



中华人民共和国国家标准

GB/T 16310.1~16310.5—1996

船舶散装运输液体化学品危害性 评价规范

Specification on evaluation methods of hazards of
liquid chemicals transported in bulk by shipping

1996-05-16 发布

1996-12-01 实施

国家技术监督局 发布

目 次

GB/T 16310.1—1996	船舶散装运输液体化学品危害性评价规范	水生生物急性毒性试验方法 …	1
GB/T 16310.2—1996	船舶散装运输液体化学品危害性评价规范	水生生物积累性试验方法 ……	5
GB/T 16310.3—1996	船舶散装运输液体化学品危害性评价规范	水生生物沾染试验方法 ……	10
GB/T 16310.4—1996	船舶散装运输液体化学品危害性评价规范	哺乳动物毒性试验方法 ……	14
GB/T 16310.5—1996	船舶散装运输液体化学品危害性评价规范	危害性评价程序与污染 分类方法 ……	23

前 言

船舶散装液体危害性评价规范系根据 MARPOL 73/78 附则 I 的要求,为船舶散装运输的液体化学品的污染分类而进行的污染危害性评价和污染分类的方法,其危害评价和分类的原则和内容系根据附则 I 中有害液体物质分类准则(附则 I 之附录 1)以及海洋污染科学专家组关于船运有害物质危害性评价的原则确定。评价内容包括:1. 水生生物积累试验;2. 水生生物沾染试验;3. 水生生物急性毒性试验(即本标准);4. 哺乳动物毒性试验;5. 休息环境舒适性影响;6. 分类程序和方法。鉴于导则中危害性 C(经口急性毒性)及 D(皮肤接触和吸入毒性)均为哺乳动物试验内容,故合为一个分标准;另外,环境舒适性的评价系根据物质对人的毒性、刺激性以及由其理化特性决定的对环境影响的持久性等综合评价,无具体试验方法,所以不单列分标准,而并入评价程序和分类中。

本标准由中华人民共和国交通部提出。

本标准起草单位:交通部水运科学研究所负责起草。

本标准起草人:赵前、张秀芝。

中华人民共和国国家标准

船舶散装运输液体化学品危害性评价规范

水生生物急性毒性试验方法

GB/T 16310.1—1996

Specification on evaluation methods of hazards of liquid
chemicals transported in bulk by shipping—Acute toxicity
testing methods for aquatic organism

1 范围

本标准规定了水生生物急性毒性试验方法,包括鱼类急性毒性试验,大型蚤急性毒性试验和卤虫急性毒性试验。

本标准适用于船舶散装运输液体化学品的危害性评价和污染分类。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 13266—91 水质 物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法

GB/T 13267—91 水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法

JT 2013—89 溢油分散剂技术条件

MARPOL 73/78 附则Ⅱ 控制散装有毒液体物质污染规则

3 定义

本标准采用下列定义。

液体化学品 liquid chemicals

系指那些温度为 37.8℃时蒸汽压力不超过 2.8 kPa/cm² 的物质

4 原理

通过鱼类急性毒性试验,大型蚤急性毒性试验和卤虫急性毒性试验,得到化学品对水环境不同类别、不同层次生物的急性毒性试验数据,为化学品的综合评价提供依据。本标准中鱼类急性毒性试验方法推荐斑马鱼为试验鱼种,但也可采用其他鱼种,如青鱼、草鱼、鲢鱼、鳙鱼、鲤鱼、虹鳟等。

5 试验条件

5.1 试验溶液

5.1.1 对水溶性物质,可用蒸馏水或去离子水当天配制储备液,若受试物为化学稳定性很好的物质,可一次配制供两天以上使用的储备液。按试验要求浓度稀释储备液,配制不同浓度的试验溶液。

5.1.2 对难溶于水的物质,可借助于低毒助溶剂将其配制成一定浓度的储备液,再根据需要稀释配制成系列浓度试验液。在保证试验液混合均匀的前提下,尽可能减少溶剂的使用量。

