



中华人民共和国国家标准

GB/T 21814—2008

工业废水的试验方法 鱼类急性 毒性试验

Testing methods for industrial wastewater—Fish acute toxicity

2008-05-12 发布

2008-09-01 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

本标准等同采用日本工业标准 JIS K 0102-71:1998《工业废水的试验方法 鱼类急性毒性试验》(日文版)。

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:中国检验检疫科学研究院、环境保护部环境标准研究所、辽宁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:陈会明、王立峰、王军兵、于文莲、周新、陈艳卿、刘海波。

工业废水的试验方法 鱼类急性 毒性试验

1 范围

本标准规定了实验室测定工业废水鱼类急性毒性的试验范围、方法概述、试验准备、试验仪器、试样的采集及保存、试验条件、试验操作和试验结果。

本标准适用于工业废水鱼类急性毒性的测定。

2 方法概述

本标准通过鱼类半数致死浓度 LC_{50} (Median lethal concentration) 评估受试物的鱼类急性毒性。试验用鱼在受试物水溶液中饲养一定的时间,以 96 h 为一个试验周期,在 24 h、48 h、72 h 和 96 h 时记录试验用鱼的死亡率,确定鱼类死亡 50% 时的受试物浓度,半数致死浓度用 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 、72 h LC_{50} 及 96 h LC_{50} 表示。

注: LC_{50} 不是鱼类可接受的无影响浓度,鱼类可接受的无影响浓度需要通过亚急性毒性、慢性毒性试验测定。 LC_{50} 值乘上一个适当的系数可以估算鱼类可接受的无影响浓度,如通常 48 h LC_{50} 乘的系数取 0.1 左右,96 h LC_{50} 乘的系数取 0.01 左右。试验用鱼的种类、健康状态及稀释水的水质、水温等都会对 LC_{50} 的测定产生影响,而且这种影响的定量关系目前尚不清楚,因此在对排放水域生物影响进行研究时,可以选择与排放水域自然条件相似的鱼种和稀释水进行试验。在比较不同物质的毒性或研究其毒性成因时,应采用同样的供试鱼种和试验条件。本标准描述的 LC_{50} 的测定方法,不违背试验条件尽量接近排放水域这一宗旨。

3 试验准备

3.1 试验用鱼

3.1.1 试验用鱼应满足以下条件:大小统一、健康、易于获得等。一般适合作为试验用鱼的种类有:

3.1.1.1 大马哈鱼属(虹鲑、美洲红点鲑、马苏大马哈鱼、大口大马哈鱼等);

3.1.1.2 鲤类(鲤鱼、鲫鱼、带鲮、宽鳍鳮等);鲮类(青鲮、排青鲮等);

3.1.1.3 花鲮科(花鲮、食蚊鱼等)。

3.1.2 同一试验使用的鱼大小应大致相同,最大鱼体的全长不得超过最小鱼体全长的 1.5 倍。

3.1.3 应使用全长 50 mm 以下的小鱼(如果试验用鱼较大,应使用与之相应的较大的试验水槽)。

3.1.4 同一试验使用的鱼,应在同一条件下喂养。试验用鱼在开始试验之前应在试验室至少暂养一周(最好达到 10 d 或 10 d 以上)。

3.1.5 暂养期内,1 d 投饲料一次,试验开始前 2 d 停止投给饲料。试验应使用健康的鱼,在试验前 4 d 内,如果死亡和生病的鱼量超过了 10%,则该批次的鱼不得使用。

注:涉及到排放水域时,试验用鱼除需要满足 3.1 的基本条件外,还需考虑渔业发展、生态保护以及环境对毒物的耐受性等因素。

3.2 稀释水

稀释水即为稀释受试物所使用的水。在对排放水域进行研究时,排放地点的上游水即为所需的稀释水。如果所需的稀释水难以获得,可以在水中添加必要的化学试剂配制,配制的溶液应与排放水域水质的 pH 值、需氧量或碱消耗量、含盐量等指标大致相同。如果采集的稀释水中含有较多的悬浊物,可以通过沉淀或过滤除掉悬浊物后再使用。

在不考虑排放水域的情况下,可以使用不含特殊成分的, pH 值为 7 左右的优质井水或自来水(除掉氯的自来水)作为稀释水。稀释水要充分搅拌使其充分溶解氧。

4 试验仪器

4.1 试验水槽

试验水槽使用洁净的玻璃或不锈钢水槽,容量约 30 L。

4.2 恒温设备

试验过程中使用恒温设备将试验温度控制在预定温度下,误差控制在 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 范围内。

