



中华人民共和国国家标准

GB/T 44707—2024



化学品 强化快速生物降解性试验

Chemicals—Enhanced ready biodegradability test

2024-10-26 发布

2025-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言 III

引言 IV

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 方法概述 2

 4.1 原理 2

 4.2 方法选择 2

5 受试物信息 2

6 参比物 3

7 试验准备 3

 7.1 仪器设备 3

 7.2 试验用水和培养基 3

 7.3 接种物 3

8 试验程序 4

 8.1 强化条件 4

 8.2 受试物的添加 4

 8.3 试验操作 4

9 质量保证与质量控制 4

10 数据 5

11 结果报告 5

参考文献 6

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件与 GB/T 27850《化学品 快速生物降解性 通则》、GB/T 21801《化学品 快速生物降解性 呼吸计量法试验》、GB/T 21802《化学品 快速生物降解性 改进的 MITI 试验（I）》、GB/T 21803《化学品 快速生物降解性 DOC 消减试验》、GB/T 21831《化学品 快速生物降解性：密闭瓶法试验》、GB/T 21856《化学品 快速生物降解性 二氧化碳产生试验》和 GB/T 21857《化学品 快速生物降解性 改进的 OECD 筛选试验》配套使用。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件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。

本文件起草单位：广东省科学院微生物研究所（广东省微生物分析检测中心）、生态环境部固体废物与化学品管理技术中心、中检科健（天津）检验检测有限责任公司、路博润管理（上海）有限公司、上海市检测中心、生态环境部南京环境科学研究所、上海化工院检测有限公司、沈阳沈化院测试技术有限公司、中国合格评定国家认可中心、万华化学集团股份有限公司、福斯润滑油（中国）有限公司、能特科技有限公司。

本文件主要起草人：许玫英、梅承芳、吴孝槐、邓桂荣、刘纯新、曾国驱、罗凤娟、周丽丽、滕晓明、邢维龙、舒耀皋、戎志毅、叶芷君、杨雪菲、周彬彬、孙帅、乔建成。

引 言

当化合物在快速生物降解性试验中表现为不具有快速生物降解性时，需要进一步开展更多的筛选性降解试验，如强化快速生物降解性试验、固有生物降解性试验等，以识别是否具有潜在的持久性。推荐采用强化快速生物降解性试验评估持久性，其方法选择更广、优化条件更全面。

本文件与快速生物降解性通则（GB/T 27850）及任一快速生物降解性试验方法（GB/T 21801、GB/T 21802、GB/T 21803、GB/T 21831、GB/T 21856、GB/T 21857 和 OECD 化学品测试导则 No. 310）联合使用，将所选用的快速生物降解性试验标准作为基础方法，通过对一个或多个试验条件进行强化开展测试。除本文件描述的内容之外，其他试验内容和要求见所选用的方法标准。

如采用本文件通过预暴露接种物或增加接种物浓度开展测试并将获得的数据用于监管时，需考虑试验结果是否充分且有效。



化学品 强化快速生物降解性试验

1 范围

本文件描述了化学品强化快速生物降解性试验的方法概述、受试物信息、参比物、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据、结果报告。

本文件适用于化学品的强化快速生物降解性试验。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 21801	化学品	快速生物降解性	呼吸计量法试验
GB/T 21802	化学品	快速生物降解性	改进的 MITI 试验（I）
GB/T 21803	化学品	快速生物降解性	DOC 消减试验
GB/T 21831	化学品	快速生物降解性	密闭瓶法试验
GB/T 21856	化学品	快速生物降解性	二氧化碳产生试验
GB/T 21857	化学品	快速生物降解性	改进的 OECD 筛选试验
GB/T 27850	化学品	快速生物降解性	通则

OECD 化学品测试导则 No. 310 快速生物降解性-密闭瓶二氧化碳法（顶空试验）[Ready Biodegradability-CO₂ in sealed vessels (Headspace Test)]