国家技术监督局 1996-05-16 批准

1996-12-01 实施

5.1.3 对于自乳化性物质或借助于乳化剂能分散于水中的物质,采用 JT 2013—89 中分散剂毒性试验装置,通过定量加入,连续搅拌的方法获得均匀、稳定的试验溶液(仅适用于鱼类毒性试验)。

5.2 选择半静态供液方式并增加换液次数(如 8h 一次)。

6 鱼类急性毒性试验方法

鱼类急性毒性试验方法按 GB/T 13267。

7 大型蚤急性毒性试验方法

大型蚤急性毒性试验方法按 GB/T 13266。

8 卤虫急性毒性试验方法

8.1 原理

在规定的条件下,将卤虫(*Artemia salina*)卵孵化一天后的无节幼虫置于一系列已知浓度的被测物溶液中,48 h 后,由不同浓度溶液中无节幼虫死亡的数量求出该时间内受试物使 50% 的卤虫无节幼虫死亡的浓度,即半致死浓度,记作 48 h LC_{50} 。

8.2 试验材料

8.2.1 稀释水:使用人工海水,按配方加入试剂级化学药品,用蒸馏水或去离子水配制。

人工海水配方:

化学品名称	最终浓度,mg/L
NaCl	31 800
MgSO ₄	7 740
MgCl ₂	6 000
CaCl ₂	1 530
KCl	70
NaHCO ₃	2 000

8.2.2 试验生物

8.2.2.1 试验生物为卤虫卵孵化后的无节幼虫,卤虫卵可由市场购得,在干燥环境中保存,每批试验应使用相同来源的卤虫卵。

8.2.2.2 孵化

在玻璃容器中放入适量人工海水,按每升水 0.1~0.2 g 的比例加入卤虫卵,尔后置于恒温箱中,25 ±1℃ 下恒温培养。25 h 后,把孵化容器从恒温培养箱中取出,置于光亮处,用带吸头的吸管把幼虫吸出,放入已装有少量人工海水的烧杯中备用。

8.2.3 仪器、设备

8.2.3.1 试验容器和其他有可能与生物接触的器皿均属非生物活性物质,如玻璃容器,聚乙烯塑料容器等。

8.2.3.2 烧杯:50 mL、100 mL

结晶皿:200 mL

吸管、聚光灯。

8.2.3.3 恒温光照培养箱或恒温间。

8.2.3.4 其他常规试验仪器、设备。

8.3 试验设计

8.3.1 试验均设空白对照组,对照组只加稀释水,不加受试物质。如果使用助溶剂,则要加设含助溶剂的空白,以试验系列中使用的最高助溶剂浓度为准。

8.3.2 每个浓度(包括对照组)至少有两个重复样。

8.3.3 试验结果只有在空白样死亡率低于10%时有效。

8.3.4 通过预试验得到半致死浓度存在的区间,以确定正式试验的浓度范围。通过正式试验求出半致死浓度。

8.4 试验步骤

8.4.1 卤虫卵孵化后,立即收集其无节幼虫,用于试验。

8.4.2 按等对数间距设置五个试验浓度,试验溶液配制见4.1。

8.4.3 试验在200 mL结晶皿中进行,先把10只随机吸取的幼虫移至事先装有20 mL人工海水的烧杯中,在结晶皿中加入80 mL人工海水,按100 mL总体积配制设定浓度的试验液,待所有试验液配好后,依次把烧杯中的20 mL人工海水和10只幼虫倒入结晶皿中。

8.4.4 把装有试验液和幼虫的结晶皿置于恒温光照培养箱中(或其他恒温环境)48 h,其间保持光照强度为2 000 lx左右,温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

8.4.5 48 h后,中止试验,记录死亡数。

8.4.6 幼虫死亡的判别方法:把结晶皿置于黑色底面上,手持可移动聚光光源照向结晶皿,先使光线与皿底平行,观察皿底(一般死亡幼体都沉至皿底),尔后使光源平行上移,逐层观察,同时记录死亡数和皿中幼虫总数,判断死亡时,用针触及幼虫身体,无论幼虫表现出任何形式的运动,都视为存活。