4.3 饲养水槽

饲养水槽的容积应满足饲养试验用鱼的要求(100 L~200 L 左右的水槽数个),饲养过程中还应根据需要调节温度及送气。

5 试样的采集及保存

5.1 采集的受试物装满收集瓶后密封,在低于采集时的温度下保存。

5.2 水溶液中含有易被细菌分解的有机物时,保存温度应控制在 $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 之间,且不能结冰,并尽早试验。同一试验中使用的水应同一时间采集。

6 试验条件

6.1 对鲤鱼、鲫鱼、青鳉和花鳉等温水鱼,温度应控制在 $20^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 之间某一恒定温度;对虹鳟、马苏大马哈鱼等冷水鱼温度应控制在 $12^{\circ}\text{C}\sim 18^{\circ}\text{C}$ 之间某一恒定温度,温度变化应控制在 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的范围内。

6.2 试验水槽中每克鱼试验溶液的量应大于 1 L。每个水槽试验用鱼至少为 7 条,如有必要,不同试验水槽中可以放相同数量的鱼。

6.3 稀释水中的受试物浓度可以根据预备试验的结果决定。在预备试验中受试物浓度范围的幅度可以取得大一些,如:100%、10%、1%、0.1%或 100%、32%、10%、3.2%等,使其数值成等比数列。

6.4 预备试验中试验用鱼可以少于 7 条,试验水槽的大小、水量等也可相应减少。

6.5 试验使用的受试物浓度应处于 C1 和 C2 之间。C1 是指 24 h 内致大部分鱼死亡的最低浓度,C2 是指 96 h 之后大部分鱼仍然存活的最大浓度。如有必要,可在一次预备试验确定浓度范围的基础上再进行一次预备试验缩小浓度范围。

6.6 确定试验的浓度范围时,可将溶液浓度分成 5~10 级进行测试,各级浓度的对数之间的差应相等,如 100%、75%、56%、42%、32%、24%、18%、13.5%、10%等 $[(\ln 100 - \ln 75) \approx (\ln 75 - \ln 56)]$ 。

6.7 试验中有时试验溶液会对受试物毒性产生影响,如溶解氧减少导致毒性减少,该内容应在预备试验中予以研究。为了避免试验过程中试验溶液溶解氧含量的不足,对试验溶液的溶解氧含量作出如下规定:

温水鱼:保持 4 mg/L(以氧计)以上;

冷水鱼:保持 5 mg/L(以氧计)以上。

6.8 对于成分容易变化的受试物,试验过程中需要对试验溶液进行更换。更换方式可以选择固定浓度流水式,也可选择每隔一定时间(24 h 以内)更换一次的方式。

6.9 此外,为防止挥发成分的减少,应保证试验水槽中的水足够深(例如,30 L 的试验水槽的水深应达到 200 mm 以上)。

7 试验操作

7.1 制作 5~10 级的试验溶液并分别放入各试验水槽中。制作试验溶液时,应均匀地混合悬浊物,但不必过分地和空气混合。

7.2 试验溶液准备好后,应尽快(30 min 以内)把试验用鱼放入水槽中(记录把试验用鱼放入水槽的时间)。转移试验用鱼时应使用柔软的工具,注意不应损伤鱼体。不应将鱼放置于干燥的物体表面上,不应长时间将鱼暴露在空气中。转移鱼时,应将不适合试验的鱼除去。

- 7.3 试验开始 4 h 及 8 h 后,观察试验用鱼的状态,记录下是否出现翻滚等反常行为。
- 7.4 试验中,应尽早把死鱼从水槽中捞除。试验用鱼的死亡要通过用玻璃棒轻轻按压鱼尾部而鱼体没有反应来确认。
- 7.5 记录 24 h、48 h、72 h 及 96 h 后死亡鱼的数量。
- 7.6 使用稀释水做一组比对试验,比对试验中死鱼和不健康鱼超过 10%,则本次试验结果无效。
- 7.7 试验过程中要对试验溶液进行溶解氧、pH 值及主要毒性成分检验,且至少在试验开始前及试验结束时各进行一次。溶解氧应进行多次测量。
- 7.8 如图 1 所示,将试验溶液的浓度和死亡率数据在对数-概率纸上作图,横坐标为试验溶液浓度的对数,纵坐标为死亡率(%),计算 LC_{50} 。
- 7.9 LC_{50} 根据试验时间的不同分为 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 、72 h LC_{50} 和 96 h LC_{50} 。

