



中华人民共和国国家标准

GB/T 21808—2008

化学品 鱼类延长毒性 14 天试验

Chemicals—Fish, prolonged toxicity: 14-day study test

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

数码防伪

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

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 204(1984 年)《鱼类延长毒性 14 天试验》(英文版)。

本标准做了以下编辑性修订：

——推荐鱼种增加了稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)和剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)。

本标准附录 A 和附录 B 为资料性附录。

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。

本标准负责起草单位：环境保护部化学品登记中心。

本标准参加起草单位：上海市环境科学研究院、环境保护部南京环境科学研究所、沈阳化工研究院安全评价中心。

本标准主要起草人：周红、高桂华、沈英娃、胡双庆、梁丹涛、韩志华、吴颖慧。

化学品 鱼类延长毒性 14 天试验

1 范围

本标准规定了化学品 鱼类延长毒性 14 天试验的方法概述、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准只适用于化学品对淡水鱼类延长毒性 14 天的试验。

对于实验条件下溶解度有限的化学品,也许不一定能确定本标准希望测定的值。

若更长的观察期是有用而适宜的,并且有必要提供包含其他更多信息的测试报告,则本标准也许可以替代鱼的急性毒性测试。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

半静态试验 semi-static test

以定期更换试验介质方式(如 12 h 或 24 h)进行的试验。

2.2

流水式试验 flow-through test

以受试物溶液恒流通过试验容器使试验介质持续更新的方式进行的试验。

2.3

致死效应阈值 threshold level of lethal effect

受试物产生致死效应的最低浓度。

2.4

可观察效应阈值 threshold level of observed effects

试验溶液中受试物表现出除致死效应外其他效应的最低受试物浓度。

2.5

无可观察效应浓度 no observed effect concentration; NOEC

与对照相比,对试验生物未产生显著效应的最高受试物浓度。

3 受试物信息

- a) 水中溶解度;
- b) 蒸气压;
- c) 结构式;
- d) 纯度;
- e) 水溶液中的定量分析方法;
- f) 在水中和光中的稳定性;
- g) 正辛醇-水分配系数;
- h) 快速生物降解试验结果。

4 方法概述

4.1 原理

测试期间,定期测定鱼类致死效应、其他可观察效应浓度和无可观察效应浓度(NOEC),试验进行14 d。必要时再延长1周~2周。

4.2 参比物

本标准无推荐参比物。若测试了某一参比物,应在测试报告中加以说明。

5 仪器设备

实验室常规仪器设备,特别是以下仪器设备是必需的:

- a) 测定水质温度、pH、溶解氧和硬度的仪器;
- b) 温度控制仪;
- c) 化学惰性材料制成的容积适宜的实验容器。

6 试验准备

6.1 系统选择

试验期间,应尽可能维持条件恒定。通常采用流水式试验系统,若适合,也可采用半静态试验系统。

6.2 受试生物

6.2.1 受试生物的选择

可选用一个或多个鱼种,取决于测试实验室。但建议选择鱼类急性毒性试验中所推荐的鱼种,见附录A。选择鱼种应基于几个重要的标准,如,全年的易获得性、易于饲养、方便进行测试、价格低廉、以及生物的和生态的因素等。选择的鱼应健康,无任何可见畸形。

这些鱼可以由渔民或实验室饲养,疾病和寄生虫得到控制,这样健康状况得以保证,出身可知。

若采用推荐鱼种之外的符合上述条件的其他鱼种,须说明理由,按相应的试验条件改编试验方法,写入试验报告。

6.2.2 试验生物的驯养

至少12 d~15 d。所有试验鱼使用前,须在与试验用水相同的水质中驯养至少7 d。应避免任何可能改变试验鱼行为的干扰因素。

光照:每天12 h~16 h光照。

温度:适合于试验鱼种。

溶解氧:不低于80%空气饱和值。

疾病处理:避免进行疾病处理,如有处理应报告。

饲喂:1次/d。

驯养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%,舍弃全组鱼;
- 死亡率在5%~10%之间,继续驯养7 d;
- 死亡率小于5%,该组鱼可用于试验。

