

欧盟针对农药对水生生物的初级风险评价 ——标准物种不确定因子法

于彩虹¹, 胡琳娜¹, 胡东青², 王晓军³, 姜辉³, 林荣华^{3*}

1. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083

2. 青岛出入境检验检疫局, 青岛 266000

3. 农业部农药检定所 环境室, 北京 100125

摘要: 建立适宜的农药环境风险评价体系, 有利于评价农药对环境的影响, 控制农药带来的环境污染。欧盟具有丰富的农药风险评价经验和完善的评价体系, 论文针对欧盟的初级风险评价工作中水生生物风险评价的标准物种不确定因子法进行了综述, 阐述了其评价原则与方法, 总结了预测环境浓度(predicted environmental concentration, PEC)和法规允许浓度(regulatory acceptable concentration, RAC)的建立, 分析了存在的问题并提出了发展方向, 以期为中国农药风险评价提供技术支持。针对标准物种不确定因子法过于严格的情况, 并考虑中国农药环境风险评价的现状, 建议在熟悉掌握初级风险评价技术的基础上, 逐步推动高级风险评价。

关键词: 欧盟; 农药; 水生生物风险评价; 标准物种; 不确定因子法

文章编号: 1673-5897(2011)6-471-05 中图分类号: X171.5; X820.4; X592 文献标识码: A

Primary Aquatic Risk Assessment of Pesticides in European Union: Uncertainty Factor Approach of Standard Species

Yu Caihong¹, Hu Linna¹, Hu Dongqing², Wang Xiaojun³, Jiang Hui³, Lin Ronghua^{3*}

1. School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology (Beijing), Beijing 100083, China

2. Qingdao Entry Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266000, China

3. Environmental Fate and Effects Division, Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China

Received 25 January 2011 accepted 4 July 2011

Abstract: It is important to build up an appropriate risk assessment system to evaluate the side effect of pesticides on the environment in order to control the pesticide pollution. The European Commission (EC) has built up scientific systems in aquatic risk assessment of pesticides. Focusing on the uncertainty factor approach using standard test species in aquatic risk assessment of pesticides, this paper summarized the principle and method of EC tier system and the requirements to establish the levels of predicted environmental concentration (PEC) and regulatory acceptable concentration (RAC). Higher tier risk assessment was suggested for pesticides when the uncertainty factor approach using standard species was found to be excessively strict. And considering the current situation of China, it is necessary to master the primary risk assessment system first and then gradually carry out higher tier risk assessment.

Keywords: European Union; pesticide; aquatic risk assessment; standard test species; uncertainty factor approach

收稿日期: 2011-04-25 录用日期: 2011-07-04

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目(2009QH11); 农药风险评估综合配套技术研究项目(农业部行业科技项目)

作者简介: 于彩虹(1973), 女, 博士, 副教授, 研究方向为环境生物学和环境风险评估等, E-mail: caihongy@yahoo.com.cn;

*通讯作者(Corresponding author), E-mail: linronghua@agri.gov.cn

农药是重要的农业生产资料,可保障农业的稳产高产,但同时也存在对环境的污染问题^[1-3]。在农药引起的环境问题中,对水生生物的影响是关注的热点^[4-5]。而如何评价农药对水生生物的影响作用,也是农药环境问题研究的重要内容。世界各国都在积极探索采用各种技术与手段来分析与评估农药对水生生物的环境风险,以预防和控制农药对环境的影响^[6-8]。

美国和欧盟开展农药风险评价工作较早,已有较为成熟的体系,而在中国该项工作目前尚处于起步阶段。自20世纪80年代末起,欧盟各国即开始农药风险评价工作^[9],其中,涉及农药对环境风险评价的主要文件为欧盟91/414/EEC指令(Council Directive 91/414/EEC)^[10]及水生生态毒理学指导文件(SANCO/3268/2001 rev. 4)^[7]等,其中91/414/EEC指令于2009年被欧盟1107/2009法规(Regulation No 1107/2009)及2009/128/EC指令(Directive 2009/128/EC)所代替^[11-12]。农药环境风险评价主要针对水生生物、鸟类、哺乳动物及其他陆生生物等不同非靶标生物进行,其中以水生生物的环境评价最为复杂。本文综述了欧盟针对农药产品建立的水生生物的标准生物种风险评价方法,分析了风险评价的方法及其构建依据,为建立中国的农药环境风险体系提供参考。

