

化学品安全 检验检测方法 国家标准汇编

生态毒理与降解蓄积

全国危险化学品管理标准化技术委员会化学品毒性检测分技术委员会
中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所
国家质检总局进出口化学品安全研究中心
中国标准出版社

编

 中国标准出版社



化学品安全检验检测方法 国家标准汇编

生态毒理与降解蓄积

全国危险化学品管理标准化技术委员会化学品毒性检测分技术委员会
中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所
国家质检总局进出口化学品安全研究中心
中国标准出版社

编

中国标准出版社

北京

图书在版编目(CIP)数据

化学品安全检验检测方法国家标准汇编. 生态毒理与降解蓄积/全国危险化学品管理标准化技术委员会化学品毒性检测分技术委员会, 中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编. —北京: 中国标准出版社, 2012

ISBN 978-7-5066-6804-0

I. ①化… II. ①全… ②中… III. ①化工产品-危险物品管理-安全管理-国家标准-汇编-中国②化工产品-环境生态学-毒理学-降解-国家标准-汇编-中国

IV. ①TQ086.5-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 131896 号

中国标准出版社出版发行

北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100013)

北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

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 33.75 字数 1 020 千字

2012 年 7 月第一版 2012 年 7 月第一次印刷

*

定价 174.00 元

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)68510107

出版说明

联合国将化学品安全管理提升到战略高度,欧盟、美国与日本等发达国家也在法律和机制上日益完善,确保化学品安全管理国家战略目标的实现。化学品安全检验检测数据是实施化学品安全管理的技术基础,随着各国对保护人类健康和保护环境意识的不断增强以及本国化学品安全管理制度的不断改善,各国对化学品安全检验检测技术和方法的需求日益迫切。目前,欧盟、美国等发达国家已建立了完善的化学品安全检验检测技术标准体系。

近几年,我国高度重视化学品安全检验检测方法标准体系的建设与完善。在国家标准化管理委员会直接领导下,全国危险化学品管理标准化技术委员会化学品毒性检测分技术委员会(SAC/TC 251/SC 1)组织和整合化工行业、安监、卫生、环保、质检技术力量,在对国内外化学品理化性质与物理危险试验方法标准、卫生毒理试验方法标准、降解蓄积和生态毒理试验方法标准的比对和研究的基础上,将经济合作与发展组织(OECD)推荐的试验方法指南,美国、法国、欧盟等发达国家使用的化学品毒性(危险性)检验检测标准引进、吸收,建立了我国化学品安全检验检测方法标准体系。该标准体系已成为我国《危险化学品安全管理条例》、环保部《新化学物质环境保护管理办法》、国家质量监督检验检疫总局《关于进出口危险化学品及其包装检验监管有关问题的公告》及其他相关制度贯彻实施的技术基础。

本汇编涵盖了截至2012年6月发布的我国化学品安全检验检测方法国家标准,分为理化性质与物理危险、卫生毒理和生态毒理与降解蓄积三个分册。本书为生态毒理与降解蓄积分册,共收集国家标准40项。

由于编者的时间和水平有限,书中不当之处,请读者批评指正。

编者

2012年6月

目 录

一、生态毒理

GB/T 21796—2008	化学品	活性污泥呼吸抑制试验	3
GB/T 21805—2008	化学品	藻类生长抑制试验	9
GB/T 21806—2008	化学品	鱼类幼体生长试验	31
GB/T 21807—2008	化学品	鱼类胚胎和卵黄囊仔鱼阶段的短期毒性试验	45
GB/T 21808—2008	化学品	鱼类延长毒性 14 天试验	61
GB/T 21809—2008	化学品	蚯蚓急性毒性试验	71
GB/T 21810—2008	化学品	鸟类日粮毒性试验	79
GB/T 21811—2008	化学品	鸟类繁殖试验	87
GB/T 21812—2008	化学品	蜜蜂急性经口毒性试验	96
GB/T 21813—2008	化学品	蜜蜂急性接触性毒性试验	104
GB/T 21814—2008	工业废水的试验方法	鱼类急性毒性试验	113
GB/T 21815.1—2008	化学品	海水中的生物降解性 摇瓶法试验	119
GB/T 21817—2008	化学品	固有生物降解性 改进的半连续活性污泥试验	133
GB/T 21828—2008	化学品	大型溞繁殖试验	141
GB/T 21830—2008	化学品	溞类急性活动抑制试验	161
GB/T 21854—2008	化学品	鱼类早期生活阶段毒性试验	171
GB/T 27851—2011	化学品	陆生植物 生长活力试验	187
GB/T 27854—2011	化学品	土壤微生物 氮转化试验	209
GB/T 27855—2011	化学品	土壤微生物 碳转化试验	220
GB/T 27858—2011	化学品	沉积物-水系统中摇蚊毒性试验 加标于水法	230
GB/T 27859—2011	化学品	沉积物-水系统中摇蚊毒性试验 加标于沉积物法	250
GB/T 27861—2011	化学品	鱼类急性毒性试验	271

