



中华人民共和国国家标准

GB/T 27861—2011

化学品 鱼类急性毒性试验

Chemicals—Fish acute toxicity 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 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按 GB/T 1.1—2009 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 No. 203(1992 年)《鱼类急性毒性试验》(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：

——在附录 A 中增加了稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)和剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)；

——将术语定义由附录移到正文；

——计量单位改为我国法定计量单位；

——为与现有标准系列一致，将标准名称改为《化学品 鱼类急性毒性试验》。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)归口。

本标准起草单位：环境保护部化学品登记中心、上海市环境科学研究院、上海市检测中心、广东省微生物分析检测中心、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人：周红、沈英娃、刘纯新、胡双庆、沈根祥、赵华清、李康、张鑫、周林军、陈会明。

化学品 鱼类急性毒性试验

1 范围

本标准规定了化学品鱼类急性毒性试验的术语和定义、受试物信息、方法原理、试验准备、试验、质量控制、数据与报告。

本标准适用于测试和评价化学品的鱼类急性毒性。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

静态试验 static test

以整个试验过程中试验介质不更换、不流动的方式进行的试验。

2.2

半静态试验 semi-static test

以定期(如 24 h)更换试验介质的方式进行的试验。

2.3

流水式试验 flow-through test

以整个试验过程中试验介质自动、持续地被更换的方式进行的试验。

2.4

半数致死浓度 median lethal concentration

引起 50% 的受试鱼死亡的受试物浓度,以 LC_{50} 表示。

3 受试物信息

受试物信息包括:

- a) 水中溶解度;
- b) 溶液中定量分析方法;
- c) 结构式;
- d) 纯度;
- e) 水中和光中的稳定性;
- f) pK_a 值;
- g) 正辛醇-水分配系数(P_{ow});
- h) 蒸气压;
- i) 快速生物降解结果。

4 方法原理

鱼类急性毒性试验用于评价受试物对鱼类可能产生的影响,以短期暴露效应表明受试物的危害性。

将鱼暴露于不同浓度的受试物溶液,以 96 h 为试验周期,在 24 h、48 h、72 h 和 96 h 时记录鱼的死亡率,分别确定 50% 试验鱼死亡时的受试物浓度,用 LC_{50} 表示。

5 试验准备

5.1 仪器设备

仪器设备至少包括:

- a) 溶解氧测定仪;
- b) 水硬度计;
- c) 温度控制仪;
- d) 化学惰性材料制成的水族箱或水槽,规格一致,体积适宜;
- e) pH 计。

5.2 试验生物选择

选用一个或多个鱼种,根据需要自行选择。建议根据全年可得、易于饲养、方便试验等原则,并结合相关的经济、生物或生态因素等来确定鱼种。试验用鱼应健康,无明显的畸形。

推荐试验用鱼可参见附录 A 中表 A.1。表格中的鱼种都为全年可得、易于饲养。可在养鱼场或实验室中疾病与寄生虫控制的条件下进行驯化和饲养,使试验鱼保持健康,遗传清晰。这些鱼种在世界许多地方都可找到,若使用其他符合以上标准的鱼种,试验方法应作相应调整以提供合适的试验条件。

5.3 试验鱼的驯养

试验鱼用于试验之前,应在实验室至少暂养 12 d。临试验前,应在符合下列条件的环境中至少驯养 7 d:

- 水:与试验用水相同;
 - 光照:每天 12 h~16 h 光照;
 - 温度:与试验鱼种相适宜(参见附录 A 中表 A.1);
 - 溶解氧浓度:不小于 80% 空气饱和值;
 - 喂养:每周 3 次或每天投食,至试验开始前 24 h 为止。
- 驯养开始 48 h 后,记录死亡率,并按下列标准处理:
- 7 d 内,死亡率大于 10%,舍弃整批鱼;
 - 7 d 内,死亡率在 5%~10% 之间,继续驯养 7 d;
 - 7 d 内,死亡率小于 5%,可用于试验。

5.4 试验用水

使用高质量的自然水或标准稀释水(参见附录 B),也可以使用饮用水,必要时应除氯。水的总硬度(以 $CaCO_3$ 计)为 10 mg/L~250 mg/L,pH 值为 6.0~8.5。用于配制标准稀释水的试剂应为分析纯,去离子水或蒸馏水的电导率应小于或等于 10 μ S/cm。