1 评价原则与方法

欧盟针对农药对水生生物的风险评价主要采用分级(Tier)评价的方法^[13-14],依据由简单到复杂,由初级到高级的原则。初级风险评价主要针对不同非靶标保护对象的代表性标准生物种进行风险评价。农药对田边地表水水生生物的初级风险评价(Tier 1)主要从3个方面进行评价:(1)利用标准水生生物物种进行毒性风险评价;(2)针对鱼类进行的生物蓄积风险评价;(3)针对次级毒性(secondary poisoning)进行的风险评价。标准水生生物物种毒性风险评价中包括急性(短期)毒性和慢性(长期)毒性的风险评价。

目前,欧盟对水生生物的初级风险评价主要采用标准生物物种不确定因子方法。无论是急性还是慢性毒性的评价都是根据标准测试物种的毒性研究资料对农药进行评价。在初级风险评价中主要是比较法规允许浓度(regulatory acceptable concentration, RAC)和农药的预测环境浓度(predicted environmental concentration, PEC)的大小来判定农药风险程度。如果所测标准物种的RAC值全部高于

评价产品的最大预测环境浓度(PEC_{max})值则认为对于将要推广使用的农药不存在不可接受的风险,即表明该化合物可以登记使用。如果,其中有任何一种测试物种的RAC值低于PEC_{max}值,则需要进一步开展高级阶段的试验和评估,以提供相关资料来决定该产品是否可以登记并推广应用。

2 预测环境浓度(PEC)的确定

农药在环境中存在浓度的确定是农药风险评价中最重要的环节之一。其中,对于已经使用的相关农药化学产品在水环境的PEC可以通过化学监测、归趋模型或者综合这2种方法获得。但是对于仍未投放市场的新农药化合物,需要通过建立暴露场景,以模型模拟方法获得预测环境浓度。在欧盟的评价体系中,FOCUS(Forum for the Co-ordination of Pesticide Fate Models and Their Use)相关指导文件详细地介绍了如何计算非靶标水生生物可能接触的水体或沉积物中的农药的PEC^[15-18]。但农药在环境中的存在浓度并不固定,往往随自身降解特性、环境条件及应用频率而动态变化。在运用急性数据进行风险评价时通常选用PEC_{max},而在进行慢性风险评价中,首选的也是PEC_{max},但在一些特定的条件下选用PEC_{TWA}^[14]。TWA浓度(time weighted average concentration)即化合物在水中的时间权重平均浓度。应用TWA方法来进行风险评价的主要依据是发现农药在低浓度条件下对水生生物的长期作用效应与其在高浓度条件下短期的作用效应是相同的,这种现象也被称作“相关性”(reciprocity)^[19]。这种相关性遵循哈伯定律,即认为毒性与浓度和时间相关。例如,暴露于10 μg·L⁻¹浓度下8 d所产生的毒性效果与20 μg·L⁻¹浓度下暴露4 d或40 μg·L⁻¹浓度下暴露2 d的效果相同,毒性效果与暴露浓度及暴露时间表现出一定的相关关系。时间权重平均值正是基于这种线性,将暴露浓度与暴露时间综合考虑,表现为曲线下的面积除以毒性测定持续时间。采用这种方法后,曲线下面积相同的不同暴露形式被认为效果一致。对于作用缓慢的化合物,当在水中的PEC_{max}高于RAC时,可以进一步通过PEC_{TWA}来进行评价。

但是根据Brock领导的ELINK工作组的研究^[14],在慢性风险评价中有以下5种情况不适宜使用TWA方法,包括:(1)RAC来自于藻类室内毒性试验或待评估的农药为快速降解化合物;(2)当慢性测定的效应终点值是基于某个特别敏感的生活史阶

段,且不能够排除在敏感阶段产生暴露的可能性;

(3) 当有证据表明化合物具有内分泌干扰效应时(除非效应机制明确且被证明需要长期暴露才会引起效应);

(4) 当慢性测定的效应终点值是基于测试初期产生的死亡率(如早期 96 h),或者如果急性与慢性比率(急性 EC_{50} (LC_{50})/慢性 NOEC) < 10 , 其中, EC_{50} 为半数影响浓度(50% effective concentration), LC_{50} 为半数致死浓度(50% lethal concentration), NOEC 为无可见效应浓度(no observed effect concentration);

(5) 化合物被证明具有延迟毒性。

因此,需基于生态毒理学数据,决定 TWA 方法是否适用于慢性风险评价,并需要确定选用多长的时间作为 TWA 值范围。PEC_{TWA} 的时间范围应小于或等于相关关键慢性毒性测试时间。对于无脊椎动物和鱼类(有时包括水生植物)默认的 TWA 时间范围是 7 d,但可以根据实际情况而缩短或延长时间范围。

