個同源系列，但其水溶解能力和其他物理化學特性卻有著很大的不同。加到水中後，具有物質載入特性的溶解和不溶解成分之間會達到一種平衡。正是由於這個原因，這種混合物通常作為WSF 或WAF 進行測試，而且根據載入值或額定濃度記錄 $L(E)C_{50}$ 。通常沒有現成的分析支援資料，因為溶解成分本身將成為各種成分的複雜混合物。毒性參數有時候被稱為 LL_{50} ，與致死值有關。來自WSF 或WAF 的這一負荷值可直接用於分類標準。

A9.3.5.10.2 聚合體代表一種特殊類型的混合物，要求考慮聚合物類型和它們的溶解/擴散行為。聚合體可以這樣溶解而不會出現變化，（真正的溶解度與粒徑有關），可以擴散，或者帶有低分子成分的一部分組成物可能會進入溶液內。當出現後面一種情況時，聚合體的測試實質上就是檢測低分子物質從本體聚合物中濾除的能力，並確定這種瀝出物是否存在毒性。因此，可以像考慮複雜混合物那樣，這樣認為：聚合體的負荷可以最好地描述所生成的瀝出物，因此可以將毒性與這種負荷聯繫起來。

表A9.3.1 難以進行測試的物質的分類

特性	困難的性質	分類實用方法
不易溶於水	達到/保持所要求的暴露濃度；進行暴露分析	當觀察到的毒性反應大於現在溶解度時，需要作出專家判斷，以確定這些影響是來自化學毒性還是物理效應；如果沒有觀察到任何影響，則應顯示已經達到完全飽和溶解。
濃度低時的毒性	達到/保持所要求的暴露濃度；進行暴露分析	根據毒性分類< 1 mg/l
揮發性	保持和檢測暴露濃度	應根據可靠的濃度檢測結果分類。
光降解	保持暴露濃度。分解產物的毒性。	分類需要專家判斷，應建立在檢測濃度的基礎上。應確定明顯分解產物的毒性特點。
水解不穩定性	保持暴露濃度。分解產物的毒性。比較降解半衰期與測試中採用的暴露途徑。	分類需要專家判斷，應建立在檢測濃度的基礎上，需要說明明顯分解產物的毒性。
易於氧化	達到、保持和檢測暴露濃度。經過改造的化學結構或分解產物的毒性。比較降解半衰期與測試中採用的暴露途徑。	分類需要專家判斷，應建立在檢測濃度的基礎上，需要涉及明顯分解產物的毒性。
易於磨蝕/轉化 (指金屬/金屬化合物)	達到、保持和檢測暴露濃度。比較從水柱隔離的半衰期與測試中採用的暴露途徑。	分類需要專家判斷，應建立在檢測濃度的基礎上，需要涉及明顯分解產物的毒性。
生物降解	保持暴露濃度。分解產物的毒性。比較降解半衰期與測試中採用的暴露途徑。	分類需要專家判斷，應建立在檢測濃度的基礎上，需要涉及明顯分解產物的毒性。
吸附作用	保持暴露濃度。進行暴露分析。因測試物質的可用性降低而引起的毒性強度。	分類應使用現有物質的檢測濃度。
形成螯合物	區別介質中的螯合和非螯合成分。	分類應使用現有物質的檢測濃度。
有色	光線衰減（海藻問題）。	分類必須將毒性效應與因光線衰減而導致的生長率降低區別開來。
不溶於水	保持恒定的暴露濃度。	分類應使用濃度檢測結果。
離子化	保持暴露濃度。分解產物的毒性。比較降解半衰期與測試中採用的暴露途徑。	分類需要專家判斷，應建立在檢測濃度的基礎上，需要涉及明顯分解產物的毒性。
多成分	準備有代表性的測試批次。	考慮方法與複雜混合物相同。

A9.3.6 資料品質的解釋

A9.3.6.1 標準化

許多因素可以影響水生生物毒性測試結果。這些因素包括測試水的特性、測試設計、測試物質的化學特性和測試生物的生物學特性。因此，在進行水生毒性測試時使用標準化測試方法，以減少這些外來波動源的影響是十分重要的。測試標準化以及這些標準的國際調和目的是減少測試的差異性，提高測試的精確性、可複製性和測試結果的一致性。

A9.3.6.2 資料結構

A9.3.6.2.1 分類應建立在高品質原始資料的基礎上。應優先選用那些符合經濟合作發展組織測試準則或同等準則和良好的實驗室測試做法（GLP）的資料。最好使用用國際調和測試方法對標準測試物種所做的測試獲得的資料，但也可以使用根據普遍公認的國際或國家測試方法或同等準則所做的測試結果，譬如ISO 或ASTM 方法。在沒有相關良好實驗室做法資料時，也可以使用來自看似符合公認的測試準則但卻不缺乏良好實驗室做法的資料。

A9.3.6.2.2 Pedersen 等人（1995 年）曾提出一個資料品質評分系統，與目前正在使用的許多其他系統是一致的，其中包括美國環保署在它的AQUIRE 資料庫中使用的系統。也可以參閱Mensink 等人（1995 年）在討論資料品質時提出的評分系統。Pedersen 等人描述的資料品質評分系統包括一個可靠性排序方法；它可以作為一個模式用於在調和方法下的分類。Pedersen 所描述的前三個資料級別可作為優先選用的資料使用。

A9.3.6.2.3 在調和制度下的分類資料應來自原始資料源。然而，由於許多國家和管理當局將利用全球調和制度進行分類，因此，在分類時應允許使用國家當局和專家組的審查結果，前提是這些審查結果是以原始資料為基礎的。這樣的審查結果應包括測試條件匯總，說明應足夠詳細，應達到能夠據此判斷證據權重並作出分類決定。也可以利用由公認的組織，如海事組織/糧農組織/教科文組織-海洋學委員會/氣象組織/衛生組織/原子能機構/聯合國/環境規劃署海洋環境保護的科學方面聯合專家組的審查結果，其中的原始資料是可以接受的。

A9.3.6.2.4 在沒有經驗測試資料的情況下，可以使用用於水生毒性的有效的定量結構活性關係（QSARs）。與QSAR 預測資料相比，只要測試資料是有效的，就應該優先選用測試資料。

A9.4 降解

A9.4.1 導言

A9.4.1.1 可降解性是化學物質重要的固有特性之一，可據此確定它們對環境的潛在危害。非降解物質將在環境中長期存在，並有可能因此而對生物體造成長期的不利影響。相比之下，可降解物質可從下水管道、汙水處理廠或環境中消除。

化學物質分類主要依據它們的固有特性。然而，降解度不僅取決於分子的固有頑抗特性，還取決於接收環境區間的實際條件，譬如氧化還原能力、pH 值、存在合適的微生物、物質濃度，以及其他物質的存在和濃度。因此，在水生危害分類過程中對降解特性的解釋，要求有一個詳細的標準。該標準應能綜合考慮物質的固有特性和占主導地位的環境條件，並針對潛在的長期不良影響問題將它們納入結論意見中。本章的目的是提供有機物質降解資料解釋指導。指導是根據上述對水生環境物質降解所做的分析提出的。根據這一指導，提出了一個詳細的判定方案，以便將現有降解資料用於分類目的。本指導文件中涉及的降解資料類型包括：迅速生物降解資料、在水中進行轉換的類比資料、水生沉澱物和土壤，以及用於估計水生環境中可快速降解能力的BOD5/COD 資料和技術。此外還考慮了厭氧性微生物降解、固有生物降解、汙水處理廠類比測試資料、水解和光解一類的無生命轉化資料，諸如揮發一類的消除過程，以及從現場調查和監測研究中得到的有關資料。

A9.4.1.2 第1.2 章將降解一詞定義為較大的有機分子分解為較小的分子，並最終分解為二氧化碳、水和無機鹽。對於無機化合物和金屬來說，用於有機化合物的可降解概念是受到限制的，或者沒有什麼意義。物質很有可能通過正常的環境過程進行轉化，或者增加或者減小毒性物質的生存能力。因此，本章將只討論有機物質和有機金屬。來自水柱的環境分區將在第A9.7 章討論。

A9.4.1.3 有關一種物質的降解特性資料，可從標準化測試或其他各種研究結果中得到，或者根據分子結構作出估計。對這種用於分類目的降解資料所做的解釋，通常要求對測試資料作出詳細的評估。本章將給出指導，更詳細的資料見描述現有方法（附件 A9.I）和水生環境影響因素（附件 A9.II）的兩個段落。

A9.4.2 對可降解性資料的解釋

A9.4.2.1 可快速降解性

化學物質的水生危害分類常常建立在有關其環境特性的現有資料的基礎上。測試資料的主要目的是有助於分類。人們常常會得到各種各樣的測試資料，但這些資料未必可直接用於分類標準。因此，需要給予指導，說明如何從水生危害分類的角度解釋現有測試資料。根據調和標準，下面將給出指導，說明如何解釋表示為水生環境中“快速降解”的三種類型的降解資料（見A9.1.8, A9.1.9, A9.1.2.3.1 至 A9.2.3.3 和3.10.2.10.3 段第3 部分的定義）。

A9.4.2.2 迅速生物降解

A9.4.2.2.1 經濟合作發展組織測試準則 301 （經濟合作發展組織1992）對迅速生物降解下定

義：在標準的經濟合作發展組織迅速生物降解測試或類似的測試中，所有降解到比過去更高一級數值的有機物質均應被視為具有迅速生物降解特性，因此也被認為是可以快速降解的。然而，許多文獻給出的測試資料並沒有具體說明所有的測試條件，而這些條件卻需要評估，以表明測試是否滿足迅速生物降解測試要求。因此需要在這些資料用於分類目的之前，由對資料的有效性做出專家判斷。然而，在對一種測試物質的迅速生物降解特性做出結論之前，至少應該考慮下列參數。

A9.4.2.2.2 測試物質濃度

在經濟合作發展組織迅速生物降解測試中，使用濃度相對較高的測試物質（2—100 mg/L）。然而，在這樣高的濃度下，許多物質可能對接種體具有毒性作用，從而導致在測試中出現較為緩慢的降解現象，而這種物質在較低的非毒性濃度下卻有可能出現快速降解。利用微生物進行的毒性測試（如經濟合作發展組織測試準則 209“活性污泥呼吸抑制測試”、ISO 9509 氮化合物抑制測試或ISO 11348 發光細菌抑制測試），可以顯示測試物質的毒性。如果抑制有可能是造成一種物質沒有隨時發生降解的原因，那麼在具備利用較低的非毒性測試物質濃度所做的測試結果的情況下，應使用這種測試結果。在將這種測試結果用於快速降解物質分類標準時，應針對每一種具體情況分別考慮，即使在條件具備的情況下，最好使用利用環境允許的微生物的生物量和非毒性低濃度測試物質所做的地表水降解測試資料。

A9.4.2.2.3 時間視窗

調和標準包括對在10 天內達到過去水平的所有迅速生物降解測試的總體要求。這可能不符合經濟合作發展組織測試準則310。該測試準則規定經濟合作發展組織迅速生物降解測試應設有一個為期10 天的時間視窗，但MITI I 測試（經濟合作發展組織測試準則 301C）除外。在封閉瓶測試（經濟合作發展組織測試準則 301D）中，如果在10 天後還沒有做完檢測，則可採用一個為期14 天的時間視窗。此外，人們常常只能獲得有限的生物降解測試資訊。因此，作為一種注重實效的方法，如果在10 天的時間視窗沒有獲得資訊，則在28 天後得到的降解百分比資料可直接用於評估迅速生物降解。然而，只有對現有測試資料和不適用於10天時間視窗的測試所得到的資料，這才是可接受的。

A9.4.2.3 *BOD₅/COD*

只有當沒有其他有關降解的檢測資料可供使用時，方可將5 天生化需氧量（*BOD₅*）訊息用於分類目的。這樣，應優先使用通過迅速生物降解測試和其他模擬研究得到的水生環境降解資料。*BOD₅* 測試是一種傳統的生物降解測試，現已被迅速生物降解測試所替代。因此，今天不能再為評估物質的迅速生物降解特性而進行這樣的測試。然而，在沒有其他降解資料可供使用的情況下，仍可使用過去的測試資料。對於化學結構已知的物質，可以計算理論需氧量（*ThOD*），並應將計算結果代替化學需氧量(*COD*)來使用。

A9.4.2.4 其他令人信服的科學證據

A9.4.2.4.1 水環境中的快速降解，也可以用第3.10 章3.10.2.10.3 節（a）和（b）段沒有提到的其他資料來說明。這些資料可以是生物和/或非生物降解資料。只有在顯示降解產物不能被定為水環境有害產物，也就是它們不符合分類標準時，方可使用原始降解資料。

A9.4.2.4.2 要符合第3.10 章第3.10.2.10.3 段所述標準(C)，要求物質在水生環境中，在28 天測試期內，可降解到>70%的水平。如果假設為一級動力學——這是在絕大多數水生環境下最常見的低物質濃度條件下的合理假設，則在28-天測試期內，降解率將保持相對穩定。這樣，當平均降解率常數 $k > -(\ln 0.3 - \ln 1) / 28 = 0.043 \text{ 天}^{-1}$ 的時候，將滿足降解要求。這相當於降解半衰期 $t_{1/2} < \ln 2 / 0.043 = 16 \text{ 天}$ 。

A9.4.2.4.3 而且，由於降解過程隨著溫度的變化而變化，因此，在對環境中的降解過程作出評估時，也應當考慮這一參數。應使用來自可以實際存在的環境溫度下所做的測試研究的資料進行評估。當需要對比在不同溫度條件下進行測試研究得到的資料時，可使用傳統的Q10 方法，也就是當溫度降低10 °C 時，降解率減小一半。

A9.4.2.4.4 應針對具體情況，通過專家判斷的方式，對滿足這些標準的資料作出評估。然而，有關對有可能用於表明在水生環境中存在快速降解的不同類型的資料如何作出解釋的指導，將在下面給出。一般說來，人們通常認為只有來自水生降解類比測試的資料方可直接使用。然而，來自其他環境區域的類比測試資料也可以考慮，但這些資料在使用之前，一般需要先作出更為科學的判斷。

A9.4.2.4.5 水生模擬測試

水生模擬測試是在測試室條件下進行的測試，但可以模擬環境條件，而且使用像接種體一類的天然樣本。水生類比測試結果可直接用於分類目的，如果測試是在模擬地表水中接近實際的環境條件下進行的，也就是：

- 物質濃度比較接近一般的水生環境（通常在低 $\mu\text{g/L}$ 範圍內）；
- 來自相對應水生環境的接種體；
- 比較接近實際的接種體濃度（ $10^3 - 10^6$ 細胞/mL）；
- 比較接近實際的溫度（如 5 °C 至 25 °C）；而且
- 可確定最終降解率（如確定礦化率或總體生物降解路徑中的個體降解率）

在28 天，也就是在半衰期 < 16 天內，至少降解70%的測試物質，可被視為可快速降解物質。

A9.4.2.4.6 實地調查

與實驗室模擬測試平行的是實地調查或mesocosm 測試。在這種研究中，可以考察在環境或環境封閉域內的化學物質的正常演化過程和/或效應。來自這種測試的正常演化資料可用於評估快速降解潛力。然而，這常常是一件很困難的事，因為它要求能夠顯示最終的降解情況。這可以通過準備質量平衡的方式來證明。質量平衡應表明沒有發現非降解中間產物，而且將餡分考慮進去。這種餡分是由於其他過程，譬如對沉澱物的吸附或從水生環境中揮發等過程，從水生系統中分離出來的。

A9.4.2.4.7 監測資料

監測資料可能顯示，存在從水生環境中去除污染物的現象。然而，這些資料很難用於分類目的。在使用這些資料時，應考慮以下幾個方面：

- 這種去除是降解的結果，還是其他過程產生的結果，譬如稀釋或在環境區間之間的分佈（吸附、揮發）？
- 非降解中間物的生成是否排除在外？

只有顯示在最終降解結果的去除，能滿足快速降解標準時，方可認為這些資料可用於分類目的。一般來說，監測資料只能作為表明水生環境中的長期存在或者快速降解的支持證據使用。

A9.4.2.4.8 固有生物降解測試

在固有生物降解能力（經濟合作發展組織測試準則 302）測試中降解率超過70%的物質，有可能出現最終生物降解。然而，由於在這些測試中具備最佳條件，因此不能假設具有可生物降解固有特性的物質，可在環境中出現快速生物降解。固有生物降解測試的最佳條件會刺激微生物的適應性，從而與自然環境相比，增加了生物降解的可能性。因此，這種有利的結果一般不能被解釋為在環境中可快速降解的證據*。

A9.4.2.4.9 污水處理廠模擬測試

污水處理廠條件模擬測試（STP）（如經濟合作發展組織測試準則 303）得到的結果，不能用於評估水生環境的降解。其主要原因是，在水處理廠的微生物生物量與實際環境中的生物量有著明顯的差別，這主要表現在物質的組成有顯著的差異，而且在污水中存在的快速礦物化有機物質可通過共代謝作用，促進測試物質降解。

A9.4.2.4.10 土壤和沉澱物降解數據

有人認為，土壤和地表水中存在著或多或少大致相同降解率的非吸附（非親脂性）物質。對於親脂性物質來說，由於吸附而產生的局部固定作用，土壤中的降解率一般可能比水中的降解率低。因此，當一種物質已經表明在土壤模擬測試中可快速降解時，它很有可能也會在水生環境中快速降解。因此建議，只要通過測試確認可在土壤中快速降解，就足以證明當滿足下列條件時，它也會在地表水中快速降解：

* 關於相當於經濟合作發展組織關於慢性第IV類調和標準的降解資料的解釋，歐盟物質的環境危害分類標準常設工作組，正討論來自固有生物降解測試的某些類型資料，是否可針對每一種具體情況進行評估時，作為非在其他方面滿足下列標準的物質進行分類的基礎：

有關固有生物降解測試為Zahn Wellens 測試（OECD TG 302 B）和MITI II 測試（OECD TG 302 C）。在這種情況下的使用條件應為：

(a) 測試方法不得使用前暴露（預適應）微生物；

(b) 在每個測試中的自適應時間應有一定限制，測試終點指標應僅僅涉及礦化過程，通過標準和達到這些指標的時間應分別為：

- 在14 天內，MITI II 通過標準 > 60 %；
- 在7 天內，Zahn Wellens 測試 > 70 %。

- 沒有發生土壤微生物的前暴露（預適應），而且
- 用於測試的物質濃度接近該物質在環境中的實際濃度，而且
- 物質在28 天內出現最終降解，半衰期 < 16 天，對應降解率 $> 0.043/\text{天}$ 。

上述論點對於在水生條件下的沉澱物降解資料也同樣有效。

A9.4.2.4.11 厭氧性微生物降解數據

有關厭氧性微生物降解的資料不能用於確定一種物質是否可被認定為可快速降解物質，因為人們通常認為水生環境是一種有氧環境，其中生活著一些水生微生物，譬如像用於水生危害分類那樣的微生物。

A9.4.2.4.12 水解

只有當pH 值在4~9 範圍內確定的較長的半衰期 $t_{1/2}$ 小於16 天時，方可被視為水解資料（譬如經濟合作發展組織測試準則 111）而可用於分類目的。然而，水解並不是一種最終的降解，中間會形成一些不同的中間降解產物，其中一部分可能只是緩慢降解。只有當能夠令人滿意地證明，形成的水解產物並不能滿足水生環境有害物質分類標準時，才可以考慮來自水解測試研究的資料。

當一種物質能夠被快速水解時（譬如 $t_{1/2} < \text{幾天}$ ），這一過程將是在生物降解測試中確認的降解過程的一部分。水解可能是生物降解的初級轉化過程。

A9.4.2.4.13 光化學降解

將有關光化學降解的資訊（譬如經濟合作發展組織，1997）用於分類目的是困難的。水生環境中的實際光化學降解率取決於當地條件（譬如水深、懸浮固體物、混濁度），降解產物的危害性通常還不清楚。只在稀有的情況下，才會有足夠的資訊對光化學降解進行全面評估。

A9.4.2.4.14 降解估計

A9.4.2.4.14.1 現已提出一些QSAR 方法，用於粗略地預測水解半衰期。只有當沒有現成的測試資料時，才可以考慮這些方法。然而，水解半衰期只能謹慎用於分類，因為水解並不涉及最終降解性（見本節“水解”）。此外，到目前為止所提出的QSAR 方法的適用性存在著很大的限制，只能用於預測數量有限的化學品類型的水解潛力。譬如，QSAR 程序HYDROWIN（1.67 版，錫拉庫紮研究公司），只能用於預測小於 $1/5^{\text{th}}$ 具有一定（精確）分子結構的現有歐盟物質的水解潛力（Niemelä, 2000）。

A9.4.2.4.14.2 一般而言，目前還沒有一種用於估算有機物質生物降解程度的定量估計方法（QSAR），能足夠準確地預測快速降解。然而，這種方法得到的結果卻可以用於預測一種物質不能快速降解。譬如，在生物降解可能性程序（如BIOWIN3.67 版，錫拉庫紮研究公司）中，當線性或非線性方法估計的可能性 < 0.5 時，即可將這些物質視為非快速降解物質（經濟合作發展組織, 1994；Pedersen 等，1995 和Langenberg 等，1996）。此外，還可使用其他一

些 (Q) SAR 方法以及專家判斷，譬如，當有現成的結構相似化合物的降解資料時，但這種判斷應倍加謹慎。一般說來，在沒有適當的降解資料可供使用時，推斷一種物質是屬於非快速降解物質的QSAR 預測方法可用於分類目的，這比使用有缺陷的分類辦法要好一些。

A9.4.2.4.15 易揮發性

化學物質通過揮發可以從某些水生環境中去除。固有的揮發潛力可通過物質的亨利定律常數 (H) 確定。從水生環境中揮發的特性，在很大程度上取決於特定水體的環境條件，譬如水深、氣體交換係數（取決於風速和水流）和水體分層。由於揮發性只代表可從水相中去除化學物質，因此亨利定律常數不能用於評估涉及水生危害分類的物質可降解性。然而，對於在環境溫度下呈氣體狀態的物質等等，可以按此進行進一步的考慮（另見Pedersen 等人，1995）。