5.5 试验溶液

通过稀释贮备液配制试验溶液。低水溶性物质的贮备液可以通过超声分散或其他适合的物理方法配制,必要时可使用对鱼毒性低的有机溶剂、乳化剂或分散剂来助溶。使用这些物质时应加设助溶剂对照试验,对照组助溶剂浓度应为试验组使用助溶剂的最高浓度,并且不得超过 100 mg/L。

不需调节试验溶液的 pH 值。如果加入受试物后试验溶液的 pH 值有明显变化,建议重新配制,调节受试物贮备液的 pH 值,使其接近加入受试物前稀释水的 pH 值。用于调节 pH 值的物质不应使贮备液的浓度明显改变,也不应与受试物发生化学反应或产生沉淀。最好使用 HCl 和 NaOH 来调节。

6 试验

6.1 暴露条件

暴露条件包括:

- 持续时间:96 h;
- 承载量:静态和半静态试验系统试验鱼的最大承载量为 1.0 g/L,流水式试验系统承载量可高一些;
- 光照:每天 12 h~16 h;
- 温度:与试验鱼种相适宜(参见附录 A 中表 A.1),保持恒定,变化范围 ± 2 °C;
- 溶解氧:不小于 60%空气饱和值,若不会导致受试物明显损失时可进行曝气;
- 喂食:不进行;
- 干扰:避免可能改变鱼行为的干扰。

6.2 试验鱼数量

空白对照组与各试验浓度组应每组至少 7 尾鱼。

6.3 试验浓度设置

根据预试验结果来选择正式试验合适的浓度范围,至少应设置 5 个浓度组,并以几何级数排布,公比应不大于 2.2。

6.4 试验对照组设置

每一系列设一个空白对照。如使用了助溶剂,应增设一个助溶剂对照。

6.5 观察

至少在 24 h、48 h、72 h 和 96 h 后检查试验鱼的状况。如果试验鱼没有任何肉眼可见的运动,如鳃的扇动,以及碰触尾部后无反应,即可判断该鱼已死亡。观察并记录死鱼数目后,将死鱼从容器中移去。最好在试验开始后 3 h 及 6 h 时观察各试验组鱼的状况。记录可见的试验鱼异常情况(如平衡能力丧失,游泳能力和呼吸功能减弱,颜色变浅等)。

每天至少测定一次 pH 值、溶解氧和温度。

6.6 限度试验

应用本标准时,为证明 $LC_{50} > 100$ mg/L,可以进行浓度为 100 mg/L(有效成分)的限度试验。限度试验组至少使用 7 尾鱼,与对照组使用的鱼数目相等。二项式理论表明:使用 10 尾鱼,没有 1 尾鱼死亡,那么 $LC_{50} > 100$ mg/L 的概率为 99.9%;使用 7 尾、8 尾或 9 尾鱼,没有 1 尾鱼死亡,那么 $LC_{50} > 100$ mg/L 的概率至少为 99%。如果试验鱼发生死亡,则应按本标准的试验程序进行完整的试验。若观察到亚致死效应,应进行记录。

7 质量控制

有效的试验应符合以下条件：

- 试验期间,尽可能维持恒定条件。如有必要,应使用半静态或流水式试验；
- 试验结束时,对照组鱼死亡率不大于 10%,如果每组鱼不到 10 尾则对照组死亡不超过 1 尾；
- 试验期间,试验溶液的溶解氧浓度不小于 60%空气饱和值；
- 试验期间,受试物的实测浓度应不小于 80%配制浓度。如果试验期间受试物实测浓度与配制浓度相差超过 20%,则以受试物实测浓度平均值来确定试验结果。

8 数据与报告

8.1 数据处理

在对数-概率坐标纸上,绘制不同暴露时间下试验浓度对累计死亡率的曲线。用常用统计程序计算出某暴露时间的 LC_{50} 值,并用标准方法计算 95%的置信限^[1-5]。

如果试验数据不足以用标准方法计算 LC_{50} ^[1-5],可用不引起死亡的最高浓度和引起 100%死亡的最低死亡浓度估算 LC_{50} 的近似值,即这两个浓度的几何平均值。