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

生物降解性 biodegradability

受试化合物与接种物接触后表现出的生物降解能力。

3.2

快速生物降解性 ready biodegradability

受试化合物在限定时间内与接种物接触后表现出的生物降解能力。

3.3

持久性 persistence

受试化合物在环境中保持不变的能力或在环境中不分解不转化的趋势。

注：通常依据受试物在环境介质中的半衰期和/或生物降解率进行评估。

3.4

预调节 pre-conditioning

受试化合物不存在时，在试验条件下对接种物进行曝气培养。

注：通过减少接种物空白值和增强微生物对试验条件的适应性来提高试验质量。

3.5

预暴露 pre-exposure

受试化合物存在时，在试验条件下对接种物进行预培养。

注：通过对微生物进行驯化和/或选择来提高接种物对受试物的生物降解能力，也称为预驯化。

3.6

半连续试验 semi-continuous procedure

采取半连续方式，用接近真实环境（低）浓度的受试化合物定期培养接种物并更新部分水样，用获得的接种物开展强化快速生物降解性试验。

注：有利于微生物的适应和选择，同时在很大程度上维持试验体系的微生物多样性和营养状态。

3.7

停滞期 lag phase

从试验开始到生物降解率达到 10% 的时期。

注：即微生物的适应期。

3.8

降解期 degradation phase

从停滞期结束到生物降解率达到最大降解率的 90% 的时期。

3.9

稳定期 plateau

生物降解率趋于稳定（至少 3 次测定）的时期。

4 方法概述

4.1 原理

4.1.1 在快速生物降解性试验的基础上，通过延长试验周期、采用大容器、增加接种物量以及预暴露接种物中的一种或多种方式进行强化试验，测定化学品的生物降解率。

4.1.2 以受试物作为唯一的有机碳源，接种经预调节和（或）预暴露处理的接种物，在黑暗或散射光条件下好氧培养不超过 60 d，以固定时间间隔测定溶解性有机碳（DOC）消减量、氧消耗量或 CO₂ 产生量等参数的变化，计算受试物的生物降解率，绘制生物降解曲线。也可通过化学分析测定试验开始和结束时受试物的浓度或降解产物的浓度，评估受试物的初级生物降解性。接种物内源活性带来的误差通过含接种物不含受试物的空白对照组校正。如果受试物可能对接种物有抑制作用，可通过增设毒性对照组来验证。

4.2 方法选择

根据受试物的水溶性、挥发性、吸附性等特性选择适合快速生物降解性试验方法，具体见 GB/T 27850。快速生物降解性试验标准（GB/T 21801、GB/T 21802、GB/T 21803、GB/T 21831、GB/T 21856、GB/T 21857）和 OECD 化学品测试导则 No. 310 给出的任一试验方法均可采用作为本试验的基础方法。应充分考虑不同试验方法对结果的影响。

5 受试物信息

试验前，应掌握下列受试物信息：

- a) 结构式；
- b) 水中溶解度；
- c) 蒸气压；
- d) 纯度；
- e) 碳含量；
- f) 主要成分的组成比例；

- g) 挥发性;
- h) 吸附性;
- i) 微生物毒性(可选);
- j) 快速生物降解性和(或)其他生物降解性试验结果。

6 参比物

根据快速生物降解性试验标准,选用具有快速生物降解性的物质作为参比物。宜用苯胺(新蒸馏)、醋酸钠或苯甲酸钠作为参比物。

7 试验准备

7.1 仪器设备

使用的仪器设备应符合所选用的快速生物降解性试验标准的要求。如开展增大试验体积的强化试验,可根据需要定制合适的大体积试验容器,具体见 8.1.3。

7.2 试验用水和培养基

试验用水和培养基的选用和配制见所选用的快速生物降解性试验标准。

7.3 接种物

7.3.1 接种物的选择

7.3.1.1 接种物的种类和来源见所选用的快速生物降解性试验标准。选择时,应充分考虑受试物可能的暴露场景,选用合适的接种物。宜使用多种来源的混合接种物,以增加微生物多样性。

7.3.1.2 当使用土壤作为接种物时,宜采用来自田地和/或森林的表层土壤。采集前先去除土壤表面的覆盖物,采集后去除土壤中明显的植物残体、石砾和其他惰性材料,过 2 mm 孔径筛,以获得粒径小于 2 mm 的土样,随后称取 100 g 土壤,加入 1 000 mL 试验培养基,充分混匀,静置 1 h,取上清液备用。