A9.4.2.5 無降解數據

在無可使用的降解資料情況下——通過測試確定或者估計的資料——應視其為非快速降解物質。

A9.4.3 一般的解釋問題

A9.4.3.1 混合物

進行危害水生環境的化學物質分類的調和標準主要集中在單一物質上。某些類型的固有合成物質屬於多成分物質。它們一般屬於自然起源，只是偶而才需要考慮。從礦物油或植物材料中產生或提取的化學物質可能就屬於這種情況。從管理角度來看，這些複雜化學物質通常都被視為單一物質。在大多數情況下，在一定的碳鏈長度和/或置換度範圍內，它們被定義為同源系列物質。在這種情況下，可以預見，在可降解方面沒有顯著的差異，而且可根據複雜化學物質測試結果，確定可降解度。當發現一種處於邊緣狀態的降解時，就會出現一種例外情況，因為在這種情況下，某些單一物質可能會快速降解，而其他物質不會快速降解。這就要求對複雜物質中的單一成分作出更為細緻的評估。當非快速降解成分構成一種複雜物質的主要組成部分時（如超過20%，或者對於有害成分而言，甚至更低一些），就應該將該物質視為非快速降解物質。

A9.4.3.2 物質的可用性

A9.4.3.2.1 有機物質在環境中的降解，絕大部分發生在水生環境中，或者發生在土壤或沉澱物的水相中。當然，水解要求有水存在。微生物的活動取決於水的存在。此外，生物降解要求微生物直接與物質接觸。因此，物質在包圍著微生物的水相中的溶解，是細菌、真菌和基質之間最直接的接觸途徑。

A9.4.3.2.2 目前研究化學物質可降解性的標準方法是針對易溶解的測試物質制定的。然而，許多有機物質在水中只具有很小的溶解性。由於標準測試要求使用2—100 mg/L 測試物質，因此，對於具有較低的水溶解能力的物質來說，很難達到足夠的可用性。對於一些低溶解物質，可進行連續混合和/或增加接觸時間的測試，或者採用特殊設計的測試，也就是測試中所用的測試物質濃度要低於水溶解度。

A9.4.3.3 測試時間小於28 天

A9.4.3.3.1 有時候報告指出，在標準中規定的28 天測試期結束之前中止的測試中出現降解現象（如MITI,1992）。當降解大於或等於所得到的通過數值時，這些資料當然可以直接使用。當僅僅達到較低的降解數值時，在解釋測試結果時，則應小心謹慎。其中一種可能是測試時間太短，化學結構很有可能在為期28 天的生物降解測試中已經降解。如果在短時間內出現大量的降解現象，可將這種情況與標準 $BOD_5/COD \geq 0.5$ ，或者與在10 天的時間視窗內的降解要求進行比較。在這種情況下，可認為該物質具有易降解特性（因此而具有快速降解特性），條件是：

- 最終生物降解率在5 天內超過50%；或者
- 在這段時間內的最終降解率常數大於0.1/天，對應於半衰期7 天。

A9.4.3.3.2 提出這些標準的目的是為了確保不會出現快速礦化現象，雖然測試是在28 天測試期結束之前和達到通過值之前結束的。在解釋那些不符合規定的通過值的測試資料時，必須特別小心。必須考慮低於通過值的生物降解是否是因物質的部分降解而引起的，而不是一種完全礦化現象。如果對於所觀察到的生物降解現象，部分降解是一種可能的解釋，則應將該物質視為不能迅速生物降解物質。

A9.4.3.4 一次生物降解

在某些測試中，只能借助於，測試物質特異性或群特異性化學分析方法，通過降解過程確認母體化合物（譬如一次降解）消失。只有在能夠令人滿意地顯示，所形成的降解產物並不滿足水生環境有害物質分類標準時，才可用一次生物降解資料證明快速降解特性。

A9.4.3.5 篩選測試的矛盾結果

A9.4.3.5.1 當有更多的有關同一種物質的降解資料可供使用時，就有可能出現一些相互矛盾的結果。一般說來，已利用適當的生物降解測試方法經過多次測試的同一種物質，如果出現相互矛盾的結果，則可通過“證據權重方法”進行解釋。這意味著，如果在對同一種物質進行的迅速生物降解測試中已經得到兩種結果，即正結果（譬如，降解率高於通過水平）和負結果時，則應將品質最高的資料和最好的記錄用於確定該物質的迅速生物降解特性。然而，在科學品質良好，測試條件記錄完整，即滿足了準則標準（包括使用非前暴露（非適應性）接種體）的情況下，應將迅速生物降解測試得到的正結果視為有效，而不管負結果如何。各種篩選測試中沒有一個能夠適合於所有類型的物質的測試，對於用一種不適合於特定物質的測試方法得到的測試結果，在確定是否可以它們之前，應先進行認真的評估。

A9.4.3.5.2 因此，有許多因素可以用來解釋來自篩選測試的相互矛盾的生物降解資料：

- 接種體；
- 測試物質毒性；
- 測試條件；
- 測試物質溶解度；以及
- 測試物質揮發特性

A9.4.3.5.3 接種體對測試物質降解的適合性，取決於是否存在符合要求的降解促進物及其數量的多少。當接種體取自前期已經與測試物質接觸過的環境時，接種體可能已經適應環境，其證據是降解能力，這種接種體的降解能力大於來自非暴露環境的接種體的降解能力。只要有可能，接種體就必須從未接觸環境中採樣。但對於某些物質來說，它們被無所不在地大量使用，並被或多或少地連續廣泛釋放。在這種情況下，這可能是困難的或者不可能的。當得到的結果相互矛盾時，應對接種體來源進行檢查，以確認在微生物族群適應性方面存在的差異是否是產生這種現象的原因。

A9.4.3.5.4 如上所述，許多物質可能具有毒性，或者在迅速生物降解測試中，在相對較高的濃度下對接種體有抑制作用。特別是在經過改進的MITI (I) 測試（經濟合作發展組織測試準則 301C）和壓力計呼吸作用計量測試（經濟合作發展組織測試準則 301F）中，規定應採用較高的濃度（100 mg/L）。最低測試物質濃度在封閉瓶測試（經濟合作發展組織測試準則 301D）中有明確的規定，濃度為2~10 mg/L。在對毒性效應的可能性進行評估時，可在迅速生物降解測試中加入毒性控制，或者將測試濃度與微生物毒性測試資料進行比較，譬如呼吸抑制測試（經濟合作發展組織測試準則 209）、硝化抑制測試（ISO 9509），以及在不具備其他微生物毒性測試的情況下採用的生物冷光抑制測試（ISO 11348）。如果發現測試結果相互矛盾，這可能是由於測試物質的毒性造成的。如果物質在接近自然環境的濃度下沒有抑制作用，則可將篩選測試中最大的降解檢測值作為分類依據使用。如果在這種情況下有類比測試資料可供使用，考慮這些資料可能具有特別重要的意義，因為可能已經使用了物質的較低的非抑制濃度，從而可以更可靠地顯示接近實際環境條件下的物質生物降解半衰期。

A9.4.3.5.5 當測試物質的溶解度低於測試規定濃度時，該參數將有可能成為實際降解檢測值的限制因素。在這種情況下，應以採用測試物質最低濃度的測試結果為準，也就是通常進行的封閉瓶測試（經濟合作發展組織測試準則 301D）。一般說來，DOC 消沉測試（經濟合作發展組織測試準則 301A）和經過改進的經濟合作發展組織篩選測試（經濟合作發展組織測試準則 301E），不適用於難溶解物質的生物降解測試（譬如，經濟合作發展組織測試準則 301）。

A9.4.3.5.6 揮發性物質只能在像封閉瓶測試（經濟合作發展組織測試準則 301D）、MITI II 測試（經濟合作發展組織測試準則 301C）和壓力計呼吸運動計量測試（經濟合作發展組織測試準則 301F）這樣的封閉系統內進行測試。對於來自其他測試的結果則應作出認真評估，而且只能在足以證明（譬如通過質量平衡估計法）測試物質的消失不是揮發的結果時，才能考慮它們。

A9.4.3.6 模擬測試資料的變化

某些受到特別優先重視的化學物質可能具有許多模擬測試資料。通常，這種資料可提供在環境介質，如土壤、沉澱物和/或地表水中的半衰期範圍。從同一物質的模擬測試中觀察到的半衰期差異可能反映了測試條件的差異。所有這些可能都與環境條件有關。分類時，應從這種測試中觀察到的半衰期高端範圍內選擇合適的半衰期，辦法是採用證據權重方法並將實際和所做測試與環境條件有關的重要性考慮進去。一般來說，在評估水生環境中快速降解特性時，地表水類比測試資料優先於水生沉澱物或土壤測試資料。

A9.4.4 判定方法

下列判定方法可作為一般指導，幫助確定水生環境中的快速降解特性和危害水生環境化學物質的分類。

一種化學物質可被認定為不能快速降解，除非至少滿足下列條件之一：

- a) 物質顯示出可在為期28 天的迅速生物降解測試期內出現快速生物降解。如果能夠根據現有測試資料對其作出評估的話測試的通過值（70% DOC 消失或 60% 理論需氧量）必須在從生物降解開始之日算起10 天內達到。如果不能，則應在可能的情況下，按14 天時間視窗評定通過水平；或者在測試結束以後；或者
- b) 物質顯示出在地表水模擬測試中，可在半衰期＜16 天內（對應於在28 天內降解率＞70%）出現最終降解；或者
- c) 物質顯示出在水生環境中，可在半衰期＜16 天內（對應於在28 天內降解率＞70%）出現一次降解（生物或非生物降解），而且它顯示了降解產物不滿足水生環境有害物質分類標準。

在沒有這些資料的情況下，如果證明下列條件之一成立，則可認為存在快速降解：

- d) 物質顯示出在水生沉澱物或土壤模擬測試*中，可在半衰期＜16 天內（對應於在28 天內降解率＞70%）出現最終降解；或者
- e) 在只有BOD₅ 和COD 資料的情況下，BOD₅/COD 比值大於或等於0.5。同樣的標準適用於測試時間少於28 天的迅速生物降解測試，條件是半衰期＜7 天。

如果上述各種類型的資料都不具備，可將物質視為非快速降解物質。這種判定可以至少滿足下列條件之一來支持：

- (i) 物質在固有生物降解測試中被證明為不是固有的可降解物質；或者
- (ii) 通過科學有效的QSAR 方法，譬如生物降解概率程序，預測到物質具有緩慢的生物降解特性，其快速降解分值（線性或非線性模型）＜0.5；或者
- (iii) 根據直接證據，譬如，對結構類似物質的認識，將物質視為非快速降解物質；或者
- (iv) 沒有其他降解資料可供使用。

* 模擬測試應反映實際環境條件，譬如較低的化學物質濃度、接近實際的溫度，以及使用先前沒有接觸過該化學品的環境微生物。

A9.5 生物蓄積作用

A.8.5.1 導言

A9.5.1.1 生物蓄積作用是化學物質重要的固有特性之一，這些固有特性決定著它對環境的潛在危害。一種物質在生物體內的生物蓄積作用本身不是危害，但生物濃度和生物蓄積作用會導致生物體負擔，而這可能會也可能不會導致毒性效應。在關於化學物質的人類健康和環境影響的調和綜合分類制度中（經濟合作發展組織,1998），使用了“生物蓄積作用潛力”一詞。然而，應該在生物降解和生物蓄積作用之間有一個明確的區分。此處的生物濃度被定義為一種物質通過以水為媒介的接觸，而造成在生物體內吸收、轉化和排除的最終結果；而生物蓄積作用則包含所有的接觸途徑（也就是通過空氣、水、沉澱物/土壤和食物）。最後，生物放大定義為物質通過食物鏈而進行的積累和轉化，這導致了在營養鏈高端生物體內濃度的增加（歐洲委員會,1996）。對於大多數有機化學物質來說，從水中（生物濃度）攝取被認為是一種最主要的攝取途徑。只有那些具有較強疏水特性的物質，從食物中攝取才會成為一種重要途徑。此外，調和分類標準使用生物濃縮係數（或辛醇/水分配係數）作為化學物質生物蓄積作用潛力的檢測指標。由於這些原因，本指導文件只考慮生物濃縮，而對於通過食物或其他途徑的攝取則沒有討論。

A9.5.1.2 化學物質分類主要根據化學物質的固有特性。然而，生物濃縮還取決於許多因素，譬如生物藥利用、測試生物體的生理特性、恒定暴露濃度的保持、暴露時間、標的生物體內的代謝和生物體內排泄物等。因此，在化學品分類中，生物濃縮潛力的解釋，要求對物質的固有特性以及確定生物濃縮係數（BCF）時的環境條件作出評估。在這一指南為基礎，目前已制訂了一個將生物濃縮或 $\log K_{ow}$ 資料用於分類目的的判定方法。本章的重點是有機物質和有機金屬。金屬物質的生物蓄積作用在 A9.7 章也有討論。

A9.5.1.3 一種物質的生物濃縮特性資料，可通過標準化測試獲得，也可根據其分子結構作出估計。在解釋這種用於分類目的的生物濃縮資料時，通常要求對測試資料作出詳細的評估。為便於進行這種評估，本文又附加了兩個附錄。這兩個附錄介紹了現有方法（附件8 附錄三）和影響生物濃縮潛力的因素（附件8 附錄四）。最後，還編列了用來確定生物濃縮和 K_{ow} 值的標準化測試方法清單（附件8 附錄五）和參考文獻清單（附件8 附錄六）。

A9.5.2 生物濃縮作用資料的解釋

A9.5.2.1 一種化學物質的環境危害分類，通常是根據它的現有環境特性資料確定的。只有在很少的情況下，產生測試資料的主要目的才是有助於分類。人們常常可以得到各式各樣的測試資料，但它們並不一定滿足分類標準。因此，需要給予指導，說明如何在危害分類中解釋現有資料。

A9.5.2.2 一種有機物質的生物濃縮，可通過生物濃縮測試確定。在測試期間，BCF 將作為生物體內濃縮的檢測指標，用於與處於穩定狀態的水中濃度，或者通過攝入率常數（ k_1 ）和消除速度常數（ k_2 ）（OECD 305, 1996）得到的估計值進行比較。一般說來，一種有機物質積累生物濃縮的潛力與物質的親脂性有很大關係。親脂性檢測指標是n-辛醇-水分配係數（ K_{ow} ）。對於親脂性非離子有機物質來說，在進行最低代謝或生物體內轉化時，該係數與生物濃縮係數之間存在一定的關係。因此， K_{ow} 係數常常用於根據在 $\log BCF$ 和 $\log K_{ow}$ 之間的

經驗關係式，對有機物質的生物濃度作出估計。對於大多數有機物質來說，可用估計方法計算 K_{ow} 。因而，一種物質的生物濃度特性資料可以（i）經由實驗確定，（ii）根據實驗確定的 K_{ow} 係數作出估計，或者（iii）根據利用定量結構活性關係得到的 K_{ow} 值作出估計。有關如何解釋這些資料的指導，將在下面與需要特別注意的化學品種類評估指導一併給出。

A9.5.2.3 生物濃縮係數（BCF）

A9.5.2.3.1 生物濃縮係數定義為化學物質在生物體中的濃度和在生物體的周圍介質（這裏為水）中的濃度比例。因此，可在穩定狀態條件下通過測試，根據檢測到的濃度得到BCF。然而，BCF也可以作為一級攝取和消除速度常數之比，通過計算得到；這是一種不需要平衡條件的方法。

A9.5.2.3.2 用於通過測試確定魚體內生物濃縮的各種測試準則現已有報告並受到採納，其中應用最普遍的是經濟合作發展組織測試準則（經濟合作發展組織305，1996）。

A9.5.2.3.3 為分類目的，最好使用測試得到的高品質BCF值，因為這些資料優於替代資料，如 K_{ow} 。

A9.5.2.3.4 高品質資料定義為這樣的資料，即關於所採用的測試方法的有效性標準得到了滿足並具有說明；譬如，保持恒定暴露濃度、氧和溫度波動情況，以及達到穩定狀態條件的記錄等等。如果能夠提供適當的描述（譬如，借助於良好測試室做法），便於從中確認有效性標準是否得到滿足，即可將該測試視為高質量測試研究。此外，還必須採用適當的分析方法，用於對水中和魚體內組織中的化學物質及其毒性代謝物進行定量分析（詳見附錄三第1部分）。

A9.5.2.3.5 如果BCF值品質低或者不可靠，將有可能提供虛假資訊和過低的BCF值；譬如使用了在魚體內和水中的測試物質檢測濃度，但這一檢測結果是在只經歷了很短的接觸時間後進行的；而在這樣短的時間內，還沒有達到穩定狀態條件（比較經濟合作發展組織306，1996年，有關達到平衡狀態的時間估計）。因此，在使用這些資料之前，應首先對它們進行謹慎評估，並應考慮使用 K_{ow} 值。

A9.5.2.3.6 如果沒有涉及魚類的BCF值可供使用，也可以使用其他物種的高品質BCF資料（如根據藍貽貝、牡蠣、扇貝確定的BCF值（ASTM E 1022-94））。應謹慎使用報告的微藻類BCF資料。

A9.5.2.3.7 對於高親脂性物質，譬如， $\log K_{ow}$ 值大於6的物質，測試得到的BCF值隨著 $\log K_{ow}$ 值的增大而減小。對於這一非線性現象的概念性解釋，主要指膜滲透動力的降低或者大分子生物脂肪溶解度的減小。由此將會在生物體內出現較低的生物藥利用和對這些物質的攝取。其他因素包括測試中的人為現象，譬如，沒有達到平衡、因水相中的有機物質吸收而導致生物藥利用降低和分析誤差等。因此，在評估高親脂性物質的BCF測試資料的時候，需要特別謹慎，因為與具有較低親脂性物質的BCF值相比，這些資料的不確定性高得多。

A9.5.2.3.8 不同測試物種的BCF

A9.5.2.3.8.1 用於分類目的的BCF 值建立在整個機體檢測結果的基礎上。如前所述，最佳分類資料是利用經濟合作發展組織305 測試方法或國際通用的等效方法得到的BCF 值。在這些方法中使用的是一些小魚。由於與較大的生物體相比，較小的生物體具有較高的鰓表面與重量之比，所以對於較小生物體來說，它比較大生物體能夠更快地達到穩定狀態條件。因此，如果報告的BCF 值僅建立在達到平衡狀態的魚體內和水中檢測濃度的基礎上，用於生物濃縮測試的生物體（魚）的大小，則要比攝取階段所需時間更為重要。這樣，如果在生物濃縮測試研究中已經使用較大的魚，譬如成年鮭魚，則應對攝取期是否足夠長，能夠確保達到穩定狀態，或者能夠對精確動態攝入率常數作出評估。

A9.5.2.3.8.2 此外，在將現有資料用於分類時，從幾種不同的魚或其他水生物種（譬如蛤），以及從魚的不同器官中得到BCF 值，都是可能的。因此，要對這些資料進行相互比較並與標準進行比較，需要有一個公認的基礎或標準化方法。人們注意到，在一種魚或一種水生生物中的脂肪含量和觀測到的BCF 值之間有著密切的關係。因此，在對各種不同魚的BCF 值進行比較，或者將特定器官的BCF 值轉化為整個機體的BCF 值時，通用方法是表示常見脂肪含量的BCF 值。如果（譬如）在文獻中查到整個生物體的BCF值或特定器官的BCF 值，第一步就要利用脂肪在魚體內或某個器官內的相對含量，按脂肪百分比%計算BCF 值（比較有關測試物種典型脂肪含量的文獻/測試準則）。在第二步，根據假定的常見缺乏脂肪含量，計算典型水生生物體（譬如小魚）整個體內的BCF 值。最常使用的缺乏值為5%（Pedersen 等人，1995），因為它代表著經濟合作發展組織305（1996）中使用的小魚的平均脂肪含量。

A9.5.2.3.8.3 一般說來，這種以常見脂肪含量表示的達到最高有效性的BCF 值用於確定與調和分類標準500 的BCF 臨界值有關的基於濕重的BCF 值（見第3.10 章，圖3.10.1）。

A9.5.2.3.9 放射性同位素標記物質的使用

A9.5.2.3.9.1 使用放射性同位素標記物質，可有助於對水和魚的樣本進行分析。然而，除非與特定的分析方法結合起來，總的放射性檢測結果可潛在地反映母體以及可能出現的代謝物和變形碳存在。這些物質已經以有機分子的形式與魚的組織融合在一起。因此，利用放射性同位素標記的測試物質確定的BCF值，常常會被高估。

A9.5.2.3.9.2 在使用放射性同位素標記物質時，最常見的是在分子的穩定部分做上標記。正是由於這個原因，檢測得到的BCF 值包含分子的BCF 值。對於某些物質而言，正是一些代謝物最具毒性，而且容易出現最大的生物濃度。因此，母體以及代謝物的檢測，對於這種物質的水生危害（包括生物濃度潛力）的解釋具有重要的意義。

A9.5.2.3.9.3 在使用放射性同位素標記物質進行的測試中，常常在魚的膽囊中發現較高的放射性同位素標記濃度。對此的解釋是，這是由於肝臟內的生物轉化和接下來在膽囊內產生的代謝排泄物而造成的（Comotto 等人，1979；Wakabayashi 等人，1987；Goodrich 等人，1991；Toshima 等人，1992）。在魚沒有吃東西的時候，膽囊內的物質還沒有被清空到腸道內，高濃度代謝物可能會在膽囊內積累起來。因此，餵養方式可能對檢測到的BCF 值有顯著影響。在文獻中，有許多測試研究採用放射性同位素標記化合物，而且沒有給魚餵食。其結果是，在膽囊內發現高濃度放射性物質。在這些測試研究中，生物濃縮在大多數情況下已經被高估。