6.3 试验用水

6.3.1 水质

可用饮用水(必要时除氯)、高质量的天然水或配制的稀释水,见附录B。水的总硬度为50 mg/L~250 mg/L(以CaCO₃计),pH值为6.0~8.5。用于配制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 $10\ \mu\text{S}/\text{cm}$ 。

6.3.2 试验溶液

将适量受试物溶于所需体积的稀释水中,制成适当浓度的受试物贮备液。

低水溶性受试物的贮备液可用机械分散法制备,或必要时采用对鱼低毒的有机溶剂、乳化剂、分散剂等。这类溶剂在试验溶液中的浓度应不超过 $100\ \text{mg}/\text{L}$ 。

通过稀释贮备液来配制所选浓度的试验液。

试验溶液的 pH 值不需调节。若加入受试物后试验溶液的 pH 值有明显变化,建议重新配制,调整贮备液的 pH 值至与加受试物前试验液的 pH 值相同。用于调节 pH 值的物质不应使贮备液的浓度有明显改变,也不应与受试物发生化学反应或产生沉淀。最好使用 HCl 或 NaOH 来调节 pH 值。

7 试验程序

7.1 试验浓度

选择的试验浓度,应能确定受试物的致死效应、其他可观察效应的阈值和无可观察效应的浓度值。若阈值水平超过 $100\ \text{mg}/\text{L}$,不需进行测试。

如果使用助溶剂,应加设溶剂对照组,对照中溶剂浓度应为试验液中溶剂的最高浓度。

7.2 暴露条件

- 周期:试验周期一般为 14 d,也可延长 1 周~2 周。
- 承载量:半静态试验的最大承载量为 $1.0\ \text{g}/\text{L}$;流水试验系统的承载量可高一些。试验容器的容量应与推荐的承载量相适应。
- 试验生物数:每一浓度组和对照组至少使用 10 尾鱼。
- 光照:每天光照 12 h~16 h。
- 温度:试验温度与试验鱼种相适应,保持恒定,温度变化范围为 $\pm 2\ ^\circ\text{C}$ 。
- 溶解氧:试验期间,试验液溶解氧含量不低于 60% 空气饱和值。
- 饲喂:每日投饵一次或多次,投食量恒定,每次投食量不得超过试验鱼一次需食量。
- 清污:流水式试验系统,每周至少清洗试验水箱内壁两次;半静态试验,可在每次更换试验液时清理一次。

7.3 观察测定

观察和记录鱼的死亡情况,当观测到鱼没有呼吸运动或触碰鱼尾无反应,可判断鱼已死亡,将死鱼从容器中取出,记录死亡数,每天检查一次。

观察和记录其他非致死效应,包括与对照组鱼明显不同的表征、大小和行为,异常游泳行为,外来刺激的不同反应,鱼类外观上的改变,摄食下降或停止,体长和体重改变等。

每周三次记录所有可观察效应。

每周两次测定各容器的溶解氧含量、pH 值和温度。

浓度测定:流水试验,试验开始时测定试验液中受试物浓度;半静态试验,试验开始时、第一次更新试验液前和试验结束时分别测定试验液中受试物浓度。若能证明可以维持足够高的受试物浓度,也可采用化学分析之外的其他适合的程序。

试验开始前,选择试验鱼中有代表性的个体,测量体重和体长。试验结束时,测定所有存活鱼的体重和体长。

8 质量保证与质量控制

- 试验结束时,对照组的死亡率不高于 10%;

- b) 试验期间,试验液的溶解氧含量不低于 60%空气饱和值;
- c) 采用半静态试验系统时,若不会造成受试物的明显损失,则可对试验液充气;
- d) 应有证据证明试验期间受试物浓度维持在较高的水平(受试物浓度应不低于 80%配制浓度)。若与配制浓度的偏差大于 20%,测试结果应以实测浓度为准。