7.3.2 接种物的预调节

参照选用的快速生物降解性试验标准中的描述对接种物进行预调节,以降低空白背景值,提高试验方法的精度。需要注意的是,基于改进的 MITI 试验(I)(GB/T 21802)开展强化快速生物降解性试验,接种物使用前无需进行预调节。

7.3.3 接种物的预暴露

7.3.3.1 根据前期快速生物降解性试验和(或)其他筛选性降解试验的降解进程与趋势进行分析,当生物降解表现不佳时,可采用接种物预暴露,以缩短降解停滞期。

7.3.3.2 通常采用低水平半连续操作的方式开展预暴露。将接种物沉降约 30 min,去掉上清液总体积的 1/2,加入等体积的含有低浓度受试物(通常 $\leq 100 \mu\text{g/L}$)、酸水解酪蛋白(终浓度为 25 mg/L)和酵母提取物(终浓度为 25 mg/L)的营养液,搅拌曝气,保持接种物的 pH 在 6.5~8.0 范围内,定期重复上述操作。酸水解酪蛋白和酵母提取物的贮备液分别采用试验培养基配制,加热溶解,冷藏保存,最长不超过 7 d。驯化周期通常为 14 d~28 d,对于难降解物质,可延长驯化时间。其他驯化条件应与该受试物随后开展试验的条件相一致。

7.3.3.3 经预暴露后,试验体系中接种物引入的 DOC 浓度不宜超过 2 mg/L,否则可将接种物继续曝气调节 1 d~2 d,或用试验培养基替换部分上清液,以降低空白背景值。

7.3.3.4 除了通过上述半连续试验的方式进行预暴露之外，也可采用刚结束（如一周内）的经受试物暴露的快速生物降解性试验接种物作为强化试验的接种物，使用前应用试验培养基清洗以去除过多碳源，同时加入新鲜接种物。

7.3.3.5 经过预暴露后，通常可得到具备降解受试物能力的微生物菌种，从而提高受试物的生物降解率。

8 试验程序

8.1 强化条件

8.1.1 条件选择

基于不同快速生物降解性试验方法，对延长试验时间、增大试验体积、增加接种物浓度以及预暴露接种物中的一个或者多个方面进行强化，宜选择多个强化条件开展试验。

8.1.2 试验周期

试验周期最长不超过 60 d，当生物降解达到稳定期后可结束试验。

8.1.3 试验体积

在满足试验要求的基础上，根据所使用的仪器设备，尽可能地采用大体积的试验体系开展测试，以增加微生物优势种群，确保微生物总量，同时有利于提高不同平行之间的一致性。如对于 DOC 消减试验（GB/T 21803）和二氧化碳产生试验（GB/T 21856），试验体积宜为 4 000 mL～5 000 mL；对于密闭瓶法试验（GB/T 21831），试验体积可采用 1 000 mL。试验容器的大小以容纳不影响试验运行的足量试验溶液为宜。

8.1.4 接种量

将接种量提高至环境相关的浓度（通常指接种物在地表水中的浓度，如细胞数在 10^3 个/mL～ 10^6 个/mL 范围内），有利于增加微生物多样性符合现实环境的可能性。提高后的接种量应低于固有生物降解性试验的接种物浓度，如小于 100 mg/L（以悬浮固体计）。接种物的细胞数浓度应达到快速生物降解性通则（GB/T 27850）中给出范围的下限要求。对于密闭瓶法试验（GB/T 21831），二级出水的添加量为 1.0 mL/L～5.0 mL/L，在允许的情况下宜提高接种物的添加量，但应确保试验 28 d 空白对照组的耗氧量不大于 1.5 mg/L。

8.2 受试物的添加

受试物添加至反应混合体系中的方法与其特性相关，如水溶性、挥发性、吸附性和稳定性等。当受试物为难溶于水的物质时，可结合受试物的实际使用情况，借助载体（如硅胶、玻璃纤维滤纸、硅油、阿拉伯树胶等）进行添加，还可采用超声、高剪切、搅拌等处理方式，使受试物均质化，提高生物利用度。其他见快速生物降解性试验标准。