3 法规允许浓度(RAC)的确定

RAC 是农药管理相关部门登记时所设立的药物化合物在环境中的安全浓度。欧盟风险评估体系中水生生物标准生物物种不确定因子法中 RAC 是通过标准测试物种的毒性终点数据(如 LC_{50} 、 EC_{50} 或 NOEC 等)除以不确定因子得到的。其中欧盟对水生生物的毒性风险评价中,对于急性毒性终点数据主要是采用 LC_{50} 或 EC_{50} , 不确定因子为 100; 慢性毒性评价中普遍认可的终点数值是 NOEC, 或者为 10% 影响浓度(EC_{10}), 其不确定因子是 10。

3.1 急性毒性评价

欧盟中需要向农药管理部门提供的水生生物的急性毒性资料包括针对鱼和无脊椎动物的 48 h 和 96 h 的毒性试验数据。表 1 中所列为欧盟要求的应向农药产品登记管理机构提供的急性(短期)水生生物生态毒理的研究结果,以及根据这些研究结果进行推导得到的 RAC。其中,对于虹鳟鱼(*Oncorhynchus mykiss*)、大型蚤(*Daphnia* sp.) 及 1 种暖水鱼(欧盟通常采用 *Lepomis macrochirus*) 的数据,所有农药化合物登记时都需要提供。而对于一些特别产品或特殊情况需要提供额外的测试结果。如,对具有杀虫活性的产品,还需要增加测定水生昆虫摇蚊(*Chironomus riparius*) 幼虫的 EC_{50} 值,若可能对海水环境造成影响时,还需要提供甲壳类生物玻璃虾(*Americamysis bahia*) 的测定结果。对于藻

类的测定同样属于短期研究,但是考虑到其世代周期比较短,根据藻类试验得到的终点数据通常认为属于慢性效应,所以藻类的研究结果被归在慢性风险评价数据组中(表 2)。如果在初级风险评价中发现对 1 种或 1 种以上的标准水生生物测试物种存在风险,则要求进行高级的风险评价,在更高一级的评价中需要新的暴露评价标准或效应评价标准。

表 1 欧盟要求提供的水生生物急性(短期)毒性测试的终点数据

Table 1 Endpoint data available from acute (short term) aquatic toxicity test required by European Union				
物种类别	测试物种	测试时间/h	终点值	法规允许浓度(RAC)
鱼类	虹鳟鱼(<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	96	LC_{50}	$LC_{50}/100$
鱼类	暖水鱼种(warm water species)	96	LC_{50}	$LC_{50}/100$
甲壳类	大型蚤(<i>Daphnia</i> sp.)	48	EC_{50}	$EC_{50}/100$
甲壳类	玻璃虾(<i>Americamysis bahia</i>)	48	EC_{50}	$EC_{50}/100$ *
昆虫纲	摇蚊(<i>Chironomus riparius</i>)	48	EC_{50}	$EC_{50}/100$ *

注: * 评价的化合物是杀虫剂或具有杀虫剂活性时需要增测此项。

3.2 慢性毒性评价

欧盟农药对田边地表水水生生物的慢性毒性评价所选用的终点数据是 NOEC 或者 EC_{10} 。通常在慢性评价中必须提供大型蚤(*Daphnia* sp.) 或玻璃虾(*A. bahia*)、爪蟾(*Xenopus laevis*) 及绿藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*) 的相关 NOEC 或者 EC_{10} , 但同样也存在一些特殊情况。如表 2 所示,当化合物暴露于地表水且在水中比较稳定时(24 h 水解损失率小于 90%), 必须进行鱼早期生活阶段(early life stage, ELS) 试验, 主要是考虑开展比较敏感的胚幼鱼阶段的试验; 当化合物的生物浓缩因子($BCF_{\text{鱼}}$) $> 1\,000\,L \cdot kg^{-1}$ 、14 d 净化率 $< 95\%$ 且水生态系统中分解 90% 所需时间($DT_{90, \text{系统}}$) $> 100\,d$, 需进行鱼的全生命周期(full life cycle, FLC) 试验, 即从成年鱼的亲本世代开始一直持续到 F_2 代性成熟的测试, 而当化合物存在内分泌干扰特性时 also 需进行 FLC 测定(一旦进行 FLC 测试, 则不需要同时进行 ELS 试验); 对于昆虫生长调节剂或其他对昆虫具有特殊作用的化合物则要求提供针对摇蚊(*C. riparius*) 的测定结果; 具有除草活性的化合物还需要进行额外的水生植物的测定数据。

表 2 欧盟要求提供的水生生物慢性(长期)毒性测试的终点数据

Table 2 Endpoint data available from chronic (long term) aquatic toxicity test required by European Union

