

UDC 628.515 : 543.062
Z 15



中华人民共和国国家标准

GB/T 15441—1995

GB/T 15441—1995

水质 急性毒性的测定 发光细菌法

Water quality—Determination of the acute toxicity
—Luminescent bacteria test

中华人民共和国
国家标准
水质 急性毒性的测定 发光细菌法
GB/T 15441—1995

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电话:68522112
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*

开本 880×1230 1/16 印张 3/4 字数 14 千字
1996年7月第一版 2004年4月第二次印刷
印数 3 001—3 100

*

书号: 155066·1-12767 定价 10.00 元

*

标目 292—16



GB/T 15441—1995

1995-03-25 发布

1995-08-01 实施

国家环境保护局
国家技术监督局 发布

1 主题内容与适用范围

1.1 主题内容

本标准规定了测定水环境急性毒性的发光细菌法。

1.2 适用范围

本标准适用于工业废水、纳污水体及实验室条件下可溶性化学物质的水质急性毒性监测。

2 方法提要

基于发光细菌相对发光度与水样毒性组分总浓度呈显著负相关($P \leq 0.05$),因而可通过生物发光光度计测定水样的相对发光度,以此表示其急性毒性水平。

水质急性毒性水平按 8 所述条件选用相当的参比毒物氯化汞浓度(以 mg/L 为单位)来表征,或选用 EC_{50} 值(半数有效浓度——以样品液百分浓度为单位)来表征。

3 试剂和材料

本标准所用试剂除另有说明外,均应为符合国家标准分析纯试剂、蒸馏水或同等纯度的水。

3.1 氯化汞 $HgCl_2$ 。

3.2 氯化钠 $NaCl$, 化学纯。

3.3 明亮发光杆菌 T_3 小种(Photobacterium phosphoreum T_3 spp.)冻干粉,安瓿瓶包装,每瓶 0.5 g,在 2~5℃ 冰箱内有效保存期为 6 个月。新制备的发光细菌休眠细胞(冻干粉)密度不低于每克 800 万个细胞;当按 6.2.4 步骤将冻干粉复苏 2 min 后即发光(可在暗室内检验,肉眼应见微光),稀释成工作液后每毫升菌液不低于 1.6 万个细胞(5 ml 测试管)或 2 万个细胞(2 ml 测试管)(均为稀释平板法测定)。在毒性测试仪上测出的初始发光量应在 600~1 900 mV 之间,低于 600 mV 允许将倍率调至“X2”档,高于 1900 mV 允许将倍率调至“X0.5”档。仍达不到标准者,更换冻干粉。

3.4 氯化钠溶液, 3 g/100 ml。

氯化钠 3 g 于玻璃容器内,用量筒加蒸馏水 100 ml。

3.5 氯化钠溶液, 2 g/100 ml。

氯化钠 2 g,加蒸馏水 100 ml,于试剂瓶内,2~5℃ 保存。

3.6 参比毒物氯化汞标准溶液。

0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.20, 0.22, 0.24 mg/L。

3.7 氯化汞母液, $\rho = 2\ 000$ mg/L。

万分之一分析天平精称密封保存良好的无结晶水氯化汞 0.100 0 g 入 50 ml 容量瓶,用 3g/100 ml 氯化钠溶液稀释至刻度,置 2~5℃ 冰箱备用,保存期 6 个月。

3.8 氯化汞工作液, $\rho=2\text{ mg/L}$ 。

用移液管吸氯化汞 2 000 mg/L 母液 10 ml 入 1 000 ml 容量瓶,用 3 g/100 ml 氯化钠溶液定容。再用移液管吸取氯化汞 20 mg/L 液 25 ml 入 250 ml 容量瓶,用 3 g/100 ml 氯化钠溶液定容,将此液倒入配有半微量滴定管的试液瓶,然后用 3 g/100 ml 氯化钠溶液将氯化汞 2 mg/L 溶液按表 1 稀释成系列浓度(一律采用 50 ml 容量瓶)。这些氯化汞稀释液保存期不超过 24 h,超过者务必重配。

表 1 氯化汞工作溶液稀释配制系列(在 50 ml 容量瓶中)

加氯化汞(2 mg/L)数,ml	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
稀释定容后氯化汞浓度,mg/L	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24

4 仪器

4.1 生物发光光度计。

配置 2 或 5 ml 测试管。

当氯化汞标准溶液浓度为 0.10 mg/L 时,发光细菌的相对发光度为 50%,其误差不超过 $\pm 10\%$ 。

4.2 2 ml 或 5 ml 测试样品管(具标准磨口塞,为制造比色管的玻璃料制作,由专业玻璃仪器厂制造),分别适用于相应型号的生物发光光度计。

4.3 微量注射器:10 μl 。

4.4 注射器:1 ml。

4.5 定量加液瓶:5 ml。

4.6 吸管:2、10、25 ml。

4.7 试剂瓶:100 ml。

4.8 量筒:100、500 ml。

4.9 棕色容量瓶:50、250、1 000 ml。

4.10 半微量滴定管(配磨口试液瓶,全套仪器均为棕色):10 ml。

5 样品

5.1 样品的采集和保存

a. 采样瓶使用带有聚四氟乙烯衬垫的玻璃瓶,务必清洁、干燥。采集水样时,瓶内应充满水样不留空气。采样后,用塑胶带将瓶口密封。

b. 毒性测定应在采样后 6 h 内进行。否则应在 2~5℃ 下保存样品,但不得超过 24 h。报告中应写明水样采集时间和测定时间。

c. 对于含固体悬浮物的样品须离心或过滤去除,以免干扰测定。

5.2 样品液的稀释

5.2.1 样品液测定前稀释的条件

5.2.1.1 样品液预试验 取事先加氯化钠至 3 g/100 ml 浓度的样品母液 2 ml 装入样品管,并设一支 CK 管(氯化钠 3 g/100 ml 溶液),按 6 所述测定相对发光度。

5.2.1.2 按 5.2.1.1 测得的样品,相对发光度低于 50% 乃至零,欲以 EC_{50} 表达结果,则须稀释。

5.2.1.3 按 5.2.1.1 测得的样品,相对发光度在 1% 以上,欲以与相对发光度相当的氯化汞浓度表达结果,则不须稀释。

5.2.2 样品液的稀释液

样品液的稀释液一律用蒸馏水,在定容前一律按构成氯化钠 3 g/100 ml 浓度添加氯化钠或浓溶液(母液只能加固体)。

5.2.3 样品液稀释浓度的选择

8.4 测定结果报告内容

a. 实验室室温;

b. 采样地点、日期、时间;

c. 氯化汞浓度或样品稀释百分浓度与相对发光度的相关方程:

$$T = a + bC$$

$$r = \quad P \leq \quad EC_{50\text{氯化汞}} = \quad \text{mg/L}$$

d. 样品 EC_{50} 值(稀释百分浓度)或相对发光度(%)及其相当的氯化汞浓度(mg/L);

e. 测定人及所在单位。

9 方法的精密度

样品 3 次重复测定结果的相对偏差应不大于 15%。

附加说明:

本标准由国家环境保护局科技标准司提出。

本标准由中国科学院南京土壤研究所负责起草。

本标准起草人顾宗濂、谢思琴、周德智、乔鸿泽。

本标准委托中国环境监测总站负责解释。