8.3 试验操作

关于强化试验的组别设计、取样测定、操作步骤等详细描述见快速生物降解性通则（GB/T 27850）和所选用的快速生物降解性试验标准。

9 质量保证与质量控制

如满足以下条件，试验结果有效：



- a) 快速生物降解性通则（GB/T 27850）和所选用的试验方法标准细则中质量保证与质量控制所包括的全部内容；
- b) 当试验周期超过28 d，在试验结束时平行试验间的降解率最大差别（极差）应小于20%；
- c) 改进的MITI试验（Ⅰ）（GB/T 21802）和呼吸计量法试验（GB/T 21801）要求28 d试验结束时pH值为6.0~8.5，由于上述试验采用封闭式体系，试验过程中无法进行pH测定，如果强化试验周期超过28 d，上述两项试验标准中对于pH值的要求应在强化试验结束时达到。

10 数据

计算生物降解率和绘制“降解百分率-试验时间曲线”，具体见通则和所选用的快速生物降解性试验标准。

11 结果报告

测试报告应包括以下内容。

- a) 受试物：
 - 单组分物质：物理性状、水溶解性及相关的物理化学性质；化学标识，如国际纯粹与应用化学联合会（IUPAC）名称或CAS名称、CAS号、简化分子线性输入规范（SMILES）码或国际化合物标识（InChI）码、结构式、纯度等信息，在适当情况下还应提供杂质的化学鉴别信息（必要时包括有机碳含量）；
 - 多组分物质、不明复杂物质（UVCBs）（组分未知或者可变的物质、复杂反应产物或者生物材料）和混合物，尽可能提供各组分的化学鉴别信息（如上）、含量和相关的物理-化学特性。
- b) 试验条件：
 - 接种物：状态和取样地点，浓度和处理方式；
 - 污水中工业废水的比例和状况（若已知）；
 - 试验周期与温度；
 - 受试物施用方法；
 - 试验容器和设备；
 - 试验方法及条件；
 - 程序改变的原因及解释说明；
 - 参比物的使用情况。
- c) 结果：
 - 任何观察到的抑制现象；
 - 任何观察到的非生物降解；
 - 受试物质化学分析数据（如果有）；
 - 受试物降解产物的分析数据（如果有）；
 - 受试物及参比物的试验数据，以表格和曲线图的形式；
 - 稳定期、试验结束时和/或10 d观察期的降解百分率。
- d) 结果讨论。

参 考 文 献

- [1] GB/T 35523 化学品 地表水中好氧矿化 生物降解模拟试验
- [2] HJ 1257 化学物质环境管理 化学物质测试术语
- [3] ISO 7827 Water quality—Evaluation of the “ready”, “ultimate” aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium—Method by analysis of dissolved organic carbon (DOC)
- [4] ISO 9888 Water quality—Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium—Static test (Zahn—Wellens method)
- [5] ISO 10634 Water quality—Preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their biodegradability in an aqueous medium
- [6] ISO 14853 Plastics—Determination of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in an aqueous system—Method by measurement of biogas production
- [7] ISO 17556 Plastics—Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved
- [8] ASTM D5864-23 Standard Test Method for Determining Aerobic Aquatic Biodegradation of Lubricants or Their Components
- [9] OECD SERIES ON THE TEST GUIDELINES PROGRAMME Number 2. Organization for Economic Cooperation and Development, 1995.
- [10] US EPA OPPTS 835.3215 Fate, Transport and Transformation Test Guidelines, Inherent Biodegradability—Concawe Test. U.S. Environmental Protection Agency, 2008.
- [11] Assessment of environmental persistence: regulatory requirements and practical possibilities-available test systems, identification of technical constraints and indication of possible solutions. Umwelt Bundesamt, 2017.
- [12] European Chemicals Agency (2014b) Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7b: Endpoint specific guidance Version 2.0. ECHA, 2014.