物种类别	测试物种	测试时间	终点值	法规允许浓度(RAC)	备注
甲壳类	大型溞(<i>Daphnia</i> sp.)或玻璃虾(<i>A. bahia</i>)	21 d	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	1)
两栖类	爪蟾(<i>Xenopus laevis</i>)	21 d	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	1)
藻类	绿藻(<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	72 h	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	1)
鱼类	早期生活阶段试验(ELS)	—	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	2)
鱼类	全生命周期试验(FLC)	—	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	3)
昆虫纲	摇蚊(<i>Chironomus riparius</i>)	20~28 d	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	4)
藻类	蓝藻(<i>Cyanobacteria</i>)或硅藻(<i>Bacillariophyceae</i>)	72 h	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	5)
水生植物	浮萍(<i>Lemna</i> sp.)或狐尾藻(<i>Myriophyllum</i> sp.)	7~14 d	NOEC(EC ₁₀)	NOEC /10	5)和 6)

1) 通常情况下需要测试该项数据, 如果急性毒性数据结果中 *Daphnia* 和 *A. babia* 的 EC₅₀值相差一个数量级, 则在慢性毒性试验中需要选用急性毒性研究中的敏感种类; 2) 当地表水在化合物的暴露下, 并且该化合物在水中比较稳定时, 有必要提供该项数据; 当有 FLC 测试数据时可以不提交 ELS 研究数据; 3) 当生物浓缩因子(BCF_鱼) > 1 000 L·kg⁻¹, 14 d 净化率< 95%且水生态系统中分解 90%所需时间(DT₉₀系统) > 100 d, 或者其他的数据表明需要 FLC 试验(如存在内分泌干扰效应), 需提交该项数据; 4) 在化合物可以干扰昆虫的羽化(昆虫生长调节, IGR), 或针对昆虫有其他特异性靶标作用的条件下, 需要该项测试; 5) 具有除草剂作用模式的除虫剂、植物生长调节剂和杀菌剂类产品需要该项测试; 6) 对于生长素抑制剂, 或者陆生植物的测定数据表明双子叶植物敏感度高的情况下, 通常建议优先选用 *Myriophyllum* sp.。

4 问题与展望

因水生环境的特殊性, 农药对于水生生物的风险评价非常复杂。采用标准生物种方法在技术和管理上都具有良好的可操作性。在技术上的优势体现在测定方法的统一性, OECD 等组织建立的稳定的测定方法, 以及标准生物种的使用, 有利于各种农药化合物间、不同地区间及不同试验单位间的比较; 管理上的优势体现在评价指标明确, 不易产生偏差。但是, 初级阶段风险评价的共同问题是在标准化模式中采用不确定因子产生的保护作用往往过于严格, 可能导致一些具有优良效果的农药化合物被排除。因此当初级风险评价确定化合物具有潜在风险时, 进一步的高级风险评价就成为必要。这些高级风险评价方法包括了室内高级风险方法(如室内微宇宙试验、增加测定种类)和田间高级风险方法(如中/微宇宙试验、田间监测等)^[20]。

中国在农药环境风险评价方面处于起步阶段。为提高农药市场准入标准和要求, 从源头上最大限度地减少农药的不安全因素, 中国曾先后 4 次制定和修改农药登记资料的要求, 对农药环境安全方面的资料要求日趋严格^[2, 21]。但是与欧美等发达国家相比, 中国在农药风险评价方面仍存在很大差距, 因此需要按照从初级到高级, 从简单到复杂的评价进程, 在熟悉掌握初级风险评价方法的基础上, 大力推动高级风险评价方法和技术的研究, 逐步开展相关科技和管理体系的建设, 方能早日在农药风险评价

工作中赶超欧美发达国家, 保障环境安全。

通讯作者简介: 林荣华(1974—), 男, 博士, 高级农艺师, 主要研究方向为农药生态毒理学, 已发表学术论文 20 余篇。

参考文献:

[1] 顾宝根, 程燕, 周军英, 等. 美国农药生态风险评价技术[J]. 农药学报, 2009, 11(3): 283-290
Gu B G, Cheng Y, Zhou J Y, et al. Review on USA pesticide ecological risk assessment techniques [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2009, 11(3): 283-290 (in Chinese)
[2] 魏启文, 陶传江, 宋稳成, 等. 农药风险评估及其现状与对策研究[J]. 农产品质量与安全, 2010(2): 38-42
[3] Pinto M I, Sontag G, Bernardino R J, et al. Pesticide in water and the performance for the liquid phase microextraction based techniques: A review [J]. Microchemical Journal, 2010, 96(2): 225-237
[4] 王颜红, 李国琛, 王世成, 等. 欧盟农药风险评价发展现状[J]. 农药, 2008, 47(8): 547-554, 557
Wang Y H, Li G C, Wang S C, et al. Current status of risk assessment of pesticides in European Union [J]. Agrochemicals, 2008, 47(8): 547-554, 557 (in Chinese)
[5] Robert L L, Robert P M, Margaret L P, et al. Chemicals in the environment: An overview [C] // Lipnick R. ACS Symposium Series Chemicals in the Environment. Washington D C: American Chemical