二、降解蓄积

GB/T 21795—2008	化学品	模拟试验 污水好氧处理 生物膜法	283
GB/T 21800—2008	化学品	生物富集 流水式鱼类试验	297
GB/T 21801—2008	化学品	快速生物降解性 呼吸计量法试验	315
GB/T 21802—2008	化学品	快速生物降解性 改进的 MITI 试验(I)	331
GB/T 21803—2008	化学品	快速生物降解性 DOC 消减试验	343
GB/T 21816—2008	化学品	固有生物降解性 赞恩-惠伦斯试验	355
GB/T 21818—2008	化学品	固有生物降解性 改进的 MITI 试验(II)	363
GB/T 21829—2008	化学品	污水好氧处理模拟试验:活性污泥单元法	377
GB/T 21831—2008	化学品	快速生物降解性 密闭瓶法试验	395
GB/T 21856—2008	化学品	快速生物降解性 二氧化碳产生试验	407
GB/T 21857—2008	化学品	快速生物降解性 改进的 OECD 筛选试验	421

GB/T 21858—2008	化学品	生物富集 半静态式鱼类试验	433
GB/T 27849—2011	化学品	降解筛选试验 化学需氧量	450
GB/T 27850—2011	化学品	快速生物降解性 通则	457
GB/T 27852—2011	化学品	生物降解筛选试验 生化需氧量	472
GB/T 27853—2011	化学品	水-沉积物系统中好氧厌氧转化试验	478
GB/T 27856—2011	化学品	土壤中好氧厌氧转化试验	496
GB/T 27857—2011	化学品	有机物在消化污泥中的厌氧生物降解性 气体产量测定法	515



一、生态毒理





中华人民共和国国家标准

GB/T 21796—2008

化学品 活性污泥呼吸抑制试验

Chemicals—
Activated sludge, respiration inhibition test

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

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. 209(1984 年)《活性污泥呼吸抑制试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改：

——将计量单位改为我国法定计量单位。

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：环境保护部南京环境科学研究所、中国检验检疫科学研究院、广东省微生物研究所。

本标准主要起草人：刘纯新、卢玲、沈英娃、刘济宁、周军英、陈会明、梅承芳。

化学品

活性污泥呼吸抑制试验

1 范围

本标准规定了化学品活性污泥呼吸抑制试验的方法概述、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准适用于大多数水溶性、低挥发性、易滞留于水体的物质；不适用于在氧作用下可能发生磷酸化而分解的物质。对于水溶性有限的受试物，可能无法测定半效应浓度。

本标准提供一种快速筛选方法，鉴定哪些物质可能对污水处理厂的好氧微生物产生不利影响，并为生物降解试验提供相应的无抑制受试物浓度。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

呼吸速率 respiration rate

单位时间内污泥或污水中好氧微生物消耗的氧气量，通常以每小时每升污泥或污水消耗的氧气毫克数表示[$\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$]。

2.2

半数效应浓度 median effective concentration, EC_{50}

与对照组比较，引起微生物呼吸速率下降 50% 的受试物浓度。

3 受试物信息

- a) 结构式；
- b) 纯度；
- c) 水中溶解度；
- d) 蒸汽压。

4 方法概述

4.1 原理

在活性污泥中加入一定量的合成污水，接触 30 min 或 3 h，测定好氧微生物呼吸速率。在相同的条件下，测定试验系统中加入不同浓度受试物后同一活性污泥的呼吸速率。用占两个对照组呼吸速率均值的百分数表示特定浓度受试物的抑制效应。由不同浓度的测定结果计算出 EC_{50} 值。