因此，在評估使用放射性同位素標記化合物的測試時，有必要也對飼養方式作出評估。

A9.5.2.3.9.4 經濟合作發展組織準則305（1996）強烈推薦，如果記錄的以放射性同位素標記殘餘物質表示的BCF 值 ≥ 1000 ，則應針對諸如殺蟲劑一類的物質，對代表著穩定狀態下在魚的組織中 $\geq 10\%$ 的總殘留量的降解產物進行判別和定量分析。如果沒有代謝物的判別和量化資料可供使用，生物濃度評估則應建立在經過放射性同位素標記的BCF 檢測值的基礎上。對於較高的生物蓄積作用物質（BCF ≥ 500 ），如果只有建立在母體化合物和經過放射性同位素標記的檢測結果上的BCF 值，那麼應將後者用於分類。

A9.5.2.4 辛醇-水分離係數（ K_{ow} ）

A9.5.2.4.1 對於有機物質來說，從測試中得到的高品質 K_{ow} 值，或者評述中予以評估並被冠以“推薦值”的參數值，應優先於其他 K_{ow} 確定值。在沒有高品質測試資料可供使用的情況下，log K_{ow} 值的有效定量結構活性關係可用於分類過程。這種有效的QSAR 可以在不修改議定標準的情況下使用，但前提是它們僅限於那些對其適用性作出充分描述的化學物質。對於像強酸和強鹼一類的化學物質，以及與洗脫液或界面活性劑起反應的物質，應提供用QSAR 估計出的 K_{ow} 值或建立在單個n-辛醇和水溶解性基礎上的估計值，而不是通過分析確定的 K_{ow} 值（歐洲聯盟委員會A.8，1992；經濟合作發展組織117，1989）。在對處於非離子狀態的可游離物質（游離酸或游離鹼）進行檢測時，只能使用一種合適的緩衝劑，其pH 值應低於游離酸的pK 值，或者高於游離鹼的pK 值。

A9.5.2.4.2 K_{ow} 係數的測試確定

對於通過測試確定 K_{ow} 值，各種標準準則，譬如經濟合作發展組織測試準則 107（1995）；經濟合作發展組織測試準則 117（1989）；歐洲聯盟委員會A.8（1992）；EPA-OTS（1982）；EPA-FIFRA（1982）；美國測試材料學會（1993）；pH-公制方法（擬訂之中的經濟合作發展組織測試準則），介紹了幾種不同的方法，包括錐形瓶搖動法和HPLC 方法。當log K_{ow} 值在-2 至4 範圍內時，建議採用錐形瓶搖動法。錐形瓶搖動法只適用於經過提煉、可溶於水和n-辛醇的純淨物質。對於可以緩慢溶解於水的高親脂性物質，利用緩慢攪拌法得到的資料一般說來更為可靠。此外，由於在錐形瓶搖動測試過程中形成微乳而造成的測試困難，通過緩慢攪拌法可在一定程度上得到克服，因為此時水、辛醇和測試化合物可在輕輕攪拌的反應器內達到平衡。採用緩慢攪拌法（擬訂之中的經濟合作發展組織測試準則）後，可準確和精確地確定化合物的 K_{ow} 值，允許log K_{ow} 值達到8.2（經濟合作發展組織準則草案，1998）。至於錐形瓶搖動法和緩慢攪拌法，只適用於可溶於水和n-辛醇的基本純淨物質。當log K_{ow} 值在0 至6 範圍內時，建議採用可在分析柱上進行的HPLC 方法。與錐形瓶搖動法相比，HPLC 法對測試化合物中存在的雜質不那麼敏感。檢測log K_{ow} 值的另一項技術是發生器柱法（美國環保署，1985）。

由於通過測試方法確定 K_{ow} 值並不總是可行（譬如對於極易溶解於水的物質、特別親脂性物質和表面活性劑來說），所以也可使用通過QSAR 得到的 K_{ow} 值。

A9.5.2.4.3 用QSAR 確定 $\log K_{ow}$

當找到一個 K_{ow} 估計值時，必須考慮所採用的估計方法。目前已經並將繼續推出許多QSAR方法，用於估計 K_{ow} 值。在沒有測試得到的資料可供使用時，有4 種可在市面上買到的PC 程序（CLOGP、LOGKOW（KOWWIN）、AUTOLOGP、SPARC）被經常用於進行風險評估。CLOGP、LOGKOW 和 AUTOLOGP 程序基於集體貢獻；而SPARC 程序建立在更基本的化學結構運算法則的基礎上。只有SPARC 可通過一般方式用於無機或有機金屬化合物。對於表面活性化合物、螯合化合物和混合物，需要採用特殊方法估計 $\log K_{ow}$ 值。美國環保署/歐洲聯盟委員會關於確認QSAR 估計方法的聯合專案建議使用CLOGP（美國環保署/歐洲聯盟委員會，1993）。Pedersen 等人（1995）建議將CLOGP 和LOGKOW 程序用於分類目的，因為它們具有運行可靠、可以購買、使用方便的特點。建議在分類時採用下列估計方法（表A9.5.1）。

表A9.5.1 用來估計K_{ow} 值的建議QSAR 方法

模型	log K _{ow} 值範圍	適用物質範圍
CLOGP	從 logK _{ow} <0 ~ 到 logK _{ow} > 9 ¹	程序計算含有C、H、N、O、Hal、P 和/或S 的有機化合物的logK _{ow} 值。
LOGKOW (KOWWIN)	-4 < logK _{ow} < 8 ²	程序計算含有C、H、N、O、Hal、Si、P、Se、Li、Na、K 和/或Hg 的有機化合物的log Kow 值。某些界面活性劑（如乙醇乙氧基化物、染料和游離物質），也可通過這一程序預測。
AUTOLOGP	logK _{ow} > 5	程序計算含有C、H、N、O、Hal、P 和S 的有機化合物的logK _{ow} 值。目前正在改進，以擴大AUTOLOGP 程序的適用性。
SPARC	可通過 KOWWIN 和 CLOGP 程序對於logK _{ow} > 5 的化合物提供改進結果	SPARC 程序是一種基於化學熱力學原理的轉理模式，不是基於從觀測資料獲得的知識的確定性模式。因此，SPARC 不同於利用 QSAR （即KOWWIN, CLOGP, AUTOLOGP ）的模式，因為化學物質訓練集無需log Kow 檢測資料。只有SPARC 程序可通過一般方式用於無機或有機金屬化合物。

1 一項由Niemelä 進行的確認研究表明（Niemelä 將測試確定的logK_{ow} 值與估計值進行了比較），該程序可準確地預測相當數量的logK_{ow} 值從0 以下至9 以上（n = 501, r² = 0.967）的有機化學物質的logK_{ow} 值（TemaNord 1995：581）。

2 從logK_{ow} 估計值和測試值（對13058 種化合物進行了測試）分佈圖（錫拉庫紮研究公司, 1999）上可以看到，LOGKOW 程序對於logK_{ow} 值在-4~8 範圍的化合物是有效的。

A9.5.3 需要特別注意BCF 和K_{ow} 值的化學品類別

A9.5.3.1 某些物理-化學特性可使BCF 的確定或其檢測變得困難。這些可能是不以與它們的其他物理-化學特性（譬如位元阻）一樣的方式形成生物濃縮作用的物質，也可能是使描述符不適當的物質，譬如表面活性，它使檢測值和logK_{ow}值的使用變得不適當。

A9.5.3.2 難測物質

A9.5.3.2.1 有些化學物質很難在水生系統中進行測試，為幫助對這些物質進行測試，現已制定出指導辦法（環境部, 1996；歐洲生態毒理學和化學品毒理學中心, 1996；和美國環保署, 1996）。經濟合作發展組織目前正在對有關難測物質的水生測試指導文件進行最後的定稿（經濟合作發展組織, 2000）。經濟合作發展組織的這份文件是一個很好的資訊源，也適用於生物濃縮作用研究，其內容涉及那些難以進行測試的物質類型，並給出所需的測試步驟，以確保能夠從這些物質所做的測試中得出有效的結論。難以進行測試的物質可能是難以溶解、易揮發或由於光轉化、水解、氧化或生物降解之類的過程而易於快速降解的物質。

A9.5.3.2.2 為使有機化合物產生生物濃縮作用，物質需要能夠溶解脂肪中，存在於水中，並且能夠穿過魚鰓。改變這種有效性的特性將會因此而改變物質的實際生物濃縮，使之與預測值之間出現一定的差異。譬如，可迅速發生生物降解的物質，可能在水生環境中只能短時間存在。同樣，揮發性和水解將使濃度降低，並縮短物質可供生物濃縮作用的時間。另一個更重要的參數，那就是吸收，它有可能降低物質與微粒物質或一般表面的實際暴露濃度。有許多物質已經表明，它們可在生物體內發生快速轉變，從而導致BCF 低於預期值。可形成微團或聚合體的物質，其生物濃縮作用程度可能要低於根據簡單的物理-化學特性預測的水平。疏水物質也是這種情況，它包含在由於使用分散劑而形成的微團中。因此，建議不要在生物蓄積作用測試中使用分散劑。

A9.5.3.2.3 一般說來，對於難以進行測試的物質，建立在母體基礎上的BCF 和 K_{ow} 檢測值是確定生物濃縮作用潛力的前提條件。此外，適當的測試濃度記錄也是評估給定BCF 值有效性的一個前提條件。

A9.5.3.3 不易溶解物質和混合物

應特別注意不易溶解物質。通常，這些物質的溶解性記錄值低於檢測極限值。這給生物濃縮潛力的解釋帶來了一些困難。對於這樣的物質，生物濃縮潛力應建立在測試確定的 K_{ow} 值或根據QSAR 的 $\log K_{ow}$ 估計值的基礎上。在多成分物質不能完全溶解於水的情況下，應盡可能判別混合物成分，並考察利用有關其成分的現有資訊確定其生物蓄積作用潛力的可能性。當生物蓄積作用成分構成複雜物質的重要組成部分時（譬如大於20%，對於有害成分來說，含量值甚至更低），應將複雜物質視為生物蓄積作用物質。

A9.5.3.4 大分子量物質

當大於一定的分子尺寸時，物質的生物蓄積作用潛力會降低。這可能是由於這種物質通過鰓膜時的位阻造成的。目前已經有人建議，可採用分子量臨界值700(如歐洲委員會,1996)。然而，這一臨界值遭到了批評，有人提出另外一個臨界值1000，以排除對可能具有間接水生影響的物質的考慮（CSTEE,1999）。一般說來，應該考慮可能代謝物或大分子環境降解產物的生物濃度。因此，應對有關大分子量的分子生物濃度資料進行認真的評估。只有在認為這些資料對於母體化合物及其可能的代謝物和環境降解產物都是完全有效時，方可使用這些資料。

A9.5.3.5 界面活性劑

A9.5.3.5.1 這是一種含有親脂性（最常見的是一種烷基鏈）和親水性（頭部基團）成分的物質。根據頭部基團所帶電荷，表面活性物質可進一步細分為陰離子、陽離子、非離子或兩性表面活性物質。由於不同頭部基團之間的差別，界面活性物質是一種結構上種類繁多的化合物。因為這種化合物是根據表面活性而不是根據化學結構定義的。因此，應根據不同的子類（陰離子、陽離子、非離子或兩性物質）來考慮表面活性物質的生物蓄積作用潛力，而不是將它作為一個整體來考慮。表面活性物質可形成乳狀物，在這種乳狀物中很難確定生物藥效率。微團的形成可導致生物利用部分產生變化，即使在已經明顯形成溶液的時候，從而給生物蓄積作用潛力的解釋帶來一些困難。

A9.5.3.5.2 測試得到的生物濃縮係數

表面活性物質的BCF 檢測值表明，BCF 值可能會隨著烷基碳鏈長度的增加而增加，並可能依賴於頭部基團的連接位置和其他結構特點。

A9.5.3.5.3 辛醇-水分配係數 (K_{ow})

由於乳狀液的形成，表面活性物質的辛醇-水分配係數不能通過錐形瓶搖動法確定或緩慢攪拌法確定。此外，表面活性物質分子將幾乎完全以離子態存在於水相中，而它們必須與反離子配對後，才能溶解於辛醇中。因此，測試確定的 K_{ow} 值不能描述離子化表面活性物質的特點 (Tolls, 1998)。另一方面，已經表明，陰離子和非離子表面活性物質的生物濃度會隨著親脂性的增加而增加 (Tolls, 1998)。Tolls (1998) 曾經闡明，對於某些表面活性物質來說，利用LOGKOW程序估計的 $\log K_{ow}$ 值可能代表生物蓄積作用潛力；但對於其他表面活性物質，則需要利用Roberts (1989) 提出的方法對 $\log K_{ow}$ 估計值進行“修正”。這些結果說明， $\log K_{ow}$ 估計值與生物濃度之間關係運算式的品質取決於所涉及的表面活性物質的種類和具體類型。因此，在基於 $\log K_{ow}$ 值進行生物濃縮潛力分類時應謹慎。

A9.5.4 相互矛盾的資料和缺少資料

A9.5.4.1 相互矛盾的BCF 資料

在同一種物質可得到多種BCF 資料的情況下，有可能出現相互矛盾的結果。一般說來，對於一種物質，經過多次適當生物濃縮測試得到的相互矛盾的結果，應利用“證據權重方法”作出解釋。這意味著，如果一種物質通過測試確定的BCF 資料是相互矛盾的，既 ≥ 500 又 < 500 ，那麼應將品質最高、記錄最好的資料用於確定該物質的生物濃縮潛力。如果仍然存在矛盾，在可以得到，譬如不同魚類的高品質BCF 資料的情況下，一般應將有效性最高的資料作為分類基礎。在可以得到同一物種和同一生命階段的較大的資料組(4 或4 個以上數值)時，BCF 的幾何平均值可作為該物種具有代表性的BCF 值使用。

A9.5.4.2 相互矛盾的 $\log K_{ow}$ 資料

在可以得到同一物質的多種 $\log K_{ow}$ 資料的情況下，有可能出現相互矛盾的結果。如果得到的同一種物質的 $\log K_{ow}$ 值既 ≥ 4 又 < 4 ，那麼應將品質最高、記錄最好的資料用於確定該物質的生物濃縮潛力。如果仍然存在矛盾，則應優先選用有效性最高的數值。在這種情況下，可將用QSAR 估計的 $\log K_{ow}$ 值作為指導。

A9.5.4.3 專家判斷

如果沒有測試確定的BCF 或 $\log K_{ow}$ 資料，或者沒有 $\log K_{ow}$ 預測值可供使用，水生環境中的生物濃縮潛力則可通過專家判斷作出評估。這可以建立在將該物質的分子結構與可以得到測試確定的生物濃度或 $\log K_{ow}$ 值或者 K_{ow} 預測值的其他物質的分子結構進行比較的基礎上。

A9.5.5 判定方法

A9.5.5.1 現已根據上述討論和結論制定了一種判定方法，它可能有助於判定一種物質對於水生生物種是否具有生物濃縮潛力。

A9.5.5.2 最好將測試得到的高品質BCF 值用於分類目的。如果可以得到 $\log K_{ow}$ 資料的話，則不應將品質水平較低或無法確定的BCF 值用於分類目的，因為它們有可能產生錯誤或太低的BCF 值，譬如，由於接觸時間太短，致使穩定狀態條件還沒有達到。如果沒有有關魚類的BCF 資料可供使用，也可以使用其他物種（譬如蚌類）的高品質BCF 資料。

A9.5.5.3 對於有機物質來說，應優先使用測試得到的高質量 K_{ow} 值，或者在評述中作過評估並被冠以“推薦值”的資料。在沒有高質量測試資料可供使用的情況下， $\log K_{ow}$ 值的有效定量結構活性關係可用於分類目的。這種有效的QSAR 可以在不修改分類標準的情況下使用，但前提是它們僅限於那些對其適用性作出充分描述的化學物質。對於像強酸和強鹼、金屬化合物和表面活性物質，應提供用QSAR 估計的 K_{ow} 值，或者建立在單一n-辛醇和水溶解性基礎上的估計值，而不是通過分析確定的 K_{ow} 值。

A9.5.5.4 如果可以得到有關資料但資料沒有得到證實，則應採用專家判斷方法。

A9.5.5.5 因此，一種物質是否對水生生物具有生物濃縮潛力，可根據下列方法判定：

有效/高質量的測試用來確定的BCF 值 → 是：

→ $BCF \geq 500$ ：物質具有生物濃縮潛力

→ $BCF < 500$ ：物質不具有生物濃縮潛力

有效/高質量的測試用來確定的BCF 值 → 不是：

→ 有效/高質量的測試確定的 $\log K_{ow}$ 值 → 是

→ $\log K_{ow} \geq 4$ ：物質具有生物濃縮潛力

→ $\log K_{ow} < 4$ ：物質不具有生物濃縮潛力

有效/高質量的用測試確定的BCF 值 → 不是：

→ 有效/高品質的測試用來確定的 $\log K_{ow}$ 值 → 不是

→ 利用有效的QSAR 估計 $\log K_{ow}$ 值 → 是

→ $\log K_{ow} \geq 4$ ：物質具有生物濃縮潛力

→ $\log K_{ow} < 4$ ：物質不具有生物濃縮潛力

A9.6 QSAR 的使用

A9.6.1 歷史回顧

A9.6.1.1 水生毒理學中的定量結構活性關係 (QSAR) 可以追溯到 Overton 在蘇黎士 (Lipnick, 1986) 和 Meyer 在馬爾堡所做的工作 (Lipnick, 1989a)。他們的工作表明，物質在蝌蚪和小魚上生產麻醉作用的潛力，與它們在橄欖油和水中檢測到的分配係數呈正比。Overton 在他 1901 年發表的專著《麻醉研究》中假定，這種相互關係反映了生物體內某一克分子點在一個當量濃度或當量體積上出現的毒性 (Lipnick, 1991a)。此外，他還斷定，對於一種不同的生物體來說，它對應於相同的濃度或體積，而不論是從水中攝取還是通過氣體吸入。這種相互關係在麻醉界被稱為邁耶-歐弗頓規則。

A9.6.1.2 Corwin Hansch 和他的合作者在波莫納學院提出將 n-辛醇/水用於標準隔離系統，並發現這些分配係數具有一種輔助的結構性質，可根據化學結構直接作出估計。此外，他們還發現，回歸分析可用於導出 QSAR 模式，並對所做發現提供一種統計分析功能。利用這種方法，這些研究人員在 1972 年報告了 137 種形式為 $\log(1/C) = A \log K_{ow} + B$ 的 QSAR 模式。式中 K_{ow} 為 n-辛醇/水分配係數；C 為化學物質中對簡單的非電解、無反應有機化合物對整個動物、器官、細胞，甚至純酶的作用，產生一種標準生物反應的當量濃度。5 個公式，對應於 5 種簡單的一元醇對 5 種魚類的毒性作用，幾乎具有同樣的斜率和截距，它們事實上幾乎與 Könemann 在 1981 年發現的公式完全相同。而後者似乎並不知道 Hansch 等人在前期所做的研究工作。Könemann 和其他研究人員已經證明，這種簡單的無反應、非電解物質，在急性魚類毒性測試中完全受到麻醉機理的控制，產生最小的或基線毒性 (Lipnick, 1989b)。

A9.6.2 實驗的人為因素所導致的危害低估

A9.6.2.1 其他非電解物質可能會比這種 QSAR 方法預測的結果具有更大的毒性，而不是更小，除非是測試中人為因素造成的結果。這種測試中的人為因素包括從化合物得到的資料，譬如，在測試過程中容易產生揮發性的碳氫化合物以及疏水特性較強的疏水化合物。在對這種物質做急性測試時，測試時間可能還不足以在水相（玻璃缸測試溶液）中，不同濃度之間達到穩定的平衡狀態以及麻醉作用的內部疏水位點。描述這種簡單的無反應、非電解物質的 QSAR $\log K_{ow}$ 與 $\log C$ 曲線顯示一種線性關係，只要在測試時間內能夠建立這種平衡關係。除此以外，還可以觀察到一種雙線性關係，其中最具毒性的化學物質具有最大的 $\log K_{ow}$ 值。對於這種 $\log K_{ow}$ 值來說，這種平衡關係已經建立起來 (Lipnick, 1995)。

A9.6.2.2 另一個測試問題是由水溶解度臨界值造成的。如果產生效應所需的毒性濃度高於化合物的水溶解度，則觀察不到有什麼效應，即使在水的飽和狀態。對於預測毒性濃度接近水溶解度的化合物，如果測試時間沒有長到能夠達到隔離物質平衡狀態的程度，也不會表現出有什麼效應。如果預測出現毒性的濃度超過臨界微團濃度，也會從表面活性物質中觀察到類似的臨界值。雖然這種化合物在單獨進行測試的條件下可能顯示沒有毒性，但它們對混合物的毒性貢獻仍有可能存在。對於具有相同 $\log K_{ow}$ 值的化合物，水溶解度的差異反映了與熔點有關的熔化熱焓的差異。熔點是晶格穩定度的一種反映，受到分子間氫鍵結合的控制，缺少組合結構彈性和對稱性。一種化合物的晶格越是對稱，熔點越高 (Lipnick, 1990)。

A9.6.3 QSAR 模式問題

A9.6.3.1 選擇一種合適的QSAR 意味著，模式將為一種未經測試的化學品的毒性或生物利用率，產生一個可靠的預測結果。一般說來，可靠性將隨著化學結構複雜程度的增加而減小，除非已經得到一個QSAR，可對一種與候選物質結構類型的化學物質給出狹義定義。從狹義定義的化學物質品種類得到的QSAR 模式，通常用於藥品開發，只要當一種新的先驅化合物一經鑒別，並且需要在結構上稍微進行改造，以獲得最優活性（並降低毒性）。總之，目標是通過內插法而不是外推法作出估計。

A9.6.3.2 譬如，如果有96 小時的大肚魚 LC_{50} 測試資料可用於乙醇、n-丁醇、n-正己醇和n-壬醇，就可有一定的信心為n-丙醇和n-戊醇作出終點預測。相比之下，如果要為甲醇作出這樣的預測，卻沒有這樣充足的信心，因為這屬於一種外推法：甲醇的碳原子數量少於其他任何一種測試化學物質。事實上，這種同源物質的第一個成員的行為通常是最反常的，不能利用來自該系列中其他成員的資料進行預測。即使支鏈乙醇的毒性可以通過不合理的外推法得到，這將取決於所論物質的終點指標。這種外推將會變得不可靠，以至在特定終點指標上，毒性與代謝物的產生有關，而與母體化合物的特性相反。此外，如果毒性被一種特定的受體結合機轉所調節，則在化學結構只出現微小變化，可能會觀察到顯著效應。