- Society, 2002: 1–24
- [6] USEPA (United States Environmental Protection Agency). Guidelines for Ecological Risk Assessment EPA/630/R 95/002F [S]. Washington D C: Federal Register, 1998
- [7] EC (European Commission). Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the Context of the Directive 91/414/EEC (SANCO/3268/2001) [S]. Revision 4. Brussels: European Commission, Health and Consumer Protection Directorate General, 2002
- [8] 王蔚, 陈隆智, 高希武. 环境农药残留与毒理学终点在环境风险评估中的应用 [J]. 中国农学通报, 2006, 22 (2): 375 – 378
Wang W, Chen W L, Gao X W. EEC/PEC and toxicological endpoint in environmental risk assessment [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22 (2): 375 – 378 (in Chinese)
- [9] Ale B J M. Risk analysis and risk policy in the Netherlands and the EEC [J]. Journal of Loss Prevention in the Process Industries, 1991, 4 (1): 58 – 64
- [10] EC (European Commission). Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market [J]. Official Journal of the European Union L, 1991, 230: 1 – 32
- [11] EC (European Commission). Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directive 79/117/EEC and 91/414/EEC [J]. Official Journal of the European Union L, 2009, 309: 1 – 50
- [12] EC (European Commission). Directive 2009/128/EC of the European Parliament and the Council of 21 October 2009 establishing a framework for community action to achieve the sustainable use of pesticides [J]. Official Journal of the European Union L, 2009, 309: 71 – 86
- [13] Campbell P J, Arnold D J S, Brock T C M, et al. Guidance Document on Higher tier Aquatic Risk Assessment for Pesticides (HARAP) [M]. Brussels: SETAC Europe, 1999: 179
- [14] Brock T C M, Alix A, Brown C D, et al. Linking Aquatic Exposure and Effects: Risk Assessment of Pesticides [M]. New York: CRC Press, 2010: 25 – 35
- [15] FOCUS (Forum for the Co ordination of Pesticide Fate Models and Their Use). FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC: EC Document Reference SANCO/4802/2001 [S]. Revision 2. Washington D C: FOCUS Working Group on Surface Water Scenarios, 2001
- [16] FOCUS (Forum for the Co ordination of Pesticide Fate Models and Their Use). Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration: EC Document Reference SANCO/10058/2005 [S]. Revision 2.0. Washington D C: FOCUS Working Group on Degradation Kinetics, 2005
- [17] FOCUS (Forum for the Co ordination of Pesticide Fate Models and Their Use). Landscape and Mitigation Factors in Aquatic Risk Assessment. Volume 1. Extended and Mitigation Factors in Ecological Risk Assessment: EC Document Reference SANCO/10422/2005 [R]. Revision 2.0. Washington D C: FOCUS Working Group on Landscape and Mitigation Factors in Ecological Risk Assessment, 2007
- [18] FOCUS (Forum for the Co ordination of Pesticide Fate Models and Their Use). Landscape and Mitigation Factors in Aquatic Risk Assessment. Volume 2. Detailed Technical Reviews: EC Document Reference SANCO/10422/2005 [R]. Revision 2.0. Washington D C: FOCUS Working Group on Landscape and Mitigation Factors in Ecological Risk Assessment, 2007
- [19] Giesy J P, Graney R L. Recent developments in and intercomparisons of acute and chronic bioassays and bioindicators [J]. Hydrobiologia, 1989, 188 – 189 (1): 21 – 60
- [20] Alistair B A B, Colin D B, Katie L B. Higher tier laboratory methods for assessing the aquatic toxicity of pesticides [J]. Pest Management Science, 2002, 58 (7): 637 – 648
- [21] 杨永珍. 中国农药安全管理 [C] //江树人. 农药与环境安全国际会议论文集. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 19 – 25
Yang Y Z. Safety management of pesticide in China [C] //Jiang S R. Proceedings of International Symposium on Pesticide and Environmental Safety. Beijing: China Agriculture University Press, 2003: 19 – 25 (in Chinese) ◆