8.2 试验报告

试验报告应包括以下内容：

- a) 受试物质：
 - 物质的物理状态及相关理化特性等；
 - 标识信息。
- b) 试验用鱼：
 - 学名、品系、大小、来源、驯化情况等。
- c) 试验条件：
 - 使用的试验方式,如静态、半静态或流水式,以及曝气、承载量等；
 - 水质特性(pH 值、硬度、温度)；
 - 每 24 h 试验溶液中的溶解氧浓度、pH 值、温度；
 - 对于半静态试验方式,试验液更新前后分别测定的 pH 值；
 - 贮备液及试验溶液配制方法；
 - 配制的试验浓度；
 - 试验溶液中受试物的实测浓度；
 - 每一试验浓度用鱼的数目。
- d) 结果：
 - 试验期间,无死亡发生的最高浓度；
 - 试验期间,导致 100%死亡的最低浓度；
 - 每个推荐观察时间下,各个浓度的累计死亡率；
 - 每个推荐观察时间下的 LC_{50} 值,及其 95%的置信限；
 - 试验结束后的浓度-死亡率曲线图；
 - 确定 LC_{50} 值的统计学方法；
 - 对照组的死亡率；
 - 试验期间,可能会影响试验结果的因素；
 - 鱼的异常反应。

附 录 A
(资料性附录)
推荐试验用鱼种类

推荐试验用鱼种类见表 A.1。

表 A.1 推荐试验用鱼种类

建议的鱼种	建议的试验温度范围/ ℃	建议试验鱼的全长 ^a / cm
斑马鱼 <i>Brachydanio rerio</i>	21~25	2.0±1.0
黑头软口鲮 <i>Pimephales promelas</i>	21~25	2.0±1.0
鲤鱼 <i>Cyprinus carpio</i>	20~24	3.0±1.0
青鳉 <i>Oryzias latipes</i>	21~25	2.0±1.0
虹鳉 <i>Poecilia reticulata</i>	21~25	2.0±1.0
蓝鳃太阳鱼 <i>Lepomis macrochirus</i>	21~25	2.0±1.0
虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	13~17	5.0±1.0
稀有鮡鲫 <i>Gobiocypris rarus</i>	21~25	2.0±1.0 ^[6]
剑尾鱼 <i>Xiphophorus helleri</i>	21~25	2.0±1.0 ^[6]

^a 如果使用的鱼超过推荐的规格,应在报告中说明使用的规格及使用理由。

附 录 B
(资料性附录)
标准稀释水的配制

B.1 氯化钙溶液

将 11.76 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶解于去离子水中,稀释至 1 L。

B.2 硫酸镁溶液

将 4.93 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶解于去离子水中,稀释至 1 L。

B.3 碳酸氢钠溶液

将 2.59 g NaHCO_3 溶解于去离子水中,稀释至 1 L。

B.4 氯化钾溶液

将 0.23 g KCl 溶解于去离子水中,稀释至 1 L。

B.5 标准稀释水制备

制备标准稀释水,所用化学品应是分析纯,蒸馏水或去离子水的电导率应小于或等于 $10 \mu\text{S}/\text{cm}$ 。

将上述四种溶液各 25 mL 加以混合并用去离子水稀释至 1 L。溶液中钙离子和镁离子的总和是 $2.5 \text{ mmol}/\text{L}$ 。Ca 与 Mg 的比例为 4 : 1, Na 与 K 比为 10 : 1。溶液中的酸容量常数 $K_{s,4.3}$ 为 $0.8 \text{ mmol}/\text{L}$ 。

稀释用水需经曝气直到氧饱和为止,然后储存 2 d 备用,在使用前不必再曝气。

参 考 文 献

- [1] Finney D. J. (1978). *Statistical Methods in Biological Assay*. Griffin, Weycombe, U. K
- [2] Litchfield J. T. and Wilcoxon F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol and Exper. Ther.* ,96:99-113
- [3] Sprague J. B. (1969). Measurement of pollutant toxicity to fish. I Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3:793-821
- [4] Sprague J. B. (1970). Measurement of pollutant toxicity to fish. II Utilising and applying bioassay results. *Water Res.* 4:3-32
- [5] Stephan C. E. (1977). Methods for calculating an LC_{50} . In *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation* (edited by Mayer F. I. and Hamelink J. L.). ASTM STP 634, pp 65-84, American Society for Testing and Materials
- [6] 国家环境保护总局《化学品测试方法》编委会主编. 化学品测试方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,2004:190
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化 学 品 鱼 类 急 性 毒 性 试 验
GB/T 27861—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字
2012年4月第一版 2012年4月第一次印刷

*

书号: 155066·1-44709

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 27861-2011