A9.6.3.3 最終決定這種預測有效性，是用於為一個特定的生物學目的而得到QSAR 的化合物，在普通分子機制作用下起作用的程度。在許多也可能是大多數情況下，QSAR 並不能代表這樣的機轉模式，而僅僅是一種相關模式而已。一個真正有效的機轉模式必須來自一系列全部在普通分子機制作用下發揮作用的化學物質，並且適合於使用一個或多個參數的方程式。這些參數與有關機轉的一個或多個步驟之間有著直接的聯繫。這些參數或特性被普遍稱為分子描述符。許多這種被普遍使用的分子描述符，可能並沒有一種直接的物理解釋，記住這一點十分重要。對於一個相關模型來說，資料的統計適應性很有可能比給定限制條件的機轉適應性要低一些。對機轉並不一定需要完全理解，但可以掌握足夠的資訊，以樹立使用這種方法的信心。對於相關模式，預測的可靠性會隨著每一個被定義範圍的縮小而提高。譬如像丙烯酸鹽這類親電體，它的反應度可能類似，而且可以僅靠建立在 $\log K_{ow}$ 參數基礎上的模式，為一種“新的”化學物質作出毒性估計。

A9.6.3.4 含有一個帶有羥基（也就是丙烯基或炔丙基）功能，以共軛形式出現的雙鍵或三鍵的伯醇和仲醇，比為相對應的飽和化合物的QSAR 預測的毒性更大。這種行為被歸因為原親電子機轉，這種機理涉及由普遍存在的乙醇脫氫酶到相對應的 α 、 β -不飽和醛和酮產生的代謝活化作用，這些不飽和醛和酮可通過Michael 式接受體機轉，引起親電體的作用（Veith 等人，1989）。存在乙醇脫氫酶抑制劑的情況下，這些化合物的行為像其他乙醇一樣，不會表現出過大的毒性，這符合機轉假設。

A9.6.3.5 在化合物的同源系列範圍以外時，情況會很快變得更為複雜起來。譬如簡單的苯環衍生物。可認為一系列氯苯物質類似於一個同源系列。三種同質異構二氯代苯的毒性可能沒有太大的差別，因而建立在其中一種異構體測試資料基礎上的氯苯的QSAR 很可能是合適的。那麼苯環上其他功能組的替代物又會怎樣？與脂肪醇不同，在苯環上增加的羥基功能，可產生一種苯酚。由於所產生的負電荷具有共振穩定性，因此它不再是中性的，而變成一種可離子化的酸性化合物。由於這一原因，苯酚不再具有一種真正麻醉劑的作用。隨著在苯酚中增加吸電子取代基（如氯原子），會出現一種向這些化合物轉移的現象，其作用像氧化磷

酸化解偶聯劑（如6-二硝基苯酚）。醛基的轉換會通過親電子機轉，導致這種與氨基，譬如產生希夫氏鹼加合物的賴氨酸 ϵ -氨基反應的化合物毒性增加。同樣，苄型氯化物的作用如同一種可與巰基形成共價加合物的親電體。在對一種未經測試的化合物進行預測時，對這些物質和許多其他官能團的化學反應特性，以及它們相互之間的交互作用，都應該進行仔細研究，並盡可能從化學文獻中找到證據證明這一點（Lipnick, 1991b）。

A9.6.3.6 考慮到在利用QSAR 進行預測時的這些限制，最好將它作為確定測試優先順序的手段而不是作為測試替代手段使用，除非未測試化合物本身有一些機轉方面的資訊可供使用。事實上，在已知環境排放和環境接觸的情況下仍無法作出預測，這本身就足以啟動測試，或者為需要這種決定的一類化學物質制定新QSAR。QSAR 模型可以通過對這樣一組資料的統計分析得到，譬如回歸分析。最常用的分子描述符 $\log K_{ow}$ 可成為第一個償試對象。

A9.6.3.7 相比之下，要根據QSAR 模型得到一種機理，就需要作出對分子機轉有所理解或作出工作假設，並確定哪個或哪些參數可用於模擬這些反應過程。重要的是應該記住，這與有關作用模式的假設是不同的，它與生物/生理反應有關，而與分子機轉無關。

A9.6.4 在水生分類中使用QSAR

A9.6.4.1 物質的下列固有特性與涉及水生環境的分類目的相關：

- 分配係數 n-辛醇-水 $\log K_{ow}$ ；
- 生物濃縮係數 BCF；
- 可降解性—非生物和生物降解；
- 對魚、水蚤和海藻的急性水生毒性；
- 對魚和水蚤的慢性毒性。

A9.6.4.2 測試資料總是優先於QSAR 預測資料，但前提是測試資料是有效的，而且是利用QSAR 方法填補資料缺口，以便進行分類。由於現有QSAR 的可靠性和適用範圍有著很大的差別，因此要預測每一個終點指標，應使用不同的限制條件。但是，如果測試化合物屬於一種人們對QSAR 模式的預測效用有一定信心的化學種類或結構類型（見以上），那就值得將這一預測結果與測試資料進行比較，因為利用這種方法來檢驗檢測資料中某些測試人為因素（如揮發、測試時間未能達到平衡狀態，以及水溶解度取捨值的選取）並非少見。這些人為因素常常會導致物質的分類低於其實際毒性。

A9.6.4.3 在有兩個或多個QSAR 模式都可以使用，或者看起來可以使用的情況下，將這些不同模式用同一種預測方式得到的預測結果與檢測結果（如上面的討論）進行比較，是一種有益的做法。如果在這些模式之間不存在什麼差異，則預測結果有助於提高預測的有效性。當然，這也可能意味著，所有模式的開發都是建立在利用類似化合物，採用類似的統計方法得到的資料的基礎上。另一方面，如果預測結果出入很大，則需要對這些結果做進一步的測試驗證。此外，還會存另一種可能性，也就是沒有一種方法可提供有效的預測結果。第一步是對用於得到每一種預測模式的化學物質結構和特性應該進行檢驗，以確定任何模式賴以建立的化學物質基礎是否在上述兩個方面，都需要與預測的化學物質類似。如果一組資料含有這樣一種用於構建模式的類比量，則應對資料庫中用於該化合物和模式預測的檢測值進行測試驗證。如果測試結果與總體模式十分吻合，它很有可能就是可供使用的最可靠的資料。同樣，

如果沒有一種方法含有這種類比量的測試資料，則建議對該化學物質進行測試。

A9.6.4.4 美國環保署最近在它的網站上發表了一份題為“HPV 中化學品類別制定的挑戰計畫”（Development of Chemical Categories in the HPV Challenge Program）的草案，提出利用化學品類別“.....針對美國的HPV 清單上的所有化學品，自動編輯一種篩選資訊資料組（SIDS）.....（以提供）對物理化學特性、環境宿命以及化學物質對人類和環境的影響的初步評估所需的基本篩選資料”（美國環保署，1999）。該清單包括“.....為制定《毒性物質控制法》1990 年存量更新規則（IUR）而報告的大約2800 種HPV 化學品”。

A9.6.4.5 目前正提出一種方法“.....在有科學理由的情況下...應該將有密切關係的化學物質作為一個族群或者一個類別來考慮，而不是作為單個化學物質對它們進行測試。在採用這種類別方法時，不需要為每一個SIDS 終點指標，對每一種化學物質進行測試”。這種有限測試法是正確的，條件是“.....最終資料組必須允許其中一個通過內插法來評估未經測試的終點指標。所採用的內插法最好是在它們之間和類別成員之間進行插值”。建議書對定義這種類別和開發這種資料的過程作了說明。

A9.6.4.6 目前正在考慮的第二種資料敏感性較低的方法（美國環保署, 2000a）是“.....將SAR 原理用於一種與一個或多個其特性已被清晰描述過的化學物質（“類似物質”）有密切關係的單個化學物質”。第三種推薦方法包括使用“.....一種類似物和類別組合方法.....（用於）單個化學物質.....（類似於）用於ECOSAR（美國環保署, 2000b）的（化學物質）。這是一種建立在SAR 基礎上的電腦程序，可用於生成生態毒性值”。該檔還詳細說明了在美國環保署新化學藥品專案中使用SAR 方法的歷史，以及如何著手為採用這種SAR 方法而收集資料和進行資料分析。

A9.6.4.7 北歐部長理事會發表了一份題為“環境危害分類”的報告（Pederson 等人, 1995），其中載有有關資料收集和解釋的資訊，以及標題為“水溶解度和急性水生毒性的QSAR 估計”的一節內容（5.2.8）。該節還討論了物理化學特性的估計，其中包括log Kow 值。為了分類目的，建議用估計方法來預測“.....中性、有機、非反應和非游離子化合物，譬如乙醇、酮、乙醚、煙基和芳基鹵化物”的“最小急性水生毒性，這種方法也可用於芳香烴、鹵化芳香烴和脂肪族烴以及硫化物和二硫化物，”正如經濟合作發展組織以前的一份指導文件所援引的那樣（經濟合作發展組織, 1995）。北歐的這份檔還包括其中一些方法的電腦應用程式磁片。

A9.6.4.8 歐洲化學物質生態毒理中心（ECETOC）出版了一份題為“QSAR 在環境宿命和化學物質影響評估中的應用”的報告，描述了QSAR 如何用於“...檢查資料有效性或填寫資料空缺，用以確定優先次序、進行風險評估和分類”（歐洲化學物質生態毒理中心, 1998）。文章描述了QSAR 如何用於預測環境命運和水生毒性。報告指出，“所涉及的用於[終點指標的]連貫一致的資料集.....[需要]有著明確規定的化學結構範圍（“域”）.....從中可以建立一個訓練集。”該檔還討論了建立在模式基礎上的機轉的優點、統計方法在QSAR 開發中的應用以及如何對“異常值”作出評估。

A9.6.4.9 辛醇-水-分配係數（ K_{ow} ）

A9.6.4.9.1 電腦計算方法，譬如CLOGP（美國環保署, 1999）、LOGKOW（美國環保署, 2000a）和SPARC（美國環保署, 2000b），可用於根據物質的化學結構直接計算log Kow 值。CLOGP

和 LOGKOW是建立在群貢獻累加的基礎上，而SPARC 則是建立在更為基本的化學結構運算法則的基礎上。在將計算值用於可在水中水解或發生其他化學反應的化合物時，應當小心謹慎，因為在解釋這種易發生反應的化合物的水生毒性測試資料的時候，需要考慮到這些轉變。只有SPARC 可以普通方式用於無機或有機金屬化合物。在估計表面活性化合物、螯合物和混合物的 $\log K_{ow}$ 或水生毒性時，則需要採用一些特殊方法。

A9.6.4.9.2 可以計算無論是呈游離化狀態還是呈現非游離化（中性）狀態的五氯苯酚和類似化合物的 $\log K_{ow}$ 值。對某些反應分子（如三氯甲苯），也有可能計算這些數值，但也需要考慮反應能力和後續的水解。此外，對於這種可離子化的苯酚來說， pK_a 是第二個參數。在計算有機金屬化合物 $\log K_{ow}$ 值的時候，可以使用特定模式，但在使用這些模式時應謹慎，因為有些這樣的化合物在水中確實是以離子狀態存在的。

A9.6.4.9.3 對於具有極高親脂性的化合物來說，採用錐形瓶搖動法測試時，檢測值可達到大約6 至6.5，在使用緩慢攪拌法測試時， $\log K_{ow}$ 值可向上擴展到8 左右（Bruijn 等人, 1989）。即使在這些方法所能覆蓋的檢測範圍以外採用外推法計算，也可以認為是有效的。當然，應該時刻記住，如果QSAR 毒性模式是建立在具有較低 $\log K_{ow}$ 值的化學物質基礎上，預測本身也將成為一種外推法；事實上，人們知道，在生物濃度積累的情況下，與 $\log K_{ow}$ 值的關係將在高端數值區呈非線性關係。對於 $\log K_{ow}$ 值較低的化合物，群貢獻也可以使用，但它對於危害評估目的來說並不是一種非常有用的方法，因為對於這些物質，特別是在 $\log K_{ow}$ 值呈負數的情況下，即使親脂點能夠出現分區，分區也很少，而且正如Overton 報告的那樣，這些物質會通過滲透效應產生毒性（Lipnick, 1986）。

A9.6.4.10 生物濃縮係數 BCF

A9.6.4.10.1 如果可以得到通過測試方法確定的BCF 值，應將這些資料用於分類目的。在檢測生物濃縮性時，必須使用純樣，在水溶解度範圍內的測試濃度上進行檢測，而且要經歷足夠的測試時間，以使在水中和魚體組織內的濃度達到穩態平衡。此外，在延長時間的生物濃度測試中，與 $\log K_{ow}$ 水平的關係應突然減小。在環境條件下，在從食物和水中攝取兩方面的作用下，強親脂性化學物質濃度會在生物體內不斷積累，當 $\log K_{ow} \approx 6$ 時，將切換到食物攝取方式。否則， $\log K_{ow}$ 值可同QSAR 模式一起用作有機化合物生物蓄積作用潛力的預測手段。與這些QSAR 的偏差往往在一定程度上反映化學物質在魚體內所進行的代謝的差異。因此，某些化學物質，譬如鄰苯二甲酸鹽，在生物體內的積累會顯著低於預測值，原因就在於此。此外，在將BCF 預測值與使用放射性同位素標記的化合物檢測值進行比較時，應小心謹慎，因為此時所檢測到的組織內濃度，可能代表著一種由母體化合物和代謝物甚或是共價鍵連接的母體或代謝物組成的混合物。

A9.6.4.10.2 最好使用通過測試得到的 $\log K_{ow}$ 值。然而，大於5.5 的傳統的錐形瓶搖動法檢測值不太可靠，在許多情況下，最好使用某些計算值平均數或利用緩慢攪拌法（Bruijn 等人, 1989）對這些資料進行重新檢測。如果仍然有理由對檢測資料持懷疑態度，則應使用 $\log K_{ow}$ 計算值。

A9.6.4.11 可降解性—非生物和生物降解

用於水相中非生物降解的QSAR 被狹義地定義：描述和反映特定化學物質種類和機轉的

非線性相關的能量關係式 (LFER)。譬如，帶有不同芳香環取代分子的苯型氯化物 (benzylicchlorides) 水解過程的LFER。這種狹義定義的LFER 模式往往非常可靠，如果能夠得到有關取代分子的所需參數的話。大氣光降解，也就是與紫外線反應而生成活性反應成分，可以通過外推法從估計值外推而得到。如果這些非生物過程通常不能導致有機化合物的完全降解，可將它們作為明顯的起點，也可以作為比率極限。用於計算生物降解的QSAR，要麼是針對具體化合物的(經濟合作發展組織,1995)，類似 BIODEG 程序的群組貢獻模式(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)。但經過驗證的化合物分類專用模式的應用範圍非常有限，而群組貢獻模式的應用範圍要寬得多，但也僅限於含有模式基本結構的化合物。確認研究顯示，由目前可以得到的群組貢獻模式作出的生物降解預測，可用於預測“非自發生物降解”(Pedersen 等人, 1995；Langenberg 等人, 1996；美國環保署, 1993) 從而與水生危害分類“非快速降解”有關。

A9.6.4.12 魚、水蚤和海藻的急性水生毒性

無反應、非電解有機化學物質的急性水生毒性 (基線毒性) 可很有把握地根據它們的 $\log K_{ow}$ 值預測，前提是沒有檢測到有親電體、原親電體或特殊的機制官能基 (見以上) 存在。但對於這種特定的毒性來說，仍然存在一些問題，為此必須以一種預期方式選擇適當的 QSAR。由於目前還缺少簡單明瞭的相關作用模式鑒定標準，所以在選擇適用模式的時候，需要採用建立在經驗基礎上的專家判斷方法。這樣，如果使用的是一種不合適的 QSAR，將可能導致相差幾個數量級的預測錯誤，就基線毒性來說，預測的毒性會偏小，而不是偏大。

A9.6.4.13 魚和水蚤的慢性毒性

魚和水蚤的慢性毒性計算值不得用於推翻建立在急毒性測試資料基礎上的分類結果。目前只有幾種有效的模式可用於計算魚和水蚤的長期毒性。這些模式僅僅建立在 $\log K_{ow}$ 相互關係的基礎上，在用於無反應、非電解有機化合物的時候受到限制，不適用於長期接觸條件下，具有特殊作用模式的化學物質。慢性毒性的可靠預測值取決於能否正確地辨別非特異性和特異性慢性毒性機轉；否則，預測的毒性將會相差幾個數量級。需要注意的是，雖然對於許多化合物來說，在慢性毒性測試中過高的毒性*與急性測試中過高的毒性之間存在一定的關係，但並不總是這樣。

* 過高毒性, $Te = (\text{預測基線毒性}) / \text{檢測到的毒性}$ 。

A9.7 金屬和金屬化合物分類

A9.7.1 導言

A9.7.1.1 化學物質調和分類制度是一種建立在危害基礎上的制度，危害判別的基礎是物質的水生毒性以及有關降解和生物蓄積作用行為的資訊（經濟合作發展組織，1998）。由於本文件只涉及即定化學物質有關的危害，當這種物質在水柱中溶解的時候，由這種危害源引起的暴露會受到該物質在水中的溶解度和在水生環境中生活的物種生物藥利用的限制。因此，金屬和金屬化合物的危害分類辦法只限於，當有金屬和金屬化合物存在的時候（也就是溶解後呈金屬離子狀態，譬如，當以 $M-NO_3$ 存在時，呈 M^+ 狀態），由它們所引起的危害，而不考慮與沒有在水柱中溶解，但仍可能具有生物藥效的金屬和金屬化合物的暴露，譬如在食物中的金屬。本章也不考慮下列金屬化合物的非金屬離子（譬如 CN^- ），它們可能具有毒性，或者可能屬於有機物質，並可能導致生物蓄積作用或持續危害。對於這些金屬化合物，非金屬離子的危害也必須考慮。

A9.7.1.2 在加入金屬和/或金屬化合物後，存在於溶液中的金屬離子濃度在很大程度上取決於下列兩個過程：一是它的溶解程度，也就是它在水中的溶解度；二是它與介質發生反應形成水溶性物質的程度。在本指導中被稱為“轉化”的後一過程的溶解率和溶解程度，在不同的化合物和金屬自身之間可能出現很大差別，它們確定是合理的危害分類的重要因素。在可以得到轉化資料的情況下，在決定分類時，應將它們考慮進去。決定轉化率的程序詳見附件9。

A9.7.1.3 一般說來，人們認為，物質溶解比率與其固有毒性的確定無關。然而，對於金屬和許多溶解性很差的無機金屬化合物，要利用正常溶解技術使其完成溶解是如此困難，以致於溶解和轉化這兩個過程無法分辨。因此，在化合物的溶解性能非常差，採用正常溶解手段所能達到的溶解度水平都無法超過現有 $L(E)C_{50}$ 值的情況下，就必須考慮轉化率和轉化程度。轉化將受到許多因素的影響，特別是與pH值、水的硬度、溫度等有關的介質特性。除這些特性以外，其他因素，譬如測試物質的微粒大小和特定表面區域，與介質接觸時間的長短，當然還包括處於介質中的物質的負荷質量或表面積，都對確定水中溶解金屬離子濃度起一定的作用。因此，在一般情況下，只有在按照附件9 中給出的標準程序進行分類時，方可認為轉化資料是可靠的，能夠用於分類目的。

A9.7.1.4 本協定的目的是對主要變數進行標準化，以使解離離子濃度與添加物質負荷之間存在直接關係。正是這種負荷水平可產生與現有 $L(E)C_{50}$ 相等的金屬離子水平，然後用它來確定適用於分類目的的危害帶。附件9 詳細介紹了測試方法。在使用來自測試協定的資料時所應採取的策略，以及制訂策略時需要滿足的資料要求，都將在下面討論。

A9.7.1.5 在考慮能夠快速溶解和很難溶解的金屬和金屬化合物分類的時候，有許多因素需要確認。正如在3.10 章中定義的那樣，“降解”一詞指的是有機分子的分解。對於無機化合物和金屬來說，很顯然，正如已經考慮和在有機物質中使用的那樣，降解概念的意義是有限的或者根本沒有意義。更確切地說，物質可以通過正常的環境過程發生轉化，或者增加或者減小毒性物種的生物利用率。同樣， $\log K_{ow}$ 值不能被視為衡量積累潛力的一個指標。但是，一種物質或一種毒性代謝物/反應產物可能不會從環境中很快消失和/或者在生物體內積累起來的概念，同適用於有機物質一樣，也適用於金屬和金屬化合物。

A9.7.1.6 可溶形態的物種形成可能受到pH 值、水硬度和其他變數的影響，有可能產生具有

更高或更低毒性的特殊形態的金屬離子。此外，通過許多過程（譬如礦化和隔離），可使金屬離子從水柱中無法得到。有時候，這些過程變化很快，甚至快到無法在評估慢性分認為它們與降解過程類似。然而，金屬離子從水柱中分離出來進入其他環境介質，並不一定意味著它們不再具有生物利用，也不意味著這些金屬將永遠無法再得到。

A9.7.1.7 在範圍十分廣泛的環境相關條件下，通常無法得到反映一種金屬離子從水柱中的分離程度，或者一種金屬已經或能夠轉變形態，使之具有較低的毒性，或者成為無毒物質的程度方面的資訊。因此，需要作出許多假設，以便幫助進行分類。如果現有資料表明與這些假設之間存在出入，還可以修改假設。在第一種情況下，可以假設金屬離子一旦出現在水中，就不會從水柱中很快分離，因此，這些化合物不能滿足標準。在此之下的是這樣一個假設，雖然可以出現物種形成，但原物種仍將在環境相關條件下保存下來。如前所述，雖然不總是這樣，但對於支持在28天測試過程中生物利用性出現變化的任何現有證據，都應進行認真審查。金屬和無機金屬化合物的生物蓄積作用是一個複雜過程，在使用生物蓄積作用資料時應小心謹慎。生物蓄積作用標準的應用應針對具體情況加以考慮，同時還應充分考慮到所有的現有資料。