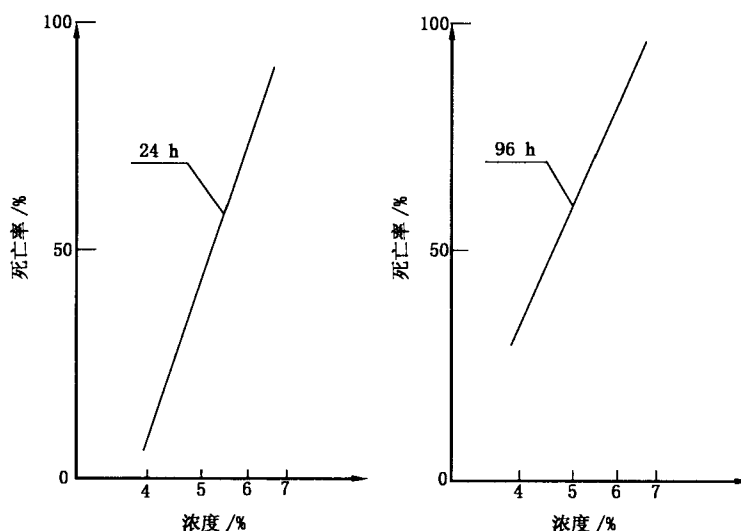


图 1 计算单侧对数纸上的 LC_{50}

8 试验结果

试验结果应记录下列内容:

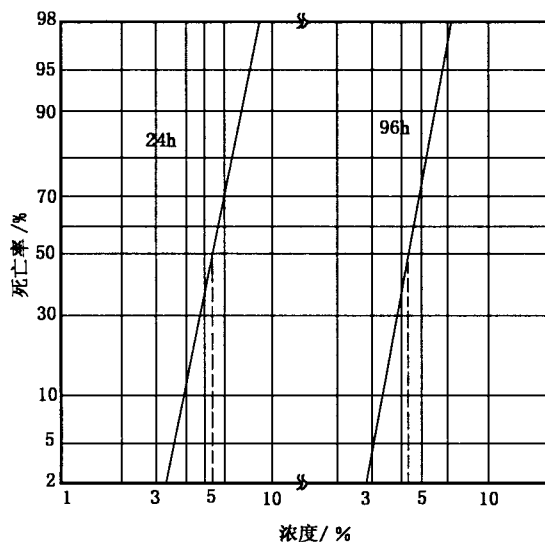
- 8.1 不同浓度下鱼的数量和死亡率。
- 8.2 试验用鱼的种类、获得途径、平均长度、平均质量(体重)、试验水温。
- 8.3 试验溶液的更换及其他的 management 方法。
- 8.4 受试物的获得途径及储存条件。
- 8.5 稀释水的获得途径、耗氧量或碱消耗量、pH 值、钙、镁、氯化物离子含量、透明度(浊度)等。
- 8.6 试验水槽的水量、水深、试验用鱼的数量和水质。
- 8.7 试验开始 4 h 和 8 h 后试验用鱼的状态。
- 8.8 试验开始时及试验结束时水质的情况,特别是溶解氧和 pH 值。

注 1: 根据试验目的的不同,有时使用海鱼作为试验用鱼。从获得和饲养管理的难易性看,适合做试验的海鱼有:鰕虎鱼类、星点东方鲀、鲃鱼、鲷鱼、粗皮鲀等。饲养海鱼时要注意溶解氧的减少及鱼的排泄物和残余饲料对水质产生的影响。试验前饲养海鱼时,最好使用流水式水槽,条件达不到时可以使用循环过滤式饲养水槽。和淡水鱼一样,试验可以在静止的水中进行。试验水槽的含鱼量不得超过 0.3 g/L,至少每 24 h 全量更换试验溶液一次。

注 2: 有害刺激量和生物的反应率(这里指受试物浓度和死亡率)在对数-概率纸上通常显示为 S 形曲线,第 7 章使用的 LC_{50} 的计算方法是利用了该曲线中心部几乎是直线的特点,讨论试样对排放水域的生物带来的影响时,该方法可以获得足够的精度。

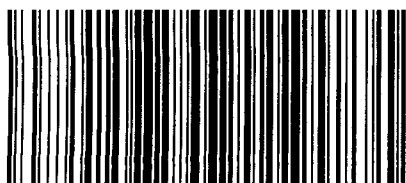
注 3: 如果需要定量地比较不同试验溶液的毒性,可以通过变换,将 S 曲线变成直线,然后在对数-概率纸上在各点

之间划一条直线,获得更高精度的 LC_{50} 。该方法如图 2 所示,对数-概率纸的纵轴为死亡率,横坐标为受试物浓度的对数,并目测划一条与各点适当的直线。此时主要把直线对准死亡率在 16%~84% 之间的各点,并使由各点到直线的纵轴方向的距离为最小。直线和 50% 死亡率相交点的受试物浓度作为 LC_{50} 。



注:24 h LC_{50} 5.2%; 96 h LC_{50} 4.4%。

图 2 在对数-概率纸上计算 LC_{50}



GB/T 21814-2008

版权专有 侵权必究

*

书号:155066 · 1-32237