



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 27854—2011

---

## 化学品 土壤微生物 氮转化试验

Chemicals—Soil microorganisms—Nitrogen transformation test

2011-12-30 发布

2012-08-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准与经济合作与发展组织 OECD 化学品测试导则 216《土壤微生物 氮转化测试》(英文版)技术性内容相同。

本标准做了下列结构和编辑性修改：

- 将原文的前言部分调整作为引言；
- 将术语和定义从原文的附录调整为正文内容；
- 将计量单位改为我国法定计量单位。

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

本标准起草单位：广东省微生物分析检测中心、湖北出入境检验检疫局、环境保护部化学品登记中心、中国检验检疫科学研究院、广东德美精细化工股份有限公司、东莞圣源环保科技有限公司。

本标准主要起草人：梅承芳、曾国驱、许玫英、郭坚、周红、陈会明、肖亿金、郭玉良。

## 引 言

本试验方法用于评估化学品单次暴露后对土壤微生物氮转化活性的长期影响。本试验主要依据欧洲及地中海地区植物保护组织推荐的试验方法<sup>[1]</sup>,同时参考了来自德国联邦生物科研机构<sup>[2]</sup>、美国环保局<sup>[3]</sup>、环境毒物学与化学学会<sup>[4]</sup>及国际标准化组织<sup>[5]</sup>的试验方法。1995年,OECD的土壤/沉积物工作组在意大利 Belgirate 就本试验中使用土壤的类型和数量达成了一致意见<sup>[6]</sup>。有关土壤样品的采集、处理和储存等主要参考了ISO的指南文件<sup>[7]</sup>以及 Belgirate 工作组的建议。

在对受试物的毒性进行评估时,例如,在需要提供农作物保护产品对于土壤微生物菌群的潜在负面影响时,或者当土壤微生物有可能暴露于除农作物保护产品以外的其他化学品时,需要测定受试物对土壤微生物活性的影响。氮转化试验就是用于测试这些化学品对于土壤微生物菌群的影响。如果受试物为农用化学品(如农作物保护产品、化肥、林产化学品),则需进行氮转化试验和碳转化试验。如果受试物是非农用化学品,则只需进行氮转化试验。然而,如果测得化学品氮转化试验的 $EC_{50}$ 值落在商用硝化作用抑制剂(如2-氯-6-三氯甲基吡啶)的 $EC_{50}$ 值范围内,则需通过进行碳转化试验以获得进一步的信息。

土壤由复杂的、非均一的生物和非生物混合体构成。微生物在沃土有机物的降解和转化过程中扮演着重要的角色,且不同种类的微生物对于土壤肥力的各方面均有贡献。而对于这些生化过程的任何长期干预都将干扰营养循环,进而改变土壤肥力。所有肥沃的土壤中都存在碳和氮的转化,尽管不同土壤中参与这些转化过程的微生物群落各不相同,但其转化途径在本质上都是一致的。

本试验用以考察有氧表层土中受试物对于氮转化过程的长期负面影响。该试验方法也可用于评价受试物对于土壤微生物菌群碳转化过程的影响。硝酸盐的形成通常发生在碳-氮键断裂之后。因此,当对照组和处理组的硝酸盐生成率相同时,可以推断其主要的碳降解途径是完整且有效的。试验选用的培养基(如紫花苜蓿粉末)应具有合适的碳氮比,通常在12/1至16/1的范围内。这样试验过程中微生物细胞的“碳饥饿”现象才会减少,且即使微生物群落受到了化学品的破坏,也可能在100 d内恢复。

本试验主要针对那些可以预期其在土壤中实际容纳量的物质,例如,农作物保护产品在田间的施用率是已知的。对农用化学品,根据其预计的施用率在试验时采用两种剂量即可。农用化学品可以以其活性成分(a. i.)或作为产品的形式进行试验。然而,该试验不仅仅适用于农用化学品。通过同时改变试验时土壤中受试物的量和数据评估的方式,本方法同样适用于那些在土壤中的容纳量还无法确定的化学品。因此,对非农用化学品,需要测定一系列不同浓度对氮转化的影响。根据得到的试验数据绘制剂量-效应曲线,并计算 $EC_x$ 值,其中 $x$ 定义为氮转化抑制百分率。

# 化学品 土壤微生物 氮转化试验

## 1 范围

本标准规定了化学品土壤微生物氮转化试验的方法概述、仪器设备、试验系统、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准适用于评估化学品单次暴露后对土壤微生物氮转化活性的长期负面影响。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 2.1

**氮转化 nitrogen transformation**

微生物通过氨化和硝化作用,将含氮有机物最终降解为无机终产物硝酸盐的过程。

### 2.2

**效应浓度 effective concentration, EC<sub>x</sub>**

引起氮转化的抑制百分率为  $x$  时土壤中受试物的浓度。

### 2.3

**半数效应浓度 median effective concentration, EC<sub>50</sub>**

引起氮转化的抑制百分率为 50% 时土壤中受试物的浓度。

## 3 方法概述

过筛的土壤与植物碎片混合后用受试物处理或不加处理(对照组)。若受试物是农用化学品,则至少选用 2 个测试浓度,浓度设置可以参考受试物预计在田间施用的最高浓度。在培养 0 d、7 d、14 d 和 28 d 后,从处理组和对照组中取出一定量的土壤样品,用合适的溶剂浸提并测定提取液中硝酸盐的含量。比较处理组与对照组的硝酸盐形成率,计算处理组相对于对照组的百分比差异。所有试验至少持续 28 d,如果第 28 天处理组和对照组的差异不小于 25%,则试验可延至最长 100 d。若受试物是非农用化学品,则将一系列不同浓度的受试物加到土壤样品中,并在第 28 天测定处理组和对照组中硝酸盐的产生量。利用回归模型对系列浓度的试验结果进行分析,并计算 EC<sub>x</sub> 值(即 EC<sub>50</sub>、EC<sub>25</sub> 和/或 EC<sub>10</sub>)。

## 4 仪器设备

4.1 试验容器需用化学惰性材料制成,且应具有与土壤培养方式相匹配的适宜的容积,即土壤样品以大批量整体的形式或者以系列分装独立的形式培养(见 6.1.2)。试验过程中应尽量降低水分的损失并保持气体的交换(例如:试验容器可以覆盖带有小孔的聚乙烯箔)。如受试物具有挥发性,应采用密闭或气密的试验容器。试验容器的大小以装填的土壤样品约占其 1/4 体积为宜。

4.2 需要下列标准的实验室仪器:

- 搅拌装置(机械振动器或类似设备);
- 离心(3 000g)或过滤装置(使用无硝酸盐滤纸);