A9.7.1.8 還可作進一步的假設，這是一種謹慎做法，也就是，對於特定金屬化合物，在沒有任何溶解資料，不管是檢測資料還是計算資料的情況下，該物質具有足夠的溶解性，可在 $L(E)C_{50}$ 濃度產生毒性，因此可按其他可溶解鹽的分類辦法進行分類。同樣，情況顯然並不總是這樣，所以，生成一些合適的溶解資料不失為一種明智的做法。

A9.7.1.9 本章討論的是金屬和金屬化合物。在這份指導文件裏，金屬和金屬化合物具有如下一些特點，因此，有機金屬化合物不在本章討論範圍之內。

- a) 金屬， M^0 ，當處於基本狀態時，不能溶解於水，但可以發生轉化，形成可以得到的狀態。這意味著，一種金屬，當處於基本狀態時，可與水或一種弱含水電解質發生反應，形成可溶陰離子或陽離子產物，而且在這一過程中，金屬將被氧化，或者發生轉化，從中性或零氧化狀態轉化到較高的狀態；
- b) 在簡單的金屬化合物中，譬如氧化物或硫化物，金屬已經呈氧化狀態存在，因此，當化合物進入水介質後，很有可能出現進一步的金屬氧化現象。

然而，在氧化沒有發生改變的時候，與介質之間發生的反應，可能會形成更容易溶解的形態。不易溶解的金屬化合物而可以通過分解產生少量現有形態的金屬可被認為是一種溶解產物，加以進行計算。但是，應該承認，最終溶解濃度可能受到許多因素的影響，其中包括在轉化/溶解測試過程中沉澱下來的某些金屬化合物的溶解產物，譬如氫氧化鋁。

A9.7.2 水生毒性資料和溶解度數據在分類中的應用

A9.7.2.1 水生毒性資料的解釋

A9.7.2.1.1 根據公認協定進行的水生毒性研究，在正常情況下應被視為有效，可用於分類目的。對於在為分類目的而評估水生毒性資料點時經常遇到的一般性問題，還應參考A9.3節。

A9.7.2.1.2 金屬混合和物種形成

A9.7.2.1.2.1 溶液中特定金屬的毒性，似乎主要取決於（但並不嚴格地僅限於）已溶解游離金屬離子濃度。包括鹼度、離子強度和pH 值在內的非生物因素，可能會以下列兩種方法影響金屬毒性：（i）通過影響水中金屬的化學產物形成（並由此而影響生物利用性）（ii）通過影響生物組織對現有金屬的攝取和結合。

A9.7.2.1.2.2 在物種形成具有重要意義的情況下，有可能模擬金屬在不同形態的濃度，包括很有可能產生毒性的金屬形態。用於對暴露濃度進行定量分析、能夠區別一種測試物質的複雜程度的方法，但並不是一定可行或經濟。

A9.7.2.1.2.3 金屬在測試介質和中性環境中經過配位形成的有機和無機配位元體，可根據金屬形成模式作出估計。金屬形成模式（包括pH 值、硬度、DOC 和無機物），譬如MINTEQ（Brown 和Allison,1987）、WHAM（Tipping, 1994）和CHESS（Santore 和Driscoll, 1995），可用於計算金屬離子的不複雜和複雜部分。做為一種選擇，生物配位元體模式（BLM），可計算在生物體上造成毒性效應的金屬離子濃度。BLM 模式目前只對為數有限的一些金屬、生物體和終點指標有效（Santore 和Di Toro,1999）。用於描述介質中的金屬混合物的模式和公式，應始終明確報告，以便於將它們轉化回到自然環境中（經濟合作發展組織，2000）。

A9.7.2.2 可溶解性資料的解釋

A9.7.2.2.1 在考慮現有溶解性資料時，應評估它們是否有效和適用，能夠用於判別金屬化合物的危害。特別是，應該瞭解生成這些資料時的pH 值情況。

A9.7.2.2.2 現有資料的評估

現有資料將具有下列三種形式。對於某些經過充分研究的金屬，會有一些有關各種無機金屬化合物的溶度積和/或溶解性數據。也有可能將知道溶解性的pH 值關係。然而，對於許多金屬或金屬化合物來說，很有可能出現這樣的情況，即現有資訊只是描述性資訊，譬如溶解性較差。遺憾的是，有關這些描述性辭彙所指的溶解度範圍的（一致）指導非常之少。在這些是唯一可得到的資訊的情況下，或許有必要利用轉化/溶解協定（附件9）生成所需要的溶解度數據。

A9.7.2.2.3 評估金屬化合物可溶解性的篩選測試

在沒有溶解性資料的情況下，一種建立在24 小時高負荷率基礎上的簡單的可溶解性評估“篩選測試”法，可用於轉化/溶解協定（附件9）中所述的金屬化合物。篩選測試的作用是判別那些或者分解或者快速轉化的金屬化合物。由於很難將它們與溶解形態區分開來，因此，可根據溶解離子濃度進行分類。在可以從轉化和分解程序詳細描述的篩選測試中得到資料的情況下，應使用在測試的整個pH值範圍內所得到的最大溶解度。如果無法得到在整個pH 值範圍內的資料，則應通過適當的熱動力學物質形成模式或其他適當方法，檢查是否已實現這一最大溶解度（見A9.7.2.1.2.3 段）。這種測試只能用於金屬化合物。

A9.7.2.2.4 評估金屬和金屬化合物溶解性的完全測試

這部分研究的第一步就是，如同篩選測試一樣，對測試研究過程中的pH 值進行評估。在一般情況下，應使溶液中溶解的金屬離子濃度達到最大pH 值條件下進行完全測試。在這種情況下，可根據為篩選測試產生的同一測試指導選擇pH 值。根據來自完全測試的資料，有可能在7 天後，為測試中採用的三種負荷（也就是 1 mg/L 為“低負荷”、10 mg/L 為“中負荷”、100mg/L 為“高負荷”）中的每一種金屬離子產生在溶液中的濃度值。如果測試的目的是為了評估一種物質的長期危害，則在適合的pH 值條件下進行的低負荷測試，可以延長到28 天。

A9.7.2.3 水生毒性資料與溶解性資料的比較

是否能對一種物質進行分類的決定取決於水生毒性資料和溶解度數據之比較。如果已經超過L(E)C₅₀ 值，如果只有現成資料，不論毒性和分解資料是否在同一pH 值，則可以對物質進行分類。如果可以得到其他溶解度數據，表明溶解濃度在整個pH 值範圍內均不會超過L(E)C₅₀，則不能單獨根據其溶解狀態進行分類。這可能需要使用其他來自生態毒性測試或適用的生物藥利用影響模式的補充資料。

A9.7.3 環境轉變的評估

A9.7.3.1 從一種類型的金屬到另一種類型金屬的環境轉變，並不適用於有機化合物的降解，而且可能增加或減少毒性物質的存在和它的生物藥效率。然而，由於自然發生的地球化學過程造成的結果，金屬離子可從水柱中分隔出來。儘管有關水柱滯留時間、水-沉澱物介面上的過程（譬如沉澱和活化作用）資料相當廣泛，但目前還沒有加入到有意義的資料庫中。然而，使用在上面A9.7.1 節中討論的原則和假設，有可能將這種方法也用於分類。

A9.7.3.2 這種評估很難對具體情況給出指導，通常要針對情況逐一進行評估。然而，應考慮下列情況：

- 物種形成的改變，如果它們將成為非可利用形式；但是，出現相反方向變化的可能性也應考慮；
- 轉變為一種比正在考慮的金屬化合物的溶解度低得多的金屬化合物。建議小心謹慎，見A9.7.1.5 和A9.7.1.6 段。

A9.7.4 生物蓄積作用

A9.7.4.1 logK_{ow} 針對某些類型的有機化合物是一個良好的預測工具，譬如非極性有機物質的BCF 預測值。對無機物質，譬如有機金屬化合物就沒有太大意義。

A9.7.4.2 金屬的攝取和淨化率機轉是非常複雜多變的，目前還沒有一種模式對它進行描述。因此，應根據分類標準，每次針對具體情況，通過專家判斷，對金屬在生物體內的積累作出評估。

A9.7.4.3 BCF 具有預測生物蓄積作用的能力，在解釋金屬和無機金屬化合物的BCF 檢測值

的時候，可能會有多種複雜因素。對於某些金屬和無機金屬化合物，水濃度和某些水生生物體內的BCF 值之間呈負相關，此時在使用生物濃縮資料的時候，應小心謹慎。對於生物體所必需的金屬來說，則具有特別重要的意義。生物體所必需的金屬，能夠在需要這種金屬的生物體內進行主動調節。由於生物體的營養需求可能高於環境濃度，因此，這種主動調節可導致出現較高的BCF，與BCF 和金屬在水中的濃度呈一種負相關。在環境濃度比較低的情況下，較高的BCF 可預期為一種攝取金屬物質，以滿足營養需求的自然結果。在這種情況下，可視為一種正常現象。此外，如果生物體調節內部濃度，則BCF 檢測值將會隨著外部濃度的增加而降低。當外部濃度過高，以至於超過某一個閾值，或者抑制了調節機制時，將會對生物體產生有害影響。同樣，一種金屬可能是一種特殊生物體所必需的，但不一定也是其他生物體所必需的。因此，在某一種金屬非屬於必需的情況下，或者當一種必需的金屬其濃縮性高於營養水平時，應對生物濃縮的積累潛力和環境問題給予特別的考慮。

A9.7.5 金屬和金屬化合物分類標準的應用

A9.7.5.1 金屬和金屬化合物分類辦法介紹

A9.7.5.1.1 金屬和金屬化合物分類辦法將在下面說明，並以圖示形式匯總在圖A.8.7.1 中。在這種利用資料作出判定的分類辦法中包括幾個不同的階段。制訂分類辦法的目的不是生成新資料。在沒有有效資料可供使用的情況下，應使用所有的現有資料和專家判斷方法。

在下面幾節中，在涉及L(E)C₅₀ 的地方，指的是用於選擇金屬或金屬化合物分類群的資料點。

A9.7.5.1.2 在考慮金屬化合物的L(E)C₅₀ 資料時，重要的是確保用作分類理由的資料點應以所需分類的金屬化合物分子量的形式表示。這被稱為分子量修正。所以，大多數金屬資料，譬如，都以金屬的mg/L 形式表示，但這一值需要根據相對應的金屬化合物重量進行調整。因此：

$$L(E)C_{50} \text{ 金屬化合物} = \text{金屬的} L(E)C_{50} \times (\text{金屬化合物分子量} / \text{金屬原子量})$$

NOEC 資料也需要根據相對應的金屬化合物重量進行調整。

A9.7.5.2 金屬分類辦法

A9.7.5.2.1 當我們所關心的金屬離子的L(E)C₅₀ 值大於100 mg/L 時，不需要在分類過程中進一步考慮這種金屬。

A9.7.5.2.2 當我們所關心的金屬離子的L(E)C₅₀ 值小於或等於100 mg/L 時，必須考慮與這些離子能夠從金屬中產生的比率和程度有關的現有資料。這種資料若要有效和有用，就必須是用轉化/溶解程序（附件9）獲得的。

A9.7.5.2.3 在沒有這些資料，也就是沒有充分有效的明確資料表明將不會發生向金屬離子轉化時，應使用安全網分類（慢性IV），因為已知的這些溶解形態的可分類毒性會引起充分的關注。

A9.7.5.2.4 在可以得到來自溶解協定的資料時，應按下列規則將這些結果用於協助分類：

A9.7.5.2.4.1 7 天轉化測試

如果已溶解金屬離子濃度在7 天測試期後（也可以早一些），超過 $L(E)C_{50}$ 所示的濃度，應利用下列分類辦法取代金屬的缺省分類：

- (i) 如果已溶解金屬離子濃度在低負荷率值上大於或等於 $L(E)C_{50}$ ，應劃分為急性第I 類。也應劃分為慢性第I 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有化學物質在生物體內積累。
- (ii) 如果已溶解金屬離子濃度在中等負荷率值上大於或等於 $L(E)C_{50}$ ，應劃分為急性第II 類。也應劃分為慢性第II 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有化學物質在生物體內積累。
- (iii) 如果已溶解金屬離子濃度在高負荷率值上大於或等於 $L(E)C_{50}$ ，那麼應劃分為急性第III 類。也應劃分為慢性第III 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有化學物質在生物體內積累。

A9.7.5.2.4.2 28 天轉化測試

如果第A9.7.5.2.4.1 段描述的分類過程導致劃分為慢性第I 類，則不需要作進一步的評估，因為金屬的分類不會考慮任何進一步的資訊。

在其他所有情況下，進一步的資料可能是通過溶解/轉化測試得到的，以便顯示分類結果是可以修改的。如果對於劃分為慢性第II、第III 或第IV 類的物質，已溶解金屬離子濃度在低負荷率值上，經過總計28 天的測試期，低於或等於長期NOEC 值，則分類結果應該取消。

A9.7.5.3 金屬化合物分類辦法

A9.7.5.3.1 當所關心的金屬離子 $L(E)C_{50}$ 值大於100mg/L 時，在分類過程中則不需要進一步考慮金屬化合物。

A9.7.5.3.2 如果溶解度 $\geq L(E)C_{50}$ ，可根據可溶解離子進行分類。

A9.7.5.3.2.1 水溶解度（或者通過，譬如24 小時溶解篩選測試檢測；或者通過，譬如根據溶解產物估計）大於或等於溶解金屬離子濃度的 $L(E)C_{50}$ 值的所有金屬化合物，均可視為可迅速溶解的金屬化合物。對於那些在溶解度檢測條件可能與急毒性檢測條件有顯著差別的情況下，得到的溶解度檢測值接近急毒性值的化合物，應謹慎對待。在這種情況下，最好優先選用溶解度篩選測試結果。

A9.7.5.3.2.2 可迅速溶解的金屬化合物應根據 $L(E)C_{50}$ 進行分類（可根據需要修正分子量）：

- (i) 如果已溶解金屬離子的 $L(E)C_{50}$ 值大於或等於1 mg/L，應劃分為急性第I 類。也應劃分為慢性第I 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有生物蓄積性；

- (ii) 如果已溶解金屬離子的 $L(E)C_{50}$ 值大於1 mg/L，但小於或等於10 mg/L，則應劃分為急性第II 類。也應劃分為慢性第II 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有生物蓄積性；
- (iii) 如果已溶解金屬離子的 $L(E)C_{50}$ 值大於10 mg/L，則應劃分為急性第III 類。也應劃分為慢性第III 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有生物蓄積性。

A9.7.5.3.3 如果溶解度 $< L(E)C_{50}$ ，應按缺省種類慢性IV 分類

A9.7.5.3.3.1 在分類標準中，將不易溶解金屬化合物定義為已知溶解度（譬如通過24 小時溶解篩選測試檢測；或者通過溶解產物估計）小於溶解金屬離子的 $L(E)C_{50}$ 值的金屬化合物。在不易溶解金屬化合物，金屬溶解形態的 $L(E)C_{50}$ 值小於或等於100 mg/L 的情況下，在對該物質進行分類時，應考慮不易溶解缺失安全網分類（慢性IV）方法。

A9.7.5.3.3.2 7 天轉化測試

對於利用缺失安全網分類辦法分類的不易溶解金屬化合物，也可以使用來自為期7 天的轉化/溶解測試的更為詳細的資料。這些資料應包括在低、中和高負荷率下的轉化值。如果已溶解金屬離子濃度在7 天測試期後（也可以早一些），超過 $L(E)C_{50}$ 所示的濃度，則應利用下列分類辦法取代金屬的缺失分類：

- (i) 如果已溶解金屬離子濃度在低負荷率值上大於或等於 $L(E)C_{50}$ ，應劃分為急性第I 類。也應劃分為慢性第I 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有生物蓄積性。
- (ii) 如果已溶解金屬離子濃度在中等負荷率水平上大於或等於 $L(E)C_{50}$ ，則應劃分為急性第II 類。也應劃分為慢性第II 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有生物蓄積性。
- (iii) 如果已溶解金屬離子濃度在高負荷率水平上大於或等於 $L(E)C_{50}$ ，則應劃分為急性第III 類。也應劃分為慢性第III 類，除非有證據表明能夠從水柱中快速隔離，而且沒有生物蓄積性。

A9.7.5.3.3.3 28 天轉化測試

如果第A9.7.5.3.3.2 段描述的分類過程導致劃分為慢性第I 類，則不需要作進一步的評估，因為金屬化合物的分類不會考慮任何進一步的資訊。在所有其他情況下，進一步的資料可能是通過為期28 天的溶解/轉化測試得到的，以便顯示分類結果是可以修改的。如果對於劃分為慢性第II、第III 或第IV 類的不易溶解金屬化合物，已溶解金屬離子濃度在低負荷率值上，經過總計28 天的測試期，低於或等於長期NOEC 值，則分類結果應該取消。

A9.7.5.4 粒徑和表面積

A9.7.5.4.1 粒徑，或者表面積，是攸關重要的參數，因為測試物質粒徑或表面積出現的任何變化，都會在給定的時間視窗內使溶解的金屬離子水平出現顯著變化。因此，為做好轉化測試，都要將粒徑或表面積固定，以使比較性分類能夠唯一地建立在負荷值上。在一般情況下，在生成分類資料時，要使用市場上所能得到的最小的顆粒，以確定轉化程度。有時也會出現這樣的情況，認為所生成的有關某一特定金屬粉末的資料，不適用於大塊物質的分類。譬如，在可以表明某一種測試粉末是一種結構上不同的物質（譬如具有不同的結晶結構）而且/或者是通過特殊工藝生產的，不能從大塊金屬中得到的情況下，大塊物質可根據更具代表性的粒徑或表面積進行分類，只要能夠得到這樣的資料的話。粉末可根據生成的粉末資料單獨分類。然而，在正常情況下，不能指望對同一種金屬給出兩個以上的分類建議。

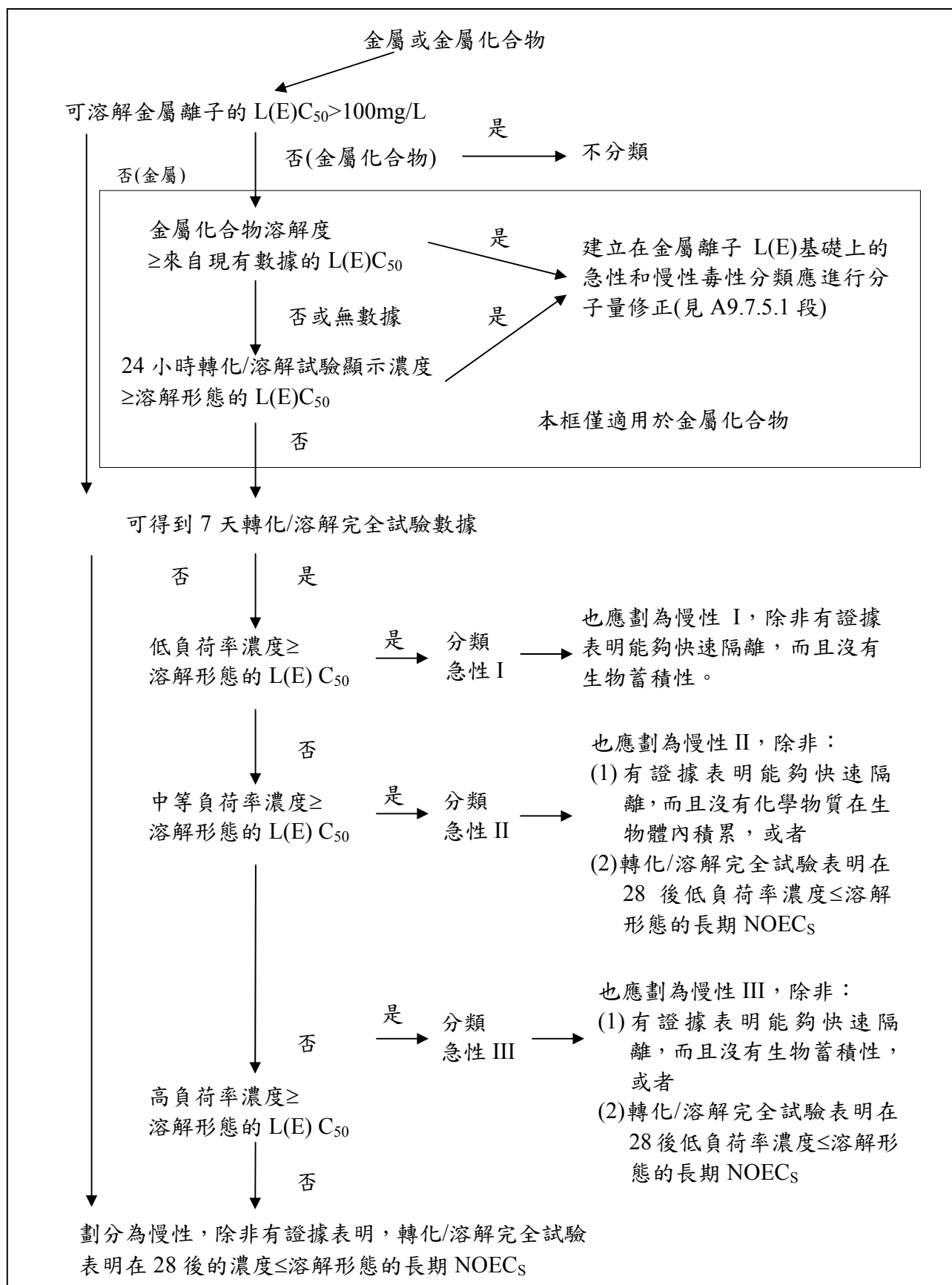
A9.7.5.4.2 對於粒徑小於1mm 的其它直徑的金屬，可針對具體情況單獨進行測試。通過不同的工藝技術生產的金屬粉末，或者粉末比塊狀物質呈現較高溶解率（或反應率），從而導致作出更嚴格的分類，就屬於這種情況。

A9.7.5.4.3 下表給出取決於被評估物質的測試物質粒徑：

類型	粒徑	備註
金屬化合物	工業上出售的最小代表性粒徑	從不大於1 mm
金屬— 粉末	工業上出售的最小代表性粒徑	如果產生不同的結晶/形態特性，則需要考慮其他來源
金屬— 塊狀物	1 mm	如果有充分的理由，可以改變缺失值。