9 数据与报告

9.1 结果解释

如果发现未能维持受试物试验液的稳定性和同质性,应慎重解释所得结果,并注明该试验结果不能重现。

9.2 试验报告

试验报告应包括下述内容:

- a) 受试物:化学鉴定数据。
- b) 受试生物:学名、品系、大小、供应商、预处理等。
- c) 试验条件:
 - 采用试验操作:如半静态或流水式,曝气、承载量等;
 - 水质特征:水质处理情况,包括除氯、溶解氧浓度、pH、硬度、温度等;
 - 每一推荐观察时间试液中的溶解氧浓度、pH、温度和总硬度;
 - 制备贮备液和试验液的方法;
 - 试验液中受试物的浓度及保持情况;
 - 各试验浓度组中鱼的数量;
 - 鱼类急性毒性试验数据。
- d) 结果:
 - 用表列出每一观察时间各浓度组的可观察效应;
 - 绘制产生致死效应或其他效应的浓度随时间变化的曲线;
 - 致死效应阈值;
 - 可观察效应阈值;
 - 无可观察效应浓度(NOEC);
 - 如可能,每一推荐观察时间各浓度组的累积死亡率;
 - 对照组的死亡率;
 - 鱼的行为观察;
 - 试验期间对试验结果可能产生影响的事件;
 - 与本标准的任何偏离。

附 录 A
(资料性附录)
推荐受试鱼种

A.1 推荐受试鱼种(见表 A.1)

表 A.1 推荐受试鱼种

推荐鱼种	推荐试验温度/℃	推荐鱼长 ^a /cm
<i>Brachydanio rerio</i> 斑马鱼	21~25	2.0±1.0
<i>Pimephales promelas</i> 黑头软口鲦	21~25	2.0±1.0
<i>Cyprinus carpio</i> 鲤鱼	20~24	3.0±1.0
<i>Oryzias latipes</i> 青鳉	21~25	2.0±1.0
<i>Poecilia reticulata</i> 孔雀鱼	21~25	2.0±1.0
<i>Lepomis macrochirus</i> 蓝鳃鱼	21~25	2.0±1.0
<i>Oncorhynchus mykiss</i> 虹鳟鱼	13~17	5.0±1.0
<i>Gobiocypris rarus</i> 稀有鮡鲫	21~25	2.0±1.0
<i>Xiphophorus helleri</i> 剑尾鱼	21~25	2.0±1.0
^a 若鱼的大小不在推荐范围内,应报告并说明理由。		

附 录 B
(资料性附录)
合格的配制稀释水示例

- a) 氯化钙溶液:称取 11.76 g 二水合氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),用去离子水溶解,定容至 1 L。
- b) 硫酸镁溶液:称取 4.93 g 七水合硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),用去离子水溶解,定容至 1 L。
- c) 碳酸氢钠溶液:称取 2.59 g 碳酸氢钠(NaHCO_3),用去离子水溶解,定容至 1 L。
- d) 氯化钾溶液:称取 0.23 g 氯化钾(KCl),用去离子水溶解,定容至 1 L。

用于配制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 $10 \mu\text{S}/\text{cm}$ 。

上述 a)~d) 溶液各取 25 mL,混合,用去离子水定容至 1 L。该溶液的钙和镁离子总量为 $2.5 \text{ mmol}/\text{L}$,钙离子:镁离子=4:1,钠离子:钾离子=10:1。

对上述溶液曝气,直至氧饱和。贮存 2 d 左右。使用前不需再曝气。

参 考 文 献

- [1] D. M. M. Adema, in Degradability, Ecotoxicity and Bioaccumulation, Chapter 5, Government Publishing Office, The Hague, 1980.
 - [2] R. Bathe, Arch. Toxicol. Suppl., 1979, 2: 417-423.
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化学品 鱼类延长毒性 14 天试验
GB/T 21808—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

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 13 千字
2008 年 7 月第一版 2008 年 7 月第一次印刷

*

书号: 155066 · 1-32206

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)68533533



GB/T 21808-2008