8.4.7 结果处理

LC_{50} 值的估算:由各浓度试验结果,按内插法画图估算得到,也可用概率单位法和寇氏修正法求出 LC_{50} 值和95%置信限。

8.5 试验报告内容

8.5.1 试验物质来源,名称,物、化性质及其他有关资料。

8.5.2 卤虫来源,孵化方式。

8.5.3 评价试验有效性需考虑以下内容:

- a) 试验物质溶液稳定性及换水次数;
- b) 对照组死亡率。

8.5.4 稀释水、储备液、试验液的配制方法。

8.5.5 试验结果,数据处理,结论,讨论。

8.5.6 方法依据及参考文献。

前 言

船舶散装液体危害性评价规范系根据 MARPOL 73/78 附则 II 的要求,为船舶散装运输的液体化学品的污染分类而进行的污染危害性评价和污染分类的方法,其危害评价和分类的原则和内容系根据附则 II 中有害液体物质分类准则(附则 II 之附录 1)以及海洋污染科学专家组关于船运有害物质危害性评价的原则确定。评价内容包括:1. 水生生物积累性试验;(即本标准);2. 水生生物沾染试验;3. 水生生物急性毒性试验;4. 哺乳动物毒性试验;5. 休息环境舒适性影响;6. 分类程序和方法。鉴于导则中危害性 C(经口急性毒性)及 D(皮肤接触和吸入毒性)均为哺乳动物试验内容,故合为一个分标准;另外,环境舒适性的评价系根据物质对人的毒性、刺激性以及由其理化特性决定的对环境影响的持久性等综合评价,无具体试验方法,所以不单列分标准,而并入评价程序和分类中。

本标准由中华人民共和国交通部提出。

本标准起草单位:交通部水运科学研究所负责起草。

本标准起草人:张东宝、张毅、张秀芝。

中华人民共和国国家标准

船舶散装运输液体化学品危害性评价规范 水生生物积累性试验方法

GB/T 16310.2—1996

Specification on evaluation methods of hazards of liquid chemicals
transported in bulk by shipping—Bioaccumulation
testing method for aquatic organism

1 范围

本标准规定了在确定的试验条件下测定化学品在斑马鱼中积累特性的方法。

本标准适用于船舶散装运输液体化学品的积累特性的测定。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 13267—91 水质 淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法

MARPOL 73/78 附则Ⅱ 控制散装有毒液体物质污染规则

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 生物浓缩常数 *BCF* biological concentration factor

稳态下,试验鱼体中的试验物质浓度(C_f)与水环境试验物质浓度(C_w)之比。

3.2 吸收 uptake

试验鱼从水中摄取试验物质。

3.3 释放 elimination

积累了一定量化学品的试验鱼被投放至清洁环境后,其吸收的试验物质因代谢而逐渐排出体外的过程。

3.4 稳态 steady-state

在一定的试验浓度下,鱼体从水中吸收及向水中释放试验物质的量相等的状态。

3.5 半衰期 γ depuration half-life

试验物质被生物体排出一半量所需时间。

3.6 初始残留量 *R₀* original remains

释放试验开始时,试验物质在鱼体内的含量。

3.7 液体化学品 liquid chemicals

系指那些在温度为 37.8℃ 时蒸汽压力不超过 2.8 kPa/cm² 的化学品。

4 原理

在确定的试验条件下,通过2~4周的吸收试验及其后的释放试验,测定化学品在鱼体内的生物浓缩常数和生物半衰期,由此评价化学品的生物积累性。

5 试验生物和试验溶液的配制

5.1 试验生物

试验鱼种是斑马担尼鱼(真骨鱼总目、鲤科)[*Brachydanio rerio* Hamiltun-Buchanan (Teleostei: cyprinidae)]。试验鱼体长 30 ± 5 mm,体重 0.3 ± 0.1 g,选自同一驯养池中来源相同的鱼。试验前该鱼群应在与试验条件相同的环境条件下,在溶解氧充足的水中至少驯养两周。试验前24 h停止喂食,每天清除粪便及食物残渣。驯养期间死亡率不超过5%,否则,该批鱼不得用作试验鱼。

