



中华人民共和国国家标准

GB/T 13267—1991

水质 物质对淡水鱼(斑马鱼) 急性毒性测定方法

Water quality—Determination of the
acute toxicity of substance to a freshwater fish
(*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan)

1991-09-14 发布

1992-08-01 实施

国家技术监督局
国家环境保护局

发布

中华人民共和国国家标准

水质 物质对淡水鱼(斑马鱼) 急性毒性测定方法

GB/T 13267—1991

Water quality—Determination of the
acute toxicity of substance to a freshwater fish
(*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan)

本标准参照采用国际标准 ISO 7346 1-3《水质——物质对淡水鱼(斑马鱼 *Brachydanio rerio*)急性致死毒性的测定》。

本标准可根据被测物质的性质确定采用静水式、换水式或流水式试验。

推荐采用斑马鱼并不排除使用其他鱼种,但对试验条件需做相应的改变,例如稀释水性质及温度。

除斑马鱼(*Brachydanio rerio*)外,在不改变本标准的试验条件下,青鳉鱼(*Oryzias latipes*)(真骨鱼总目 青鳉科)亦可供使用。

本标准使用重铬酸钾($K_2Cr_2O_7$)为参考毒物。在 24 h 试验期间重铬酸钾的 LC_{50} 值必须处于 200~400 mg/L 之间。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了在确定的试验条件下测定水溶性物质引起斑马鱼急性致死毒性大致范围的方法——静水法、换水法和流水法。

本标准适用于水中单一化学物质的毒性测定。工业废水的毒性测定也可使用此方法。(废水样品的采集、保存、干扰的处理见附录 A。)

2 原理

在确定的试验条件下用斑马鱼为试验生物测定毒物在 48 h 或 96 h 后引起受试斑马鱼群体中 50% 鱼致死的浓度。这个浓度以 24 h, 48 h, 72 h 或 96 h LC_{50} 表示。

3 定义

3.1 静水式试验

试验期间不需更换试验液,限于研究那些化学性质比较稳定的物质。

3.2 换水式试验

每 24 h 或更短的时间内更新一次试验液。可用于试验这类物质:它们的浓度在更换试验液的时间内相对稳定(亦即波动在初始值的 20% 之内)。

3.3 流水式试验

试验液连续更新;可用于大多数物质,包括水中不稳定的物质。

4 试验生物和试验溶液的制备

4.1 试验生物

试验鱼种应是斑马担尼鱼(真骨鱼总目,鲤科)[*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei Cyprinidae)]。试验鱼体长 30 ± 5 mm, 体重 0.3 ± 0.1 g, 选自同一驯养池中规格大小一致的幼鱼。试验前该鱼群应在与试验时相同的环境条件下, 在连续曝气的水中至少驯养两周。试验前 24 h 停止喂饲, 每天清除粪便及食物残渣。驯养期间死亡率不得超过 10%, 如果超过 10%, 则该批鱼不得用作试验。

试验鱼应无明显的疾病和肉眼可见的畸形。试验前两周内不应对其做疾病处理。斑马鱼驯养、繁殖的环境参数见附录 B。

4.2 标准稀释水

新配制的标准稀释水 pH 为 7.8 ± 0.2 , 硬度为 250 mg/L 左右(以 CaCO_3 计), 用蒸馏水或去离子水由下面 4 种溶液制备。

a. 氯化钙溶液

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

b. 硫酸镁溶液

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

c. 碳酸氢钠溶液

将 2.59 g 碳酸氢钠(NaHCO_3)溶于水中并稀释至 1 L。

d. 氯化钾溶液

将 0.23 g 氯化钾(KCl)溶于水中并稀释至 1 L。

将以上四种溶液各取 25 mL 加以混合并用蒸馏水稀释至 1 L。将制备好的稀释水曝气至溶解氧浓度达到空气饱和值(ASV), 并将 pH 稳定在 7.8 ± 0.2 。如果需要, 用氢氧化钠溶液或盐酸调节 pH, 这样制备的稀释水试验前不需强制曝气。

4.3 制备试验物质储备液

配制试验物质储备液所用试剂至少为分析纯。将已知量的试验物质溶于一定体积稀释水、去离子水或蒸馏水中。储备液应当天配制。对于化学性质较稳定的物质, 可配制供两天以上使用的溶液, 配好后低温保存。溶解低溶解度的物质时, 可使用超声波装置, 也可加入对鱼低毒的有机溶剂。有机溶剂在试验溶液中的浓度不应超过 0.1 mg/L。并应同时进行两组对照试验, 一组含有的溶剂为全部试验溶液中的最高浓度, 另一组则不含溶剂或试验物质。

4.4 试验溶液的配制及浓度的选择

向稀释水中加入适当的试验物质储备液, 使达到所需要的浓度。

配制试验溶液时, 按几何级数间距选择浓度。如 8、4、2、1、0.5 等。在测定废水样品时, 可以百分比体积浓度按几何级数间距选择浓度。

5 仪器设备

试验容器用玻璃或其他化学惰性物质制成, 应不明显吸附试验物质。

常用设备、尼龙或其他软惰性材料制成的抄网, 应专网专用。

5.1 试验容器

静水式、换水式试验所用的容器应有足够大的容积, 水量一般以鱼的负荷 1 克鱼/升水计算。试验介质与空气间有足够大的界面(每 10 L 介质要有大约 800 cm² 的介面积), 并备有牢固的密封盖。流水式试验的容器, 可用多颈的圆底玻璃烧瓶(容积 2 L), 带有磨口的玻璃接口(见图 1), 或用类似的玻璃仪器。使用多颈圆底烧瓶时, 一个颈上安有标准进口管, 第二个安出口管的颈上应装一个粗孔过滤器。

初次使用的试验容器用前应仔细清洗。试验后, 倒空容器, 以适当的手段清洗, 用水冲去痕量试验物质及清洗剂, 干燥后备用。试验容器临用前用稀释水冲洗。