A9.7.5.4.4 對於某些類型的金屬，有可能利用轉化/溶解程序（經濟合作發展組織2001），得到特定時間間隔後的金屬離子濃度之間的相關。測試中特定的時間間隔將隨著類型測試表面負荷的變化而變化。在這種情況下，則有可能利用Skeaff 等人（2000）推薦的臨界表面積方法，對帶有不同粒子的金屬，估計其已溶解金屬離子濃度值（見附錄六第5 部分“金屬和金屬化合物”的參考文獻）。也就是說，從這種相關關係和與適當毒性資料的聯繫中，或許可以確定向介質中釋放L(E)C₅₀ 的物質的臨界表面積，然後再將臨界表面積轉化為用於危害判別的低、中、高質量負荷。當這種方法不能正常用於分類目的時，它也可以為標示和下游判定提供有用資訊。

圖A9.7.1：金屬和金屬化合物分類辦法



附錄 9

附件一

有機物質可降解性的確定

1. 有機物質可透過非生物或生物作用，或兩種作用皆同時存在的方式進行降解。目前有許多的標準方法或測試可用以確認降解特性，下面將介紹其中一些方法的基本原則。本文並未針對降解性測試方法做全面的綜述，僅介紹應用於水生危害分類之相關方法。

2. 非生物降解性

2.1 非生物降解包括化學轉化和光化學轉化。通常，非生物轉化將產生其他有機化合物，但不會導致完全礦化作用（Schwarzenbach 等人, 1993）。化學轉化被定義為一種在沒有光和生物體的居間作用下發生的轉化，而光化學轉化則要求有光的參與。

2.2 在水生環境中發生的化學轉化過程包括水解、親核取代、排除、氧化和還原反應（Schwarzenbach 等人, 1993）。其中，水解常被視為一種最重要的轉化形式，現有國際上的測試準則一般也只考慮這種化學轉化作用。一般測試常以標準化條件下之轉化率來確認化學物質的非生物降解性。

2.3 水解

2.3.1 水解是帶有一種化學物質的親核體（nucleophile） H_2O 或 OH^- 的反應。在這種化學物質中，一個（殘餘）的化學基與一個 OH 基交換。許多化合物，特別是酸的衍生物，容易受到水解的影響。水解既可以是非生物性的，也可以是生物性的，但對於確認試驗來說，則只考慮非生物性水解作用。在不同的 pH 值，中性、酸性或鹼性水解催化條件下，水解發生的機制各不相同，且水解率的高低也會隨著 pH 值而變化。

2.3.2 一般現行有兩種指引可用於評估非生物性水解。其中在經濟合作發展組織測試準則 111 中，水解是隨著 pH 值而變化（對應於 OPPTS 835.2110）；在 OPPTS 835.2130 中，水解是隨著 pH 值和溫度而變化。在經濟合作發展組織測試準則 111 中，是藉由在純緩衝水不同 pH 值條件下的總體水解率來確認其水解作用。測試可分為兩部分，初級測試是針對水解率未知的化學物質，進階測試則是針對已知其水解過程具有不穩定性，或初級測試結果顯示其可快速水解的化學物質。在初級測試中，以一般環境中常見的 pH 值範圍（pH 值為 4, 7 和 9）， 50°C 溫度下，經 5 天的測試時間，檢測緩衝液中的化學物質濃度。如果化學物質濃度已經減少到 10% 以下，可認定該物質的水解是穩定的，否則可考慮進行進階測試。在進階測試中，檢測化學物質濃度隨時間之變化，並分別在 pH 值 4, 7 和 9 之環境下，來確認其總體水解率。水解率應在不同溫度下分別進行確認，以便利用環境相對溫度經內插法或外推法推算其水解率。OPPTS 835.2130 在測試設計上幾乎與經濟合作發展組織測試準則 111 一樣，其主要不同之處是在於資料的處理方式。

2.3.3 應注意的是，除水解外，可透過在控制的測試條件且無光照環境下所發生的非生物

轉化作用，來確認其水解速率常數。現已發現，在自然條件和純水條件下的水解率檢測結果，可獲得良好的一致性（OPPTS 835.2110）。

2.4 光解作用

2.4.1 目前還沒有涉及水生環境光降解作用的經濟合作發展組織準則，但卻有一份水生環境直接光解作用的指引（經濟合作發展組織, 1997）。該指引的目的是為一份計畫制訂的準則奠定基礎。根據該指引中提出的定義，水中化合物的光轉化可呈現一次或二次光轉化形式。其中，一次光轉化（光解）又可進一步細分為直接和間接光解。直接光轉化（光解）是化學物質吸收光線，並由該物質本身發生轉化的情況。間接轉化是其他受激物質將能量、電子或H原子轉變為化學物質，從而導致轉化（啟動光解）的發生。二次光轉化則是，化學物質與反應壽命短的物種之間發生化學反應，譬如羥自由基、過氧自由基（peroxy radicals），或在有光照的情況下透過與受激物質，如受激腐植酸或棕黃酸或硝酸鹽反應而產生的單態氧。

2.4.2 目前涉及水中化學物質光轉化的現行準則只有兩個，那就是OPPTS 835.2210“日照作用下的水中直接光解率”和OPPTS 835.5270“間接光解鑑別測試”。OPPTS 835.2210 測試採用分層法。在第一層中，根據檢測得到的莫耳吸光係數計算出最大直接光解率常數（最小半衰期）。在第二層，可分為兩個階段。第一階段，化學物質在日光照射作用下被光解，可得到速率常數的近似值。在第二階段，利用一個能夠定量測定實際照射到化學物質上的光照強度的曝光表，確認一個更為準確的速率常數。根據檢測參數，可計算得到在不同溫度下和不同緯度上的實際直接光降解率。這種降解率只能用於水體的最上層，譬如在水面下50cm內，而且只能用於飽和空氣的純水。很顯然，這在實際環境中是不存在的。然而，利用合併自然水衰減和其他相關參數的電腦程式，可將這些結果推估到其他環境條件。

2.4.3 OPPTS 835.5270鑑別測試是化學物質在含有腐植質的水中所進行的間接光解作用。測試原則是在暴露於日光下的自然水中，檢測得到的光轉化率將包括直接和間接光轉化，然而只有直接光轉化率才會在純水中發生。因此，根據附冊8指引中所下的定義，在純水中的直接光降解率和在自然水中的總體光降解率之差，即為間接光解和二次光降解之和。在實際測試過程中，從市場上得到的腐植質，可用於配製含有腐植質的人造水，以模擬自然水。應注意的是，經測試所確認的間接光轉化率，只對決定這種轉化率的季節和緯度有效，而不能將這些結果應用於其他季節和緯度上。

3. 生物可降解性

3.1 下面僅對各種測試方法做一個概述。如需更詳細的資訊，可參考的經濟合作發展組織整體性之生物降解測試詳細回顧文獻（OECD, 1995）。

3.2 迅速生物降解

3.2.1 現已有多個組織制訂了用於確定有機物質迅速生物降解標準測試方法，其中包括經濟合作發展組織（經濟合作發展組織測試準則 301A-F）、歐盟（C.4 測試）、OPPTS（835.3110）和 ISO（9408, 9439, 10707）。

3.2.2 迅速生物降解測試是一種要求嚴格的測試，可為出現生物降解和環境適應提供有限的機會。測試應確保滿足下列基本測試條件：

- 高濃度的測試物質 (2-100 mg/L)；
- 測試物質是唯一的碳源及能量來源；
- 低濃度到中濃度的接種體濃度 (10^4 - 10^8 細胞數/mL)；
- 不允許接種體預適應的存在；
- 28 天測試期 (MITI I 方法 (經濟合作發展組織測試準則 301C) 除外) 降解發生測試視窗為10 天；
- 測試溫度 $< 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；並且
- 以70% (DOC 去除) 或 60% (O_2 需氧量或 CO_2 產生量) 表示達到完全的礦化作為通過測試的基準 (假設測試物質的殘餘碳參與構成不斷增長的生物量)。

3.2.3 假設在迅速生物降解測試中得到陽性結果，代表物質將在環境中快速降解 (經濟合作發展組織測試準則)。

3.2.4 傳統的BOD₅ 測試 (譬如EU C.5 測試) 也可以顯示物質是否能夠迅速降解。在這種測試中，於為期5天的時間內，與理論需氧量 (ThOD) 進行比較，得其相對生化需氧量。若無法得到理論需氧量，則應與化學需氧量 (COD) 比較。測試應在5 天內完成，因此，定義於危害分類確認標準50%的通過水平，是更低於迅速生物降解測試的水平。

3.2.5 海水中生物降解能力鑑別測試 (經濟合作發展組織測試準則 306)，可被視為與迅速生物降解測試具同等效力的海水試驗。達到經濟合作發展組織測試準則 306 規定的測試基準 (也就是 $>70\%$ DOC 去除量或 $>60\%$ 理論需氧量) 的物質，可被視為迅速生物降解物質，因為海水降解測試的降解潛力通常低於淡水測試結果。

3.3 潛在生物降解

3.3.1 潛在生物降解試驗之設計，是用於評估物質是否具有任何生物降解潛力。經濟合作發展組織測試準則302A-C測試、歐盟C.9 和C.12 測試，以及ASTM E 1625-94 測試，都屬於這類測試。

3.3.2 有助於評估生物降解潛力的基本測試條件包括：

- 測試物質應與接種體有充分的接觸，以便在測試期內產生適應性；
- 高濃度的微生物；
- 達到一個有利的物質/生物量比例。

3.3.3 潛在測試得到陽性結果，代表測試物質將不會永久地存在於環境中，但不能假設會發生快速和完全地生物降解。研究結果顯示超過70%礦化，表示有可能發生最終生物降解，大於20%的降解表示有可能發生潛在初級生物降解，而小於20%的結果則表示物質將長久存在於環境中。因此，陰性結果代表可假設其有非生物降解能力 (持續存在) (經濟合作發展組織測試準則)。

3.3.4 在許多潛在生物降解測試中，只能檢測到測試物質的消失。這樣的結果僅能代表初級生物降解而非完全礦化，因此，可能會有一些持續降解產物產生。初級生物降解並不能代表物質在環境中的最終降解作用。

3.3.5 經濟合作發展組織潛在生物降解測試，在測試方法上有很大的差異。特別是MITI II 測試（經濟合作發展組織測試準則 302C），它採用的接種體濃度只比相對應的MITI I迅速生物降解測試（經濟合作發展組織測試準則301C）濃度高3倍。Zahn-Wellens 測試（經濟合作發展組織測試準則 302B）也是相對較“弱”的潛在測試。然而，雖然與迅速生物降解測試相比，這些測試中的降解潛力並沒有比前者強很多，但結果不能外推到迅速生物降解測試和水生環境條件。

3.4 水生模擬試驗

3.4.1 水生模擬試驗的目的，是模擬在特定水生環境下的生物降解過程。標準水生環境降解模擬試驗的實例，包括採用地表水或地表水/沉澱懸浮液的ISO/DS14592 錐形瓶搖動批次試驗法（Nyholm 和 Toräng, 1999）、利用錐形瓶搖動衰減法進行的生物降解ASTM E 1279—89（95）試驗和類似的OPPTS 835.3170試驗。這些測試方法通常被稱為河流消逝試驗。

3.4.2 確保水生環境條件模擬的測試特點：

- 將天然水（和沉積物）樣品作為接種體；並且
- 採用低濃度測試物質（1-100 µg/L），確保一級降解動力。

3.4.3 建議使用放射性同位素追蹤測試化合物，因為這有助於最終降解的確定。若使用化學分析方法偵測測試物質的消失，則只能確認其初級降解性。從降解動力學角度觀察，可以得到降解率常數。由於測試物質濃度低，因此可假設將以一級降解動力為其優勢。

3.4.4 也可以利用模擬沉積物環境條件來進行天然沉積物測試。此外，利用經消毒的樣本，可用來進行測試條件下非生物降解的確認。

3.5 STP模擬測試

目前也有一些測試方法可用於模擬污水處理廠（STP）內的降解過程，譬如經濟合作發展組織測試準則 303A“連接裝置”（Coupled Unit）測試、ISO 11733 活性污泥模擬測試和歐盟C.10 測試。最近，還有人提出一種新的採用低濃度有機污染物的模擬測試方法（Nyholm 等人, 1996）。

3.6 厭氧性降解

3.6.1 厭氧性生物降解測試方法可用於確定測試物質在厭氧條件下進行生物降解的固有潛力。ISO11734：1995（E）測試、ASTM E 1196-92 測試和 OPPTS 835.3400 測試都屬於此類測試。

3.6.2 可在最長8周的測試中確定厭氧性微生物降解潛力。測試應符合下列條件：

- 在缺氧（最初為純氮大氣中）密封罐內進行測試；
- 使用經過消化的污泥；
- 測試溫度保持在35 °C；並且
- 確定頂部空間壓力（由CO₂ 和 CH₄ 組成）。

3.6.3 利用生成氣體確認的方式作為最終降解之確認。然而，也可以利用檢測殘餘原物質的方式來確認初級降解。

3.7 土壤和沉澱物中的降解

3.7.1 由於許多化學物質最終進入土壤或底泥沉積層內，因此，評估在這樣的環境中的降解作用具有重要的意義。在標準方法中，或許有必要提及關於土壤中潛在生物降解的經濟合作發展組織測試準則 304A 測試。該測試相當於OPPTS 835.3300 測試。

3.7.2 為確保充分掌握土壤中的可降解性，測試特點為：

- 採用天然土壤樣本，無需額外接種；
- 採用放射性同位素追蹤測試物質；而且
- 可確定放射性同位素標記的CO₂ 變化過程。

3.7.3 沉積物中的生物降解確認標準方法是OPPTS 835.3180“沉積物/水測試生態系統生物降解測試”。整個測試生態系統包涵了沉積物和水，這些沉積物和水可由測試場所收集而來，測試物質亦在此被引入系統中。母體化合物（例如初級生物降解產物）的消失，甚至代謝物的生成或最終生物降解產物的測量，都包含於該試驗中。

3.7.4 目前經濟合作發展組織正分別起草兩個新的關於在土壤（經濟合作發展組織測試準則, 1999a）和水生沉積環境（經濟合作發展組織測試準則 1999b）中需氧和厭氧轉化作用的經濟合作發展組織準則。測試的目的為在接近實際環境條件包括接近測試物質的實際濃度下，確認測試物質的轉化率、形成實質和比率，以及轉化產物的減少量。確認方法則可根據用於測試物質轉化的分析方法，來確認其是否達完全礦化或初級降解的發生。

3.8 生物降解估計方法

3.8.1 最近幾年提出了對化學物質環境特性進行評估的可能性，其中也包括用於預測有機物質的生物降解潛力的一些方法（例如錫拉庫紮研究公司開發的生物降解概率計算程式BIOWIN）。經濟合作發展組織（1993）和 Langenberg 等人（1996），曾就各種方法發表過評論。他們認為族群貢獻法（group contribution methods）看起來是最成功的方法，而其中，生物降解概率計算程式（BIOWIN）的適用性似乎最廣泛。其針對存在著混合族群環境微生物情形下的緩慢或快速生物降解進行定量估計。美國環保局/歐洲聯盟委員會（Q）SARs聯合評估專案（經濟合作發展組織，1994）和Pedersen 等人（1995），曾對該程式的適用性進行評估。以下將對後者做一個簡要介紹。

3.8.2 從來自MITI（1992）的資料中，挑選了304種經測試方法確認其生物降解作用的物質，其中排除缺乏確實的降解資料和已經用於程式開發的那些物質。這些物質的生物降解性是利用估算程式中的非線性估算法（最可靠的估算法）估計而得的，然後，將估算結果與檢測資料進行比較。根據預測，屬於可“快速”降解的162種物質中，實際上只有41種（25%）物質在MITI I測試中可顯示出迅速降解特性。根據預測，屬於可“緩慢”降解的142 種物質中，其中有138 種（97%）物質可得到證實，這些物質在MITI I 測試中顯示不具有迅速降解特性。由此結果斷定，只有在無法得到測試降解資料和該程式預測結果為“緩慢”降解物質時，才可將該程式應用於分類上。在這種情況下，應將該物質視為不能快速降解物質。

3.8.3 美國環保局/歐洲聯盟委員會（Q）SARs 聯合評估專案利用歐盟通報的有關新物質的測試和QSAR資料，也得到同樣的結論。評估是根據對115種新物質的QSAR 預測分析進行

的。這115種新物質也在迅速生物降解試驗中進行過測試。在這一分析中，只有9種物質可以迅速發生生物降解。美國環保局/歐洲聯盟委員會聯合專案的最後報告（經濟合作發展組織，1994）中，充分描述所採用的QSAR方法，但其中大多數預測很可能是利用後來被納入生物降解概率計算程序中的那些方法得出的。

3.8.4 此外，歐盟TGD（歐洲聯盟委員會, 1996）建議應保守使用利用生物降解概率計算程式估計出的生物降解特性，也就是說，當程式預測結果為快速生物降解時，不能考慮這一結果，而當程式預測結果為緩慢生物降解時，方可予以考慮（歐洲聯盟委員會, 1996）。

3.8.5 因此，以保守方式使用生物降解概述計算程式的預測結果，可以滿足許多缺乏測試降解資料物質中的某些物質，其生物降解評估的需要。

附錄 9

附件二

影響水生環境可降解性的因素

1. 導言

1.1 經濟合作發展組織分類標準僅考慮對水生環境的危害。然而，危害分類的主要依據是利用由實驗室控制的條件下進行而得之測試結果資料，而實驗中所給予的測試環境條件僅有少部分與實際環境條件相似。因此，在使用實驗測試資料來預測水環境危害時，應考慮需作何種適當地解釋。

1.2 經濟合作發展組織生物降解測試詳細回顧文獻（經濟合作發展組織, 1995），曾考慮提及如何對有機物質生物降解測試結果進行解釋。

1.3 環境條件與標準測試系統中的條件通常有很大差異，因此，在利用外推法將實驗測試得到的降解資料用於自然環境時會遇到一些困難。在這些條件差異中，下列因素會對降解作用產生顯著影響：

- 有機體相關因子（可利用性微生物的存在）；
- 基質相關因子（基質濃度和其他基質的存在）；以及
- 環境相關因子（物理-化學條件、營養物質的存在、物質的生物利用率）。

下面將對這些問題作進一步的討論。

2. 可利用微生物的存在

2.1 水生環境中的生物降解取決於水生環境中存在足以發揮作用的微生物量。自然微生物群落包括變化差異極大的各種微生物，當某種“新”物質出現，且達到足夠高的濃度時，生物體可能逐漸適應，進而使新物質發生降解。通常，微生物族群的適應是由特定降解者的增長所引發的。這種降解者本身就具有物質降解能力。然而，還有一些其他過程也會參與降解，譬如酶誘導、遺傳物質交換和耐毒性的形成等。

2.2 適應發生在“遲滯”階段，此階段是由開始接觸直到顯著降解出現的期間。顯而易見的，遲滯階段的長短將取決於最初可利用之降解者的存在。這同時取決於微生物族群的歷史，也就是這些族群是否在以前曾經與這些物質有過接觸。這意味著，如果一種異型生物物質已經使用多年並已四處釋放，那可利用之降解者出現的可能性就會增加。特別是在接受這些釋放物的環境中，譬如在生物污染處理廠內，更是如此。與使用來自未受污染水中的接種體的測試相比，使用來自被污染水中的接種體的測試更容易得到一致的降解結果（經濟合作發展組織, 1995；Nyholm 和 Ingerslev, 1997）。

2.3 有許多因素決定水生環境中的自適應潛力，是否與實驗室控制條件下所表現的自適應潛力具有可比較性。除此之外，適應能力還取決於：

- 在生物量中可利用之降解者的初始量（片段和數量）；
- 附著表面的存在；
- 基質的濃度和活性，以及
- 其他基質的存在。

2.4 遲滯期長短取決於可利用之降解者的初始量，對於毒性物質來說，還包括這些物種的生存和再生。在迅速生物降解標準測試中，接種體的採樣來自汙水處理廠。由於污染物負荷能力通常高於自然環境條件，因此降解者的片段和數量，都有可能高於受到較少污染的水生自然環境。由於自然水生環境之降解者初始量較低，故其遲滯期可能較實驗室控制下的遲滯期來得長，然而，延長多久卻不易估計。

2.5 經過一段長時間，可利用之降解者的初始濃度並沒有那麼重要，因為當適當的基質達到足夠的濃度時，它們將會不斷生長。然而，若是要觀察在短時間內發生的降解，則仍應考慮可利用之降解微生物的初始濃度（Scow, 1982）。

2.6 棉絮、聚集體和附著微生物的存在可能會增強其適應性，譬如帶有微生物團的微生物生態位（microbial niches）的發展。當考慮在汙水處理廠、沉澱層和土壤等各種不同的環境條件下的適應能力時，這一點具有重要的意義。然而，微生物在迅速生物降解測試和水生環境中存在的總量相當（在迅速生物降解測試中為 10^4 - 10^8 細胞數/mL；在地表水中為 10^3 - 10^6 細胞數/mL 或更多（Scow, 1982）。因此，這一因素可能不那麼重要。

2.7 在討論向環境條件外推時，可能需要區別貧營養和富營養環境。在貧營養條件下生長的微生物能夠在較低的濃度下（mg C/L 係數）使有機基質礦化，而且它們通常對基質有較大的親合力，但與富營養環境下生長的微生物相比，它們的生長率低，生命週期長（經濟合作發展組織, 1995）。此外，貧營養微生物不僅不能在濃度高於1 mg/L 的條件下降解化學物質，甚至在高濃度條件會受到抑制。與此相反，富營養微生物則要求在礦化開始之前達到較高的基質濃度，而且與貧營養微生物相比，它們可以在較高的濃度下生存。因此，較低的水生環境降解閾值極限，將取決於微生物族群是貧營養還是富營養族群。然而，目前還不清楚貧營養和富營養微生物是否為兩個不同的物種，或是僅以貧營養和富營養方式生長的同一種微生物（經濟合作發展組織, 1995）。由於大多數污染物質是經由污水排放直接進入水生環境中的，因此，這些受體大多是富營養的。