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。

5.2 试验稀释水

将自来水自然曝气三天或用充气泵曝气1 h,使溶解氧达到饱和值,氯基本除尽。pH值 7.8 ± 0.5 。

5.3 制备试验物质储备液

配制试验物质储备液所用试剂为分析纯,将已知量的试验物质溶于一定体积的稀释水、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。对于难溶解的物质,可使用超声波装置,也可加入对鱼低毒、无积累特性的助溶剂。并应同时进行两组不含试验物质的对照试验。一组含有的助溶剂为试验溶液中的最高浓度,另一组是不含助溶剂的稀释水。

6 仪器设备

试验容器用玻璃或其他惰性物质制成,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用。

6.1 试验容器应有足够大的容积,水量一般按每升水1 g鱼计算。试验介质与空气间有足够大的界面(每10 L试验液要有大约800 cm²的界面面积)。初次使用的试验容器用前应仔细清洗。试验后,倒空容器,用清洗剂清洗,再用大量清水冲洗,干燥后备用。试验容器临用前用稀释水冲洗。

6.2 脂肪提取器

6.3 提取及测试生物体内残留试验物质所需的其他仪器。

6.4 萃取及测试水中试验物质所需的其他仪器。

7 试验条件

7.1 试验溶液的配制与贮存、鱼的管理及全部操作和积累试验都应在无污染物的大气环境中进行。

7.2 试验液中溶解氧不少于4 mg/L,试验期间水温选择18~25℃。试验温度波动不超过1℃。

7.3 每天在换液前1~2 h投食一次,投饵量为20 mg/g鱼。

8 试验步骤

8.1 根据试验物质对斑马鱼的96 hLC₅₀,确定两个试验浓度:高浓度不超过 $1/50\times LC_{50}$,低浓度高于化学品在水中检出限的2.5倍。

8.2 取三个容器,均加入稀释水,其中1个为对照试验,另两个加入不同量储备液以制备8.1条设定的2个浓度的试验液。如果用助溶剂溶解试验物质,则需按5.3条设置含助溶剂的对照试验。将试验液恒温后,按下列方法向各浓度中投放100条鱼。

用尼龙或其他软惰性材料编织的小孔抄网,从驯养鱼群中随机捞鱼放入试验容器中,在鱼转移过程

中,因操作不慎掉下之鱼或其他操作不善之鱼弃去不用,所有的鱼须在 30 s 内转移完毕。

8.3 每 8~24 h 更新一次试验液(视试验物质的性质,DO 等具体情况而定)。转移鱼时从低浓度向高浓度过渡,避免因使用抄网造成各容器间试验物质的明显转移。

8.4 建立试验生物体内残留试验物质的提取、浓缩和分析方法。

8.5 建立水中试验物质浓度的测试方法。

8.6 取样

8.6.1 对于辛醇/水的分配系数的对数($\log P_{ow}$)不大于 5 的物质,吸收试验进行 2 周,取样日程为试验开始后的第 3、5、8、9、10、11、12、13、14 天,对于 $\log P_{ow} > 5$ 的物质,吸收试验进行 4 周,取样日程为试验开始后的第 10、15、20、22、23、24、25、26、27、28 天,每次采集 7 条鱼组成一个样本。取鱼样的同时采取适量水样。

8.6.2 高浓度组吸收试验结束后,立即将鱼转入清水中,用流水系统进行释放试验,释放时间为吸收试验时间的 2 倍。采样时间为试验总时间的 0.0278、0.0556、0.1111、0.2222、0.3333、0.5000、0.6667、0.8333、1.000 倍。每次采集 7 条鱼组成一个样本。

