



中华人民共和国国家标准

GB/T 13266—1991

水质 物质对蚤类(大型蚤) 急性毒性测定方法

Water quality—Determination of the acute toxicity
of substance to Daphnia (*Daphnia magna* straus)

1991-09-14 发布

1992-08-01 实施

国家环境保护局 发布

水质 物质对蚤类(大型蚤)
急性毒性测定方法

Water quality—Determination of the acute toxicity
of substance to Daphnia (*Daphnia magna* straus)

本标准参照采用国际标准 ISO 6341—1982《水质——大型蚤运动抑制的测定》。

本标准用大型蚤 [*Daphnia magna* straus (Cladocera Crustacea)] 为试验生物。测定物质或废水的半数抑制浓度, 半数致死浓度 (24 h-*EC* 50、24 h-*LC* 50 或 48 h-*EC* 50、48 h-*LC* 50), 用于判断物质或废水的毒性程度。

1 适用范围

本标准适用于以下范围:

- 在试验条件下可溶的化学物质 (包括工业原料和产品、食品添加剂、农药、医药等)。
- 工业废水。
- 生活污水。
- 地表水、地下水。

2 原理

2.1 24 h-*EC* 50、48 h-*EC* 50

指在 24 或 48 h 内百分之五十的受试蚤运动受抑制时被测物的浓度。

2.2 运动受抑制 (Immobilization)

反复转动试验容器, 15 s 之内失去活动能力的大型蚤, 被认为运动受抑制。即使其触角仍能活动, 也应算做不活动的个体。

2.3 24 h-*LC* 50、40 h-*LC* 50

指在 24 或 48 h 内百分之五十的受试蚤死亡时被测物的浓度, 以受试蚤心脏停止跳动为其死亡标志。

3 试验材料

3.1 试验生物为大型蚤 [(*Daphnia magna* straus) (甲壳纲, 枝角亚目)]。

保持良好的培养条件, 使大型蚤的繁殖被约束在孤雌生殖的状态下 (见附录 A)。

选用实验室条件下培养 3 代以上的、出生 6~24 h 的幼蚤为试验蚤。试验蚤应是同一母体的后代。

3.2 试验用水:

3.2.1 配制人工稀释水为试验用水。新配制的标准稀释水 pH 为 7.8 ± 0.2 , 硬度 250 ± 25 mg/L (以 CaCO_3 计) Ca/Mg 比例接近 4:1, 溶解氧浓度在空气饱和值的 80% 以上, 并不含有任何对大型蚤有毒的物质。

人工稀释水用电导率 $10 \mu\text{S}/\text{cm}$ ($1 \text{ mS}/\text{m}$) 以下的蒸馏水或去离子水 (以下简称水) 按下述方法配

制。

a. 氯化钙溶液

将 11.76 g 氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于水中稀释至 1 L。

b. 硫酸镁溶液

将 4.93 g 硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)溶于水中稀释至 1 L。

c. 碳酸氢钠溶液

将 2.59 g 碳酸氢钠(NaHCO_3)溶于水中稀释至 1 L。

d. 氯化钾溶液

将 0.25g 氯化钾(KCl)溶于水中稀释至 1 L。

各取以上四种溶液 25 mL 混合,稀释至 1 L。必要时可用氢氧化钠溶液或盐酸溶液调节 pH 值,使其稳定在 7.8 ± 0.2 。标准稀释水应容许大型蚤在其中生存至少 48 h,并尽可能检查稀释水中不含有任何已知的对大型蚤有毒的物质。例如:氯、重金属、农药、氨或多氯联苯。

3.2.2 如果所进行的试验需要使用其他稀释水或改变稀释水的 pH,应在试验报告中注明所用稀释水的性质。要求稀释水的硬度在 150~300 mg/L(以 CaCO_3 计)范围内,Ca/Mg 比例接近 4:1。pH 不得低于 6.5 或不得高于 8.5,同一试验 pH 波动不得大于 0.5。

3.3 重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$),分析纯。

4 试验液的制备

4.1 试验物质溶液的配制

4.1.1 试验物质可以是可溶于水的固体、液体或气体,但要求组分一定,具有代表性、重复性。

4.1.2 易溶于水的试验物质可直接加到稀释水里,也可以溶解在蒸馏水或去离子水中配成贮备液加入到稀释水中配成试验液,每升稀释水中的贮备液要少于 10 mL。贮备液应当低温保存。

4.1.3 难溶于水的物质,可用适当的方法,将其溶解和分散。包括使用超声波装置及其他低毒溶剂增溶。如果使用溶剂,溶剂在试验液中的浓度不应超过 0.5 mg/L,并应在试验的同时设两个对照组,一组用稀释水,另一组用最大浓度的溶剂。

4.2 工业废水试验液的制备

4.2.1 样品的采集及处理:采集废水样品时,应将采样瓶充满水样,不留空气。样品采集后应立即进行试验。如果样品采集后 6 h 之内不能进行试验,则必需将水样冷冻保存($0 \sim 4^\circ\text{C}$),并应尽可能缩短水样在试验前保存的时间。

4.2.2 生产流程用水不稳定的工业废水,应在 24 h 之内,每隔 6 h 瞬时采样一次,分别测定每个样品,求得其最大毒性。

4.2.3 废水样品可以用稀释水稀释配成不同浓度的试验液。

5 试验容器和仪器

5.1 试验容器可采用 100 mL 小烧杯或结晶皿等玻璃制品,加盖表面皿。为防止玻璃容器对试验物质的吸附,试验前可用低浓度试验溶液浸泡一天。试验结束后立即倒空容器,刷洗、消除任何微量的试验液。

5.2 量筒、容量瓶、移液管、吸管、玻璃缸、尼龙筛网等器皿。

5.3 溶解氧测定仪、pH 计、温度计、电导仪。

6 环境条件

6.1 试验温度要求基本稳定,变化不超过 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。试验前的培养温度要求与试验温度基本一致。毒性试验在 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 或 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下进行。