2.8 從上面的討論中，或許可得出以下結論：在接觸較多的環境條件下，譬如，在不斷接受各種物質的環境中（與低產量化學物質相比，在高產量化學物質條件下出現的次數更多），可利用之降解者存在的機率最大。這些環境常常是富營養環境，因此，降解過程可能要求在開始降解之前達到相對較高的物質濃度。另一方面，在純淨水中，可利用之物質可能很少，特別是能夠使化學物質降解，偶而以低產量化學物質排放的物質。

3. 基質相關因子

3.1 測試物質濃度

3.1.1 在多數實驗室測試中是使用較高的測試物質濃度（2-100 mg/L），而水生環境中預期的實際濃度則在較低的 $\mu\text{g/L}$ 級範圍內。一般說來，當基質濃度低於大約 $10 \mu\text{g/L}$ 的閾值水平

時，就無法維持微生物的生長。在更低的濃度下，甚至無法滿足生存所需的能量（經濟合作發展組織, 1995）。這種較低的閾值水平所產生的影響，可能是由於刺激物的缺乏而導致無法啟動酶的反應（Scow, 1982）。這通常意味著，在水生環境中，許多物質的濃度處在這樣一個水平，即它們只能勉強成為降解微生物的初始基質。

3.1.2 此外，降解動力取決於與莫諾方程式中所描述的飽和常數（ K_s ）與物質濃度（ S_0 ）的比較。飽和常數是指發生在特定生長速率，即50%最大生長速率下的物質濃度。在遠低於飽和常數（相當於在大多數水生環境中的正常飽和度值）的物質濃度下，降解過程可以一級或對數級動力學來描述（經濟合作發展組織, 1995）。當一種低密度微生物（低於 10^3-10^5 細胞數/mL）占主導地位時（例如在貧營養水中），群種的增長率將不斷降低，這是一種典型的對數動力現象。在較高的微生物密度條件下（例如在富營養水中），如果基質濃度還沒有高到能夠支持細胞生長的程度，則適用於一級動力學，也就是說，降解率與物質濃度成正比。實際上，由於資料的不確定性，因此不太可能區分兩種不同類型的降解動力學（經濟合作發展組織, 1995）。

3.1.3 總而言之，物質濃度過低（例如低於 $10 \mu\text{g/L}$ ）有可能無法在水生環境中降解為初級基質。當濃度較高時，迅速降解物質有可能在降解率略與物質濃度成正比的環境條件下，降解為初級基質。有關物質降解為次級基質的問題，將在下面討論。

3.2 其他基質的存在

3.2.1 在標準測試中，對微生物而言，測試物質是唯一存在的基質，然而在自然環境中，卻尚有許多其他基質的存在。在天然水中，已溶解有機碳的濃度範圍常常在 $1-10 \text{ mg C/L}$ 之間，也就是說，較污染物濃度高出1000倍以上。然而，大部分的有機碳會隨著距離海岸越遠，長久性生存的物質數量相對愈多。

3.2.2 天然水中的細菌主要靠海藻分泌物來滋養。這些分泌物的礦化速度非常之快（可在幾分鐘內完成）。這顯示，在天然微生物群落中存在一種很強的降解能力。因此，在微生物爭奪天然水中的各種基質時，各種微生物之間存在著一種選擇壓力，這種壓力導致能夠依靠快速礦化基質滋養的物種的生長，而特異性愈高的物種的生長則受到抑制。能夠降解各種兩棲生物的細菌隔離實驗顯示，這些生物體的生長速度常常比較緩慢，在與能夠快速生長的細菌競爭時，能夠靠複合碳源生存。當環境中存在具競爭性的微生物時，如果特定的異型生物基質不斷釋放，並在環境中達到足以支持生長的濃度，那麼這些微生物的數量可能會增加。然而，水生環境中的絕大多數有機污染物存在的濃度相當低，只能被降解為不支持生長的二次基質。

3.2.3 另一方面，存在濃度較高的快速礦化物質時，可能透過共同代謝作用來促進異型生物分子的初始轉化。然後，這些共同代謝產物可能會促進降解和礦化。因此，其他基質的存在，可能增加物質被降解的可能性。

3.2.4 現在或許可得出這樣的結論，即天然水中存在的各種不同基質，以及它們之中可以快速礦化的基質，一方面可能造成一種抑制能夠降解微污染物的微生物生長的選擇壓力，另一方面，它又可能先藉由共同代謝作用，然後再透過進一步的礦化作用，最後達到促進降解率的提高。在天然條件下，這些過程的相對重要性可能有所不同，這一方面取決於環境條件，

另一方面取決於物質。目前尚不能建立一般法則。

4. 與環境有關的因素

4.1 環境變數控制著微生物的總體活力而不是具體的降解過程。然而，在不同的生態系統和微生物物種之間，這種影響的顯著性也有差異（Scow, 1982）。

4.2 氧化還原潛勢

影響降解過程中最重要的環境因素之一，可能就是氧的存在。氧含量和相關的氧化還原潛勢，決定水生環境中不同類型微生物的存在情形；其中好氧微生物存在於水相、上層沉積層和汙水處理廠設備中，厭氧微生物存在於沉積層和汙水處理廠設備中。由於在大部分水相中，含氧條件佔優勢，因此，生物降解性預測應建立在好氧測試結果的基礎上。然而，在某些水生環境中，氧含量在一年的某些時段中可能降低至很低，例如由於優養化作用以及伴隨產生的有機物質衰減。在這些時段中，好氧微生物將無法降解化學物質，但若化學物質具有在厭氧條件下降解的特性時，則降解在厭氧過程可能會出現。

4.3 溫度

另一個重要的參數是溫度。大多數實驗室測試是在20-25°C溫度條件下進行的（標準好氧性迅速生物降解測試），但厭氧測試可以在35°C溫度下進行，因為這樣可以更有效地模擬污染反應器內的環境條件。在0°C以下到100°C的溫度範圍，均可在環境中觀察到微生物活力。然而，最佳溫度應在10 至30 的範圍內，在這一溫度範圍內，溫度每增加10 ，降解率會增加一倍（de Henau, 1993）。超過這一最佳溫度範圍，雖然某些特殊微生物（嗜熱和嗜冷細菌）仍可存活，但降解成分的活力將急劇降低。當根據實驗室條件外推時，應該考慮到，某些水生環境在一年中的很長時間內都被冰雪覆蓋，在寒冷的冬季，降解可能很少甚至根本沒有。

4.4 pH 值

在自然環境中，所有pH 值範圍內都有活性微生物存在。然而，對於細菌族群，略呈鹼性的條件更有利於提高它們的活度，最佳pH值範圍為6-8。當pH值低於5時，細菌體內的代謝活力將顯著降低。對於真菌族群，略呈酸性的條件更有利於提高它們的活度，最佳pH值範圍為5-6（Scow, 1982）。因此，最有利於使微生物保持活力的最佳pH值範圍應為5至8。這正是水生環境中最常見的pH值範圍。

4.5 營養物質的存在

微生物生長的需求，常取決於無機營養物質（氮和磷）的存在，雖然在水生環境中，微生物的生長常受限於營養條件，但這些無機營養物質卻很少成為環境中微生物活力的限制因素。然而，營養物質的存在會影響初級產物的生長，進而影響可迅速礦化的分泌物可利用性。

附錄 9

附件三

利用測試和估計方法確認有機物質之BCF 和 K_{ow} 值的基本原理

1 生物濃縮係數 (BCF)

1.1 定義

生物濃縮係數定義為生物體中化學物質濃度和周圍介質中的濃度之比。周圍介質在這裏指的是處於穩定狀態的水。通過測試方法，可在穩定狀態條件下直接測量BCF，也可以利用一級吸收率和消耗率常數，經由計算而得。這種方法對平衡條件沒有要求。

1.2 通過測試確定BCF 的適當方法

1.2.1 經由測試方法確定魚體內生物濃度的各種測試準則現已成形並被採用；其中應用最廣泛的是經濟合作發展組織測試準則 (OECD 305, 1996) 和美國測試材料學會標準指南 (ASTM E 1022-94)。OECD 305 (1996) 經過修訂，替代了原版本OECD 305A-E (1981)。雖然最好使用流動測試法 (OECD 305, 1996)，但只要能滿足死亡率有效性標準和測試條件之情形下，亦可使用半靜態法 (ASTM E 1022-94)。對於親脂性物質 ($\log K_{ow} > 3$)，最好使用流動測試法。

1.2.2 OECD 305的原則和ASTM準則具有相似之處，但所描述的測試條件不同，特別是在下列方面：

- 測試用水供給方法 (靜態、半靜態或流體)；
- 進行淨化研究的要求；
- 計算BCF 的數學方法；
- 採樣頻率：水中檢測次數和魚樣本採集數量；
- 檢測魚的脂質含量要求；
- 攝取階段的最短時間。

1.2.3 一般而言，測試包括兩個階段：暴露 (攝取) 和後暴露 (淨化) 階段。在攝取階段，將同一品種的魚分成幾組，分別暴露測試物質的至少兩種不同的濃度。測試期間必需達到28天，除非在這段時間內已達到穩定狀態。達到穩定狀態條件所需要的時間，可根據 K_{ow} - k_2 相關性 (譬如， $\log k_2 = 1.47 - 0.41 \log K_{ow}$ (Spacie 和 Hamelink, 1982)，或 $\log k_2 = 1.69 - 0.53 \log K_{ow}$ (Gobas 等人, 1989)) 來決定。當生物濃縮屬一級動力學時，若要達到95%穩定狀態的預期時間 (d)，可利用下式計算： $-\ln(1-0.95)/k_2$ 。在淨化階段，將魚轉移到一種沒有測試物質的介質中。在這兩個測試階段中，均應追蹤魚體內的測試物質濃度。BCF表示為魚的總濕重函數。對於許多有機物質來說，在生物濃度潛力和親脂性之間存在著顯著關係，而且在測試魚體內的脂質含量和這類物質的生物濃度檢測值之間也存在相對應的關係。因此，要減少具有高親脂性物質測試結果中的這種可變性影響因素，生物濃度運算式中既應有整體重量，也應有脂質含量 (OECD 305 (1996)，ECETOC (1995))。上述準則是建立在這樣的假設

基礎上，即生物濃縮近似於一級過程（1-區域模式），因此 $BCF = k_1/k_2$ （ k_1 ：一級攝取率； k_2 ：一級淨化率，以對數線性關係描述）。如果淨化過程遵循二級動力學原理，也就是可以確定兩個不同的淨化率，則近似值 k_1/k_2 有可能顯著低估BCF。如果已經表示出一個二階動力項，且魚體與水體系統間已經達到“穩定狀態”，則BCF 可根據下列關係式估計： C_{Fish}/C_{Water} 。

1.2.4 除了詳細的樣品製備和存放說明外，還必須有一種已知精確度、準確度和敏感度的適用分析方法，供測試溶液和生物材料中的物質進行定量分析。如果缺少這些東西，就不能得到真正確定的BCF。使用放射性同位素追蹤測試物質，將有助於對水和魚的樣本進行分析。然而，除非結合一種特定的分析方法，整個放射性同位素檢測將潛在地反映包括母體、可能的代謝物和可能的代謝物的存在；這些東西已經以有機分子的形式融入魚的組織。要確定真實的BCF，有必要將母體與可能存在的代謝物明確區分開。如果在測試中採用放射性同位素標記物質，將有可能對總體放射性標記（即母體和代謝物）進行分析，或者樣本可以被淨化，以便於對母體化合物進行單獨分析。

1.2.5 在 $\log K_{ow}$ 值大於6的範圍內，BCF 檢測值將會隨著 $\log K_{ow}$ 值的增大而減小。這一非線性現象的概念性解釋，主要指的是生物轉化或者隔膜滲透動力的減小，或者是大分子生物脂質溶解性的降低。其他應當考慮的因素則是測試中的人為影響，譬如沒有達到平衡狀態、由於在水相中吸附到有機物質中而造成的生物利用率的降低和分析有誤等。此外，在評估 $\log K_{ow}$ 值大於6的BCF測試資料時，應該謹慎，因為這些資料的不確定性遠大於 $\log K_{ow}$ 值小於6的物質。

2. $\log K_{ow}$

2.1 定義和總體考慮

2.1.1 正辛醇-水的分配係數對數值（ $\log K_{ow}$ ）是一種物質的親脂性衡量指標。同樣， $\log K_{ow}$ 也是評估環境流布的一個關鍵參數。許多分配過程都是由 $\log K_{ow}$ 驅動的，譬如吸附於土壤和沉積物中以及生物體內的生物濃縮作用。

2.1.2 生物濃縮和 $\log K_{ow}$ 關係的基礎，取決於魚體中脂相和水相間的分配過程，以及正辛醇和水之間的分配過程的類推。之所以使用 K_{ow} ，是因為辛醇在魚組織內具有形成一種飽和脂類替代物的能力。在魚肝油和triolin中的物質的 $\log K_{ow}$ 和溶解度之間，存在著極為重要的關係（Niimi, 1991）。triolin是在淡水魚脂質中發現存量最豐富的一種三酸甘油酯（Henderson 和 Tocher, 1987）。

2.1.3 正辛醇-水分配係數（ K_{ow} ）的確認，是歐盟對於通報新的和具有優先權的現有物質時所要求提交的基本資料。由於都利用測試確定 K_{ow} 值（譬如確定完全水溶性和完全親脂性物質）之可行性不高，所以也可以使用利用QSAR得到的 K_{ow} 值。然而，在將QSAR 用於無法通過測試方法確定的物質（譬如界面活性物質）時，應格外謹慎。

2.2 確認 K_{ow} 值之適當方法

2.2.1 一些標準測試準則，譬如OECD 107（1995）、OECD 117（1983）、EEC A.8.（1992）、EPA-OTS（1982）、EPA-FIFRA（1982）、ASTM（1993）中提出兩種用來確認 K_{ow} 值之測試

方法：錐形瓶搖動法和HPLC法。使用經由錐形瓶搖動法或HPLC法確認之資料是較被推薦使用的。對於可緩慢溶解於水的高親脂性物質，經由緩慢攪拌法得到的資料則更為可靠（De-408-Bruijn 等人, 1989；Tolls 和Sijm, 1993；OECD 準則草案, 1998）。緩慢攪拌法目前正在進行成環測試，以便制定經濟合作發展組織最終準則。

2.2.2 錐形瓶搖動法

錐形瓶搖動法的基本原理是檢測物質在兩種不同的相，即水相和正辛醇相中的溶解度。為確定分配係數，在系統中所有相互作用的各種成分之間，必須先達到平衡狀態，然後再確定物質在兩相中的溶解濃度。當 $\log K_{ow}$ 在-2 至4 的範圍內時，適用於錐形瓶搖動法（OECD 107, 1995）。錐形瓶搖動法只能適用於可溶解在水和正辛醇中的基本純物質，而且應在20 - 25°C 範圍內的恒定溫度（ $\pm 1^\circ\text{C}$ ）條件下進行。

2.2.3 HPLC 方法

HPLC法是由填充有市售的二氧化矽結合的長碳氫鏈（譬如 C_8 、 C_{18} ）固態物質的分析管柱來進行測試。注入到這種分析管柱中的化學物質，將在動相和碳氫物靜相之間藉由不同程度的分離作用，以不同的速率沿分析管柱移動。HPLC法不適用於強酸和強鹼、金屬化合物、界面活性物質或與動相起反應的物質。只有當 $\log K_{ow}$ 值在0至6範圍內時，才可使用HPLC法（OECD 117, 1989）。與錐形瓶搖動法相比，HPLC法對測試化合物中的雜質敏感度較低。

2.2.4 緩慢攪拌方法

採用緩慢攪拌法，可以精確和準確地對 $\log K_{ow}$ 值在8.2 以下的化合物進行 K_{ow} 值的確認（De Bruijn等人, 1989）。對於高親脂性的化合物，錐形瓶搖動法更容易受到人為因素影響（微乳的形成）；當採用HPLC法時，需要利用 K_{ow} 檢量範圍外推法來獲得 K_{ow} 的估計值。

為確定分配係數，水、正辛醇和測試化合物應先達到相互平衡，然後再確定兩相中測試化合物的濃度。在錐形瓶搖動測試過程中，因微乳的形成而造成測試的困難，可在緩慢攪拌測試中得到一定程度的克服，因為水、辛醇和測試化合物在輕輕攪拌的反應器內可達到平衡。攪拌可使辛醇和水之間產生些許的分層流動條件，這樣可增加各相間的交換作用而避免微乳的形成。

2.2.5 一般管柱方法

另一種普遍採用的 $\log K_{ow}$ 值檢測方法是一般管柱法。在這種方法中，利用一般管柱將辛醇相和水相間的測試物質分離。管柱內填充固態載體，並充滿在辛醇中保持固定濃度的測試物質。以水作為沖提液將測試物質由管柱中之飽和辛醇沖提出來。從管柱中沖提出來的水溶液代表從辛醇相分離到水相中的測試物質的平衡濃度。與錐形瓶搖動法相比，一般管柱法的主要優點是可以完全避免微乳的形成。因此，這種方法對於檢測 K_{ow} 值大於4.5 的物質（Doucette 和Andren, 1987 和1988；Shiu 等人, 1988）和 $\log K_{ow}$ 值小於4.5 的物質，特別適用。一般管柱法的缺點是需要複雜的設備。《有毒物質控制法案測試準則》（美國環保局, 1985）對一般管柱法有詳細說明。

2.3 利用QSAR 預測 $\log K_{ow}$ （另見 A9.6“QSAR 的使用”）

2.3.1 用於估計 K_{ow} 值的QSAR 方法目前已有但仍繼續在開發中。常用的幾種方法都建立在碎片常數的基礎上。碎片法的基礎是建立在純粹的加成既定分子中個體分子碎片的親脂性。歐洲聯盟委員會的技術準則文件（第三部分）建議，若沒有現成的測試資料，有三種市售的電腦程式可供風險評估之使用（歐洲聯盟委員會, 1996）。

2.3.2 CLOGP（日光化學資訊系統，1995）最初是為藥品設計而開發的。該模式是建立在Hansch 和Leo 演算法的基礎上（Hansch 和Leo, 1979）。該程式可用於計算含有C、H、N、O、Hal、P 和/或 S等有機化合物的 $\log K_{ow}$ 值；但帶有形式電荷的鹽類及其化合物（硝基化合物和氧化氮除外）的 $\log K_{ow}$ 值則無法計算。可解離物質，譬如苯酚、胺和羧酸的 $\log K_{ow}$ 值計算結果會因其pH 值的影響而呈中性或未解離形式。一般說來，計算程式可在 $\log K_{ow}$ 值為0至5的範圍內作出明確的估計（歐洲聯盟委員會，1996，第III 部分）。然而，Niemelä（1993）進行過一項有效性研究，他將測試確定的 $\log K_{ow}$ 值與估計值進行比較。結果顯示，該程式可準確地估計絕大部分 $\log K_{ow}$ 值之範圍在0以下至9以上（ $n=501$, $r^2=0.967$ ）的有機物質的 $\log K_{ow}$ 值。在對7000多種物質進行的一項類似的有效性研究中，使用CLOGP 程式（PC 版3.32，美國環保局版 1.2）計算得到的結果是， $r^2=0.89$, $s.d.=0.58$, $n=7221$ 。這些有效性研究顯示，當沒有測試資料可供使用時，CLOGP程式可用於估計 $\log K_{ow}$ 值，並能得到可靠的結果。有報告指出CLOGP程式針對螯合化合物和界面活性物質的估計可靠性有限（經濟合作發展組織, 1993）。然而，對於陰離子界面活性物質（LAS），則建議使用修正辦法來校正CLOGP的估計值（Roberts, 1989）。

2.3.3 LOGKOW或KOWWIN（錫拉庫紫研究公司）是使用結構碎片和校正因子。該程式可用於計算含有C、H、N、O、Hal、Si、P、Se、Li、Na、K 和/或 Hg等有機化合物的 $\log K_{ow}$ 值；也可計算帶有形式電荷（如硝基化合物和氧化氮）化合物的 $\log K_{ow}$ 值。可解離物質，譬如苯酚、胺和羧酸的 $\log K_{ow}$ 值計算結果會因其pH 值的影響而呈中性或未解離形式。某些界面活性物質（譬如，脂肪醇乙氧基化物（Tolls, 1998）、染料和解離物質，也可用LOGKOW程式作預測（Pedersen 等人，1995）。一般說來，該程式可對 $\log K_{ow}$ 值在0至9範圍內的物質均可作出明確的估計（TemaNord 1995：581）。與CLOGP程式相同，LOGKOW程式亦被證實是有效的（表2），且因其計算結果可靠、容易購買和使用方便等特點而建議可用於分類上。

2.3.4 AUTOLOGP（Devillers 等人, 1995）是從異種資料集合得出的，其中包括從有關文獻中收集的800 種有機化學物質。這套程式可用於計算含有C、H、N、O、Hal、P 和S等有機化學物質的 $\log K_{ow}$ 值，但不能用於計算鹽類的 $\log K_{ow}$ 值。此外，某些帶有形式電荷的化合物的 $\log K_{ow}$ 值也無法適用，但硝基化合物除外。可電離化學物質，譬如苯酚、胺和羧酸的 $\log K_{ow}$ 值可以計算，但需要考慮其pH值的影響。這套程式目前正在進行改進，以擴大AUTOLOGP 程序的適用範圍。根據目前可得的資訊，AUTOLOGP尤其針對高親脂性物質（ $\log K_{ow} > 5$ ）可作出精確計算值（歐洲聯盟委員會，1996）。

2.3.5 SPARC

SPARC 模式目前仍由美國環保署設於喬治亞州阿森斯的環境研究測試室開發中，尚未公開發行。SPARC 與其說是一種建立在從觀測資料得到的知識基礎上的確定性模式，不如說是建立在化學熱力學原理基礎上的數學模式。因此，SPARC不同於使用QSAR模式（即KOWWIN、LOGP），因為它不需要將 $\log K_{ow}$ 檢測值用於所有模式建立的化學物質。若有需要時，美國環保署會使用化學文摘社登記號碼來執行該模式。只有當化合物的 $\log K_{ow}$ 值大於