4.2 参比物

本标准推荐 3, 5-二氯苯酚作为参比物。

4.3 注意事项

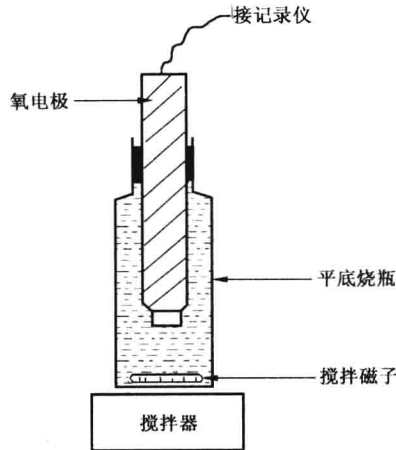
活性污泥可能含有潜在致病生物，应小心处理。

5 试验准备

5.1 仪器和设备

- a) 测定装置，见图 1(包括磁力搅拌器，平底烧瓶)；
- b) 曝气装置；

- c) pH 计;
- d 氧电极。



注：该装置为非标准装置，但需确保试液装满烧瓶顶部，电极探头与烧瓶瓶颈紧密相配，隔绝瓶外空气。

图 1 测定装置

5.2 微生物接种液

采用主要处理生活污水的污水处理厂的活性污泥作为接种物。污泥取回实验室后用自来水冲洗，离心，倒出上清液。重复操作 3 次。取少量洗过的污泥称重、干燥，计算出试验所需污泥的量（湿重）。配制浓度为 $4 \text{ g/L} \pm 0.4 \text{ g/L}$ 的活性污泥混合悬浮液。若采集的活性污泥当天不使用，应在每升上述活性污泥中加入 50 mL 合成污水，在 $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 下曝气培养，使用前测定 pH，必要时用碳酸氢钠溶液调节 pH 值至 6.0~8.0，并测定混合液中悬浮物含量。

5.3 试验用水

曝气除氯的自来水。

5.4 合成污水配制

分别称取 16 g 蛋白胨、11 g 牛肉膏、3 g 尿素、0.7 g NaCl、0.4 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 2.8 g K_2HPO_4 ，用水溶解，定容至 1 L。

6 试验程序

6.1 受试物贮备液

若受试物水溶解度大于 1 g/L ，则称取 0.5 g，用蒸馏水溶解并定容至 1 L，得 0.5 g/L 的贮备液。否则，将受试物直接加入试验容器中，或者用有机溶剂配置贮备液。若使用有机溶剂，则该溶剂应对微生物无明显的吸呼抑制或促进作用。此外，需增加含活性污泥和溶剂但不含受试物的对照。

6.2 参比物配制

用 10 mL 的 1 mol/L NaOH 溶解 0.5 g 3,5-二氯苯酚，用蒸馏水稀释到约 30 mL，边振荡边加入 0.5 mol/L H_2SO_4 直到刚刚出现沉淀，大约需要 H_2SO_4 4 mL，最后用蒸馏水稀释到 1 L，pH 值为 7~8。

6.3 试验操作

受试物和参比物的 3 h 接触试验可按下述步骤进行：

准备一定数量的烧杯（如 1 L 的烧杯）。

试验开始时（0 时刻）把 16 mL 合成污水加试验用水至 300 mL，再加 200 mL 微生物接种液，混合为 500 mL，倒入第一个烧杯中，为对照组 1 (C_1)。在 $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下，用洁静无油空气以 $0.5 \text{ L/min} \sim 1 \text{ L/min}$ 的速度曝气培养。

在 15 min 时（15 min 的时间间隔是任意选定的），在 16 mL 合成污水中加入 100 mL 受试物贮备液，再加水至 300 mL，然后再加 200 mL 微生物接种液，充分混合为 500 mL。混合液倒入第二个烧杯曝

气培养。随后,每隔 15 min 按此法制备试验液,受试物溶液用量根据浓度设计选定,从而得到一系列不同浓度的受试物试验液。受试物至少设置 5 个浓度组,参比物最少设置 3 个浓度。最后制备对照组 2(C₂)。

3 h 后,把 C₁ 试验液倒入测定装置,测定 10 min 的呼吸速率,也可直接在烧杯中测量。同法测定其他处理液及 C₂。每批微生物接种液,都要按同样的方法用参比物溶液检验其活性。

如果试验周期为 30 min,试验体系可根据情况作相应改动。

7 质量保证与质量控制

两组空白对照呼吸速率差不高于 15%。

参比物 3,5-二氯苯酚 3 h 的 EC₅₀ 为 5 mg/L ~ 30 mg/L。

8 数据与报告

8.1 数据处理

可以根据记录仪所画的曲线在 6.5 mg/L 和 2.5 mg/L 之间计算呼吸速率,如果呼吸速率低,可根据 10 min 以上的耗氧量计算,测定呼吸速率的呼吸作用曲线部分应为线性。