8.7 样品处理

鱼样先用清水冲洗,去除吸附于体表的试验物质及其他杂质,用滤纸吸干体表的水,然后用解剖针刺入鱼脑或剪断鱼鳃盖以上的脊髓,将鱼处死。称量并记录样本总湿重。将等重量的无水硫酸钙或无水硫酸镁与鱼样一同研磨,使其脱水。混匀后用适当溶剂在脂肪提取器中抽提若干时间,直至鱼组织中试验物质全部转移至溶剂中,将所得溶液浓缩至适当体积。水样亦用有机溶剂萃取,并浓缩至适当体积。样品采集后应立即进行分析或将生物样品称重后保存在冰箱中。水样若不能立即分析须用有机溶剂萃取后保存。

在合适的测试条件下,分析水样及鱼样中试验物浓度。

8.8 对照组试验鱼的取样及样品处理按 8.6 及 8.7 条进行。

8.9 每天至少在采样同时测一次 DO、pH 及温度。

9 结果的表述

9.1 计算 BCF

将吸收试验中 C_f (鱼体中化学品浓度)及 C_w (水中化学品浓度)的变化对时间作图,检查试验是否达到稳态。由稳态下 C_f 对 C_w 的比值,求得生物浓缩常数 BCF。

9.2 计算生物半衰期(γ)

将释放试验中的鱼体内残留量的倒数 $1/R_t$ 对时间作图,所得到的应是直线,并符合下列方程:

$$1/R_t = K \times t + C$$

$$C = 1/R_o$$

由图中得到 K 及 C ,则:

$$\gamma = 1/(K \times R_o)$$

式中: K ——释放速率常数;

C ——常数;

t ——时间;

R_t ——试验物在鱼体内残留量。

10 试验报告

在试验报告中,要求列出下列资料及数据:

a) 试验条件,控温及曝气情况;

b) 与试验有关的化学、生物和物理数据,包括驯养鱼的详细情况及每升水中载鱼克数;

- c) 配制稀释水,储备液及试验液的方法。试验用水特性、pH、硬度、DO 等;
 - d) 列表表示不同浓度试验液的 C_i 及 C_w 数据,说明采用的化学分析方法;
 - e) 试验鱼及对照鱼的死亡率,行为反应异常的情况;
 - f) 记录试验时间,取样时间;
 - g) 计算 BCF 、 γ 。
-

前 言

船舶散装液体危害性评价规范系根据 MARPOL 73/78 附则 I 的要求,为船舶散装运输的液体化学品的污染分类而进行的污染危害性评价和污染分类的方法,其危害评价和分类的原则和内容系根据附则 I 中有害液体物质分类准则(附则 I 之附录 1)以及海洋污染科学专家组关于船运有害物质危害性评价的原则确定。评价内容包括:1. 水生生物积累试验;2. 水生生物沾染试验(即本标准);3. 水生生物急性毒性试验;4. 哺乳动物毒性试验;5. 休息环境舒适性影响;6. 分类程序和方法。鉴于导则中危害性 C(经口急性毒性)及 D(皮肤接触和吸入毒性)均为哺乳动物试验内容,故合为一个分标准;另外,环境舒适性的评价系根据物质对人的毒性、刺激性以及由其理化特性决定的对环境影响的持久性等综合评价,无具体试验方法,所以不单列分标准,而并入评价程序和分类中。

本标准由中华人民共和国交通部提出。

本标准起草单位:交通部水运科学研究所负责起草。

本标准起草人:赵前、张秀芝。

中华人民共和国国家标准

船舶散装运输液体化学品危害性评价规范

水生生物沾染试验方法

GB/T 16310.3—1996

Specification on evaluation methods of hazards of liquid
chemicals transported in bulk by shipping—Taint testing
method for aquatic organism

1 范围

本标准规定了水生生物沾染试验方法。

本标准适用于船舶散装运输液体化学品的危害性评价和污染分类。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