5時，SPARC才可提供優於KOWWIN和CLOGP的估計結果。此外，只有SPARC才可以一種通用方式，用於無機化合物和有機金屬化合物。

本附錄表1 針對以碎片方法為估算基礎的各種 $\log K_{ow}$ 值估計方法作一綜述。此外，還有其他一些可用於估計 $\log K_{ow}$ 值的方法，但它們只能針對具體情況使用，並需要適當的科學理由才能成立。

表1 使用碎片法估計log K_{ow} 值之QSAR 方法綜述 (Howard 和Meylan (1997))

方法名稱	方法原理	統計資料
CLOGP Hansch 和Leo (1979), CLOGP Daylight (1995)	碎片+ 校正因子	總結果 n = 8942, $r^2 = 0,917$, sd = 0,482 確認結果：n= 501, $r^2 = 0,967$ 確認結果：n= 7221, $r^2 = 0,89$, sd = 0,58
LOGKOW (KOWWIN) Meylan 和 Howard (1995), SRC	140 個碎片 260 個校正因子	檢定結果：n= 2430, $r^2 = 0,981$, sd = 0,219, me = 0,161 確認結果：n= 8855, $r^2 = 0,95$, sd = 0,427, me = 0,327
AUTOLOGP Devillers 等人(1995)	來自Rekker 和 Manhold (1992)的66 個原子和群組貢獻 (group contributions)	檢定結果：n= 800, $r^2 = 0,96$, sd = 0,387
SPARC 正在由EPA, Athens, Georgia 開發	基本化學結構算法	對化學物質集合無需使用log Kow 檢測值
Rekker 和De Kort (1979)	碎片+ 校正因子	檢定結果：n= 1054, $r^2 = 0,99$ 確認結果：n= 20, $r^2 = 0,917$, sd = 0,53, me = 0,40
Niemi 等人(1992)	MCI	檢定結果：n= 2039, $r^2 = 0,77$ 確認結果：n= 2039, $r^2 = 0,49$
Klopman 等人(1994)	98 碎片+ 校正因子	檢定結果：n= 1663, $r^2 = 0,928$, sd = 0,3817
Suzuki 和Kudo (1990)	424 個碎片	總結果：n= 1686, me = 0,35 確認結果：n= 221, me = 0,49
Ghose 等人(1988) ATOMLOGP	110 個碎片	檢定結果：n= 830, $r^2 = 0,93$, sd = 0,47 確認結果：n= 125, $r^2 = 0,87$, sd = 0,52
Bodor 和Huang (1992)	分子軌函數 (Molecule orbital)	檢定結果：n= 302, $r^2 = 0,96$, sd = 0,31, me = 0,24 確認結果：n= 128, sd = 0,38
Broto 等人(1984) ProLogP	110 個碎片	檢定結果：n= 1868, me= ca. 0,4

附錄 9

附件四

有機物質生物濃縮作用之外部及內部影響因素

1. 影響攝取的因素

親脂性化合物攝取率主要隨生物體的大小而變化 (Sijm 和Linde, 1995)。外部因素，譬如分子大小、影響生物利用率的因素和不同的環境因素，也對攝取率有著重要的影響。

1.1 生物體大小

由於體型較大的魚具有較低的鰓表面與體重比，因此可預期地，與小魚相比，大魚的攝取率常數 (k_1) 較低 (Sijm 和Linde, 1995; Opperhuizen 和Sijm, 1990)。此外，魚體內物質的吸收可能還受到以下因素的控制：過鰓水流、通過位於鰓上皮的水擴散層的擴散、通過鰓上皮的滲入、過鰓血流率和血液組成成分的結合能力 (ECETOC, 1995)。

1.2 分子大小

離子化物質不能立即穿透薄膜；因為水的pH 值可能會影響物質的攝取。當物質具有很大的表面積 (Opperhuizen 等人, 1985; Anliker 等人, 1988) 或很長的鏈長度時 ($> 4.3 \text{ nm}$) (Opperhuizen, 1986)，將會降低膜的通透性。因此，若因分子大小而降低膜的通透性，將導致攝取率的全部喪失。分子量對生物濃縮的影響，來自於降低攝取率常數的物質擴散係數 (Gobas 等人, 1986)。

1.3 可利用性

物質在生物體內形成生物濃縮作用之前，需先存在於水中，並能夠穿透魚鰓進入魚體內。在自然和測試條件下影響這種可利用性的因素，將改變實際生物濃縮作用，而非生物濃縮係數估計值。由於在生物濃縮測試研究中給魚餵食的動作，可能出現相對較高濃度的溶解物和微粒有機物質，從而減少可真正通過魚鰓直接攝入的化學物質成分。McCarthy 和Jimenez (1985) 已經闡明，親脂性物質被吸附到已溶解腐植質上，將降低物質的可利用性；物質的親脂性越強，可利用性降低幅度越大 (Schrapp 和Opperhuizen, 1990)。此外，吸附到已溶解有機物質或微粒有機物質或這些有機物質的表面，通常會使BCF (和其他物理-化學特性) 檢測過程中出現干擾現象，造成BCF確認或適當性描述的困難。由於魚體內的生物濃縮作用與水中化學物質的存在成分有直接相關，因此，在攝取期間內，高親脂性物質必需將測試化學物質濃度控制在相對較窄的範圍內。

可迅速生物降解的物質只能在測試水中作短時間的存留，因此這些物質的生物濃縮作用將不重要。同樣地，揮發性和水解作用也將降低並縮短可供生物濃縮累積的濃度及時間。

1.4 環境因素

影響生物體生理機能的環境參數也會影響物質的攝取。舉例來說，當水中的氧含量降低

時，魚不得不使更多的水通過它們的鰓部，以滿足呼吸要求 (McKim 和 Goeden, 1982)。然而，可能會存在 Opperhuizen 和 Schrap (1987) 所提的物種從屬性。此外，溫度可能影響親脂性物質的攝入率常數 (Sijm 等人 1993)，但其他研究則未發現一致性的影響結果 (Black 等人 1991)。

2. 排除率影響因素

影響排除率的主要因素是生物體的大小、脂含量、生物體的生物轉化過程和測試化合物的親脂性。

2.1 生物體大小

就攝取率來說，排除率取決於生物體的大小。由於與較大的生物體相比，較小的生物體（譬如幼魚）具有更高的鰓表面積與體重比，因此，魚在生長初期達到穩定狀態和“毒性劑量平衡”所需的時間，會較青少年/成年階段更短 (Petersen 和 Kristensen, 1998)。由於達到穩定狀態所需的時間取決於 k_2 ，因此，用於生物濃縮測試研究的魚體型大小，對於達到穩定狀態條件所需時間具有重要的意義。

2.2 脂含量

基於分配關係，在穩定狀態條件下，高脂肪含量生物體較低脂肪含量生物體更容易累積形成較高的親脂性物質濃度。因此，“胖”魚，譬如鰻鱺常較“瘦”魚，譬如鱸魚具有較高的身體負荷。此外，脂質“池”可能具有貯存高親脂性物質的作用。饑餓或其他生理變化可能會改變脂質平衡，釋放這種物質，並導致影響的延緩。

2.3 代謝作用

2.3.1 一般而言，代謝作用或生物轉化可使母體化合物轉化為更容易在水中溶解的代謝物。因此，親水性更強的代謝物，可能較母體化合物更易於從體內分泌出來。當化合物的化學結構改變後，化合物的許多特性將隨之出現變化。因此，在組織分佈、生物蓄積作用、持續性，以及排泄途徑和排泄率等方面，代謝物將在生物體內會有不同的表現。生物轉化也可以改變一種化合物的毒性。這種毒性變化可能對生物體有利，也可能對生物體有害。生物轉化可防止生物體內的濃度變得太高，以致出現毒性反應（解毒作用）。然而，可能形成一種比母體化合物（生物活性）更具毒性的代謝物，譬如已知的苯吡啉 (benzo(a)pyrene)。

2.3.2 陸棲生物擁有發達的生物轉化系統，一般會優於生活在水生環境中的生物體的轉化系統。形成這種差異的原因可能是，兩棲生物的生物轉化作用在魚鰓呼吸生物體中的意義不大，因為它們較易將化合物排泄到水中 (Van Den Berg 等人 1995)。關於水生生物體內的生物轉化能力，兩棲生物的生物轉化能力一般按下列物種類別增長：軟體動物 < 甲殼類動物 < 魚類 (Wofford 等人, 1981)。

3. 物質的親脂性

許多研究者已提出，在魚體內， k_2 （淨化常數）和 $\log K_{ow}$ （或 BCF）之間存在著負向線性

關係（譬如，Spacie 和 Hamelink, 1982；Gobas 等人, 1989；Petersen 和 Kristensen, 1998），而 k_1 （攝取率常數）則多少取決於物質的親脂性（Connell, 1990）。因此，其所導致的 BCF 一般也會隨著物質親脂性的增加而增加，例如， $\log \text{BCF}$ 和 $\log K_{ow}$ 會與不進行大規模代謝的物質間產生一種相關性。

附錄 9

附件五

測試準則

1. 上述準則大多可在發佈它們的組織出版的檔彙編找到。這些準則的主要參考資料有：
 - 歐洲聯盟委員會準則：歐洲聯盟委員會（1996）。歐洲聯盟境內危害物質分類、包裝和標示制度，第2部分——測試方法；歐洲聯盟委員會。1997。ISBN92-828-0076-8。（主頁：<http://ecb.ei.jrc.it/testing-methods/>）；
 - 國際標準化組織準則：可向各國家標準化組織或國際標準化組織索取（主頁：<http://iso.ch/>）；
 - 經濟合作發展組織化學品測試準則。經合組織，巴黎，1993年，定期更新（主頁：<http://www.oecd.org/ehs/test/testlist.htm>）；
 - 預防、農藥和有毒物質辦公室準則：美國環保署主頁：<http://www.epa.gov/opptsfrs/home/guidelin.htm> 和（[http://www.epa.gov/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines / Drafts](http://www.epa.gov/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines_Drafts)）；
 - 美國測試材料學會：美國測試材料學會的主頁：<http://www.astm.org>。可通過“標準”進一步搜尋。

2. 水生毒性測試指南*

經濟合作發展組織測試準則 201（1984） 海藻，生長抑制測試
經濟合作發展組織測試準則 202（1984） 水蚤sp 急性固定測試和繁殖測試
經濟合作發展組織測試準則 203（1992） 魚，急毒性測試
經濟合作發展組織測試準則 204（1984） 魚，延長毒性測試：14—天研究
經濟合作發展組織測試準則 210（1992） 魚，早期生命階段毒性測試
經濟合作發展組織測試準則 211（1998） 水蚤magna 繁殖測試
經濟合作發展組織測試準則 212（1998） 魚，短期胚胎和Sac-Fry 階段毒性測試
經濟合作發展組織測試準則 215（2000） 魚，幼年生長測試
經濟合作發展組織測試準則 221（準備階段） *Lemna* sp 生長抑制測試
EC C.1：魚的急毒性（1992）
EC C.2：水蚤急毒性（1992）
EC C.3：海藻抑制測試（1992）
EC C.14：魚的幼年生長測試（2001）
EC C.15：魚，短期胚胎和Sac-Fry 階段毒性測試（2001）
EC C.20：水蚤Magna 繁殖測試（2001）

* 以下清單截至2000年9月。清單需要隨著新準則的採用或準則草案的擬訂定期更新。

OPPTS 關於環境影響的測試準則（850 個系列的公開草案）：

- 850.1000 進行水生環境測試室研究時需要特別考慮的事項（Adobe PDF 檔）
- 850.1000 進行水生環境測試室研究時需要特別考慮的事項（文本到HTML 檔）
- 850.1010 水生無脊椎動物急毒性，測試，淡水水蚤（Adobe PDF 文件）
- 850.1010 水生無脊椎動物急毒性，測試，淡水水蚤（文本到HTML 檔）
- 850.1020 鈎蝦急毒性測試（Adobe PDF 文件）
- 850.1020 鈎蝦急毒性測試（文本到HTML 檔）
- 850.1035 糖蝦急毒性測試（Adobe PDF 文件）
- 850.1035 糖蝦急毒性測試（文本到HTML 檔）
- 850.1045 Penaeid 急毒性測試（Adobe PDF 文件）
- 850.1045 Penaeid 急毒性測試（文本到HTML 檔）
- 850.1075 魚的急毒性測試，淡水和海水（Adobe PDF 文件）
- 850.1075 魚的急毒性測試，淡水和海水（文本到HTML 檔）
- 850.1300 Daphnid 慢性毒性測試（Adobe PDF 文件）
- 850.1300 Daphnid 慢性毒性測試（文本到HTML 檔）
- 850.1350 糖蝦慢性毒性測試（Adobe PDF 文件）
- 850.1350 糖蝦慢性毒性測試（文本到HTML 檔）
- 850.1400 魚的早期生命階段毒性測試（Adobe PDF 檔）
- 850.1400 魚的早期生命階段毒性測試（文本到HTML 檔）
- 850.1500 魚的生活週期毒性（Adobe PDF 文件）
- 850.1500 魚的生活週期毒性（文本到HTML 檔）
- 850.1730 魚的BCF（Adobe PDF 文件）
- 850.1730 魚的BCF（文本到HTML 檔）
- 850.4400 利用Lemna spp 的水生植物毒性測試，第一 和第二 層（Adobe PDF 檔）
- 850.4400 利用Lemna spp 的水生植物毒性測試，第一和第二層（文本到HTML 檔）
- 850.4450 水生植物現場測試研究，第三層（Adobe PDF 檔）
- 850.4450 水生植物現場測試研究，第三層（文本到HTML 檔）
- 850.5400 海藻毒性，第一和第二層（Adobe PDF 檔）
- 850.5400 海藻毒性，第一和第二層（文本到HTML 檔）

3. 生物和非生物降解測試指南*

ASTM E 1196-92

ASTM E 1279-89（95）用錐形瓶搖動消沉法進行的生物降解測試標準測試方法

ASTM E 1625-94 確定有機化學物質在半連續活性污泥中生物降解的標準測試方法（SCAS）

EC C.4. A 至F：確定迅速生物降解。第67/548/EEC 號指令， 附件五（1992）

EC C.5. 降解：生物化學需氧量。 第67/548/EEC 號指令， 附件五（1992）

EC C.7. 降解：非生物降解：隨pH 值而變化的水解過程。第67/548/EEC 號指令， 附件五（1992）

EC C.9. 生物降解：Zahn-Wellens 測試。第67/548/EEC 號指令， 附件五（1988）

EC C.10. 生物降解：活性污泥模擬測試。第67/548/EEC 號指令， 附件五（1988）

EC C.11. 生物降解：活性污泥呼吸抑制測試。第67/548/EEC 號指令， 附件五（1988）

EC C.12. 生物降解：經過改進的SCAS 測試。第67/548/EEC 號指令， 附件五（1988）

* 以下清單截至2000 年9 月。清單需要隨著新準則的採用或準則草案的擬訂定期更新。

ISO 9408 (1991)，水質—有機化合物在水介質中“最終”生物降解評估—封閉呼吸計中需氧量確定法

ISO 9439 (1990)，水質—有機化合物在水介質中“最終”生物降解評估—釋放二氧化碳分析法

ISO 9509 (1996)，水質—化學物質和廢水抑制活性污泥微生物硝化作用評估方法

ISO 9887 (1992)，水質—有機化合物在水介質中的需氧性生物降解評估—半連續活性污泥法 (SCAS)

ISO 9888 (1991)，水質—有機化合物在水介質中的需氧性生物降解評估—靜態測試法 (Zahn-Wellens 法)

ISO 10707 (1994)，水質—有機化合物在水介質中“最終”生物降解評估—生物化學需氧量分析法 (封閉瓶測試)

ISO 11348 (1997)，水質—確定水樣本對 *Vibrio fischeri* 光發射的抑制作用 (發光細菌測試)

ISO 11733 (1994)，水質—有機化合物在水介質中的消失和生物降解評估—活性污泥模擬測試

ISO 11734 (1995)，水質—有機化合物在菌致分解污泥中 “最終”厭氧性生物降解評估—沼氣生產量檢測法

ISO/DIS 14592 (1999)，水質—水中低濃度有機化合物需氧性生物降解評估，第1 部分：採用地表水或地表水/沉澱懸浮物的錐形瓶搖動批量測試法 (22.11.1999)

OECD測試準則 111 (1981)，隨pH 值而變化的水解過程，OECD化學品測試準則

OECD測試準則 209 (1984)，活性污泥，呼吸抑制測試，OECD化學品測試準則

OECD測試準則 301 (1992)，迅速生物降解，OECD化學品測試準則

OECD測試準則 302A (1981)，固有生物降解：經過改進的SCAS 測試。OECD化學品測試準則

OECD測試準則 302B (1992)，Zahn-Wellens/EMPA 測試。OECD化學品測試準則

OECD測試準則 302C (1981)，固有生物降解：經過改進的MITI 測試 (二)。OECD化學品測試準則

OECD測試準則 303A (1981)，模擬測試——需氧汙水處理：聯結裝置測試。OECD化學品測試準則，有1999 年草案增補版

OECD測試準則 304A (1981)，土壤中的固有生物降解。OECD化學品測試準則

OECD測試準則 306 (1992)，海水中的生物降解。OECD化學品測試準則

OECD (1998b)，水生沉澱物系統中的有氧和厭氧轉化，新準則建議草案，1999 年12 月

OECD (1999)，土壤中的有氧和厭氧轉化，新準則建議草案最後文本，1999 年10 月

OECD (2000)，模擬測試——地表水中的有氧轉化，新準則建議草案，2000 年5 月

OPPTS 835.2110 隨pH 值而變化的水解過程

OPPTS 835.2130 隨pH 值和溫度而變化的水解過程

OPPTS 835.2210 日光作用下的水中直接光解率

OPPTS 835.3110 迅速生物降解

OPPTS 835.3170 錐形瓶搖動消沉測試

OPPTS 835.3180 沉澱物/水實驗生態系統生物降解測試

OPPTS 835.3200 Zahn-Wellens/EMPA 測試

OPPTS 835.3210 經過改進的SCAS 測試

OPPTS 835.3300 土壤生物降解

OPPTS 835.3400 有機化學物質的厭氧性生物降解

OPPTS 835.5270 間接光解篩選測試：含有已溶解腐殖質的水中日光光解作用

4. 生物蓄積作用測試準則 *

ASTM, 1993. 美國測試材料學會水生毒性和危害評估標準，由美國測試材料學會委員會主持，E-47 生物學影響和環境命運。美國測試和材料協會。地址：1916 Race Street, Philadelphia, PA 19103. ASTM PCN:03-547093-16., ISBN 0-8032-1778-7

ASTM E 1022-94. 1997，魚和海產雙殼貝類軟體動物生物濃度測試標準指南，美國測試材料學會

EC, 1992，EC A.8. 分配係數，附件五（第67/548/EEC 號指令），物理-化學特性、毒性和生態毒性確定方法

EC, 1998. EC.C.13 生物濃度：魚的流通測試

EPA-OTS, 1982. 環境影響測試準則和支援檔。化學品命運測試準則和支援檔。美國環境保護局，農藥和有毒物質辦公室，地址：Washington, D.C. 20960. EPA 560/6-82-002（1982年8月 and 增補版），另見《行政法規彙編》。環境保護第790部分至結尾，修訂版截至1993年7月1日。有關這些測試準則的最新增補的線上資訊：美國國家技術資訊系統

EPA-FIFRA, 1982. 《聯邦殺蟲劑、殺真菌劑和滅鼠劑法》。殺蟲劑評估準則，N 分項：化學：環境命運；和E、J 和L 分項：危害評估。殺蟲劑專案辦公室。美國環境保護局。首都華盛頓（1982 版和增補版）。有關這些測試準則的最新增補的線上資訊：美國國家技術資訊系統

經濟合作發展組織測試準則107, 1995. 經濟合作發展組織化學品測試準則，分配係數（n-辛醇/水）：錐形瓶搖動法經濟合作發展組織測試準則 117, 1989. 經濟合作發展組織化學品測試準則，分配係數（n-辛醇/水），高性能液體層析法（HPLC）

經濟合作發展組織測試準則 305, 1996. 生物濃度：魚的流通測試，經濟合作發展組織化學品測試準則

經濟合作發展組織測試準則 305 A-E, 1981. 生物蓄積作用，經濟合作發展組織化學品測試準則

經濟合作發展組織測試準則草案, 1998. 分配係數 n-辛醇/水 Pow，高疏水性化學物質緩慢攪拌法。

* 以下清單截至2000年9月。清單需要隨著新準則的採用或準則草案的擬訂定期更新。

附錄 9

附件六

參考文獻

1. 水生毒性

APHA 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th edition. American Public Health Association, Washington, DC

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, DC. 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 RIVM, Bilthoven, The Netherlands

OECD 1998. Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances. OECD, Paris. <http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>

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

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/docs/OPPTS_Harmonized/

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. Beaman & 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. Gasior & 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. <http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>

Pedersen F., H. Tyle, J. R. Niemelä, B. Guttmann. 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 DC (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. 生物蓄積作用

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 BCF 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
- Ghose, 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. Contam. 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 BCFs 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
- Oppehuizen, 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 hydrophobic chemicals. *Chemosphere* 14:1871-1896
- Oppehuizen, 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
- Oppehuizen, 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
- Oppehuizen, A., Sijm, D.T.H.M. 1990. Bioaccumulation and biotransformation of polychlorinated dibenzo-pdioxins 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. http://esc_plaza.syrres.com/interKow/logKow.htm

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

USEPA 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/docs/OPPTS_harmonized/

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 參考文獻

Boethling, R.S., Howard, P.H., 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 (QSAR) 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 of 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/categuid.htm>

US EPA (2000a), The Use of Structure-Activity Relationships (SAR) in the High Production Volume Chemicals Challenge Program, <http://www.epa.gov/chemrtk/sarfin11.htm>

US EPA (2000b), ECOSAR, <http://www.epa.gov/oppt/newchems/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. 金屬和金屬化合物

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, <http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>

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