ISO 4120—1983 感官分析——方法——三角试验

GB/T 16301.1—1996 船舶散装运输液体化学品危害性评价规范 水生生物急性毒性试验方法

MARPOL 73/78 控制散装有毒液体物质污染规则

3 定义

本标准采用下列定义。

液体化学品 chemicals

系指那些在温度为 37.8℃ 时蒸汽压力不超过 2.8 kPa/cm² 的物质。

4 原理

由于化学品的存在,使所在水体中鱼类肉质产生异常气味或异常味的现象称为沾染。在特定试验条件下,把试验鱼置于一定浓度的化学品溶液中,经过一定的试验时间后,再由评检人员对试验鱼肉制成的食品进行感官评价,经数据统计处理以确定该浓度下化学品是否沾染。本标准的感官评价采用三角试验法。

5 试验生物及试验浓度

5.1 选用易得到、易饲养的经济鱼种,如虹鳟、罗非鱼等。试验鱼应为健康的成鱼(体重>100 g)。

5.2 试验鱼驯养七天,试验前一天停食,试验期间不喂食。

5.3 按 0.1 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L 三种浓度配制试验液,但其最高浓度不得大于该物质 48 hLC₅₀ 的 1/10。试验液的配制按 GB/T 16301.1—1996 中 5.1 配制。

6 试验条件

- 6.1 采用半静态方式,试验期间保证试验液浓度不低于起始浓度的50%。
- 6.2 毒性试验时间为48 h。
- 6.3 毒性试验期间及试验结束时,试验鱼不能出现死亡或其他异常情况,用于感官评定的鱼必须是行为正常的个体。
- 6.4 其他试验条件如水质、试验负荷等,按 GB/T 16310.1—1996

7 试验步骤

7.1 毒性试验

7.1.1 以0.1 mg/L、1 mg/L、10 mg/L三种浓度进行毒性试验,每个浓度设平行样。

7.1.2 另设三个空白对照,空白样只加等量的稀释水。

7.2 样品制备

7.2.1 毒性试验结束后,立即把试验鱼处死,清除内脏、去皮、去鳞、去头、去骨,得净肉。冲洗干净后,将同一浓度不同鱼体的净肉混放在同一食品袋中。若2 h之内不进行感官评定,则应用塑料膜把鱼肉包裹好,贮存在冰箱里,在0℃条件,最多贮存48 h。

7.2.2 将盛有鱼肉的食品袋悬挂于沸水中,在袋中可加一些玻璃棒使袋子下沉,袋口扎好,但要稍留缝隙,煮15~20 min。

也可用其他方法将鱼肉蒸熟,如用微波炉或蒸汽蒸熟,但要注意作好隔离,防止在蒸熟过程中不同浓度样品间的沾染转移。

7.2.3 样品制备

把同一浓度不同鱼体的熟肉混匀,分装到磨口称量皿中,每个称量皿至少放入10 g鱼肉,立即盖严,并以随机数字编号,记录样品编号及对应浓度,尔后置于50℃恒温箱中备检。

7.3 感官评检

7.3.1 需15~20人作为评检员,评检员不得有味觉和嗅觉缺陷,并且在试验前对正常试验鱼蒸熟鱼肉的气味和味道以及三角试验法有所了解。试验执行人员不参加感官评检。

7.3.2 本方法规定以鱼肉的气味正常与否作为评检指标。

7.3.3 按ISO 4120—1983三角试验法中强制选择法进行感官评检。

7.3.4 记录各组评检员的评检结果,即选出单样的称量皿编号。

8 数据处理

用评检员人数和正确鉴别出单样的评检人员数对照查表(ISO 4120附表),在5%显著水平确定试验样与空白样是否具有差异,从而确定受试化学品在该试验浓度是否具有沾染作用。

9 试验报告

试验报告包括下列内容:

- a) 受试化学品名称,来源,物、化性质等基础资料;
- b) 试验鱼种、来源、驯养方式、个体大小及染毒试验后是否正常;
- c) 试验溶液的配制;
- d) 供液方式及试验液的更换情况;
- e) 试验条件及水质状况;
- f) 评检人员来源、人数;
- g) 样品制备过程;

- h) 沾染评检分组情况及各组的组合形式；
 - i) 试验时间、评检数据及数据处理；
 - j) 试验结果。
-