根据溶解氧测定值计算呼吸速率,为了计算受试物的抑制效应,将呼吸速率以两组空白对照呼吸速率的百分比形式表达。见下式:

$$R = 1 - \frac{2R_s}{R_{C_1} + R_{C_2}} \times 100$$

式中:

R ——受试物呼吸抑制率, %;

R_s ——受试物受试浓度的耗氧速率,单位为毫克每升小时[mg/(L·h),以 O₂ 计];

R_{C_1} ——对照组 1(C₁)的耗氧速率,单位为毫克每升小时[mg/(L·h),以 O₂ 计];

R_{C_2} ——对照组 2(C₂)的耗氧速率,单位为毫克每升小时[mg/(L·h),以 O₂ 计]。

按上述公式计算每一试验浓度的抑制百分率,在对数-正态(或对数-概率)纸上绘制抑制百分率对浓度的曲线,计算出 EC₅₀。

EC₅₀ 值的 95% 置信限可用标准程序计算求得。鉴于结果的可变性,推荐用量级大小表示试验结果,例如小于 1 mg/L, 1 mg/L~10 mg/L, 10 mg/L~100mg/L 等。

8.2 结果报告

试验报告应包括以下内容:

a) 受试物:

——化学特性鉴别数据。

b) 试验条件:

——接种物:状态和取样地点,浓度和预处理方式;

——试验周期与温度;

——受试物和参比物的 EC₅₀;

——非生物耗氧量(若存在)。

c) 结果:

——测量数据;

——呼吸抑制曲线和 EC₅₀ 计算方法;

——EC₅₀ (有条件,提供 95% 置信限)、EC₂₀ 和 EC₈₀。

——所有观测结果以及任何偏离本方法并可能影响试验结果的情况。

d) 结果讨论。

参 考 文 献

- [1] International Standard ISO/TC 147/SC 5/WC 1, N53 No. D (1981)
 - [2] B. Broecker and R. Zahn, *Water Research* 11, 165 (1977)
 - [3] D. Brown, H. R. Hitz and L. Schaefer, *Chemosphere* 10, 245 (1981)
 - [4] ETDA (Ecological and Toxicological Association of Dyestuffs Manufacturing Industries)
 - [5] B. Robra, *Wasser/Abwasser* 117, 80 (1976)
 - [6] W. Schefer, *Textilveredlung* 6, 247 (1977)
-



中华人民共和国国家标准

GB/T 21805—2008

化学品 藻类生长抑制试验

Chemicals—Alga growth inhibition test

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

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. 201(2006 年)《藻类生长抑制试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改：

——将计量单位改为我国法定计量单位。

——将原附录 1 术语和定义调整为正文。

——增加了普通小球藻(*Chlorella Vulgaris*)为受试生物。

——将原附录 4 的内容调整到正文 6.1.2 藻类的储备培养和 6.1.3 藻类的预培养。

——删除了原附录 2 中“藻种来源”相关内容。

本标准的附录 A、附录 B 和附录 C 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：沈阳化工研究院安全评价中心、上海市检测中心、上海市环境科学研究院。

本标准主要起草人：周红、菅小东、马馨、蔡磊明、赵玉艳、戎志毅、沈根祥。

化学品 藻类生长抑制试验

1 范围

本标准规定了化学品 藻类生长抑制试验的方法概述、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准适用于测试试验条件下溶于水的化学品。如果要测试挥发性、强吸附性、有颜色、不溶或难溶于水的化学品,以及可能影响培养基中营养物质有效利用的化学品,需要对所述试验程序进行修改(如采用密闭系统、适当的试验容器)。参考文献[2]、[3]和[4]提供了部分修改方案。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

生物量 biomass

单位体积试验介质内活体生物的干重,例如毫克藻每升试验溶液。生物量通常被定义为质量,但在本标准中,定义为单位体积的质量,且以单位体积内细胞数量或荧光性等的测定替代生物量的测定。

2.2

变异系数 coefficient of variation

标准差与平均数之比,通常以百分比表示,记作 CV%。变异系数是一个无量纲的数,因而便于样本间的相互比较。对照组各平行平均比生长率的变异系数的平均值按以下方式计算:

- a) 分别计算试验各阶段各平行的平均比生长率;
- b) 计算试验各阶段对照组各平行平均比生长率的变异系数的平均值。

2.3

效应浓度 EC_x

引起受试生物生长或生长率比对照下降 $x\%$ (如 50%)时的受试物浓度。EC 有基于生长率的 E_rC 和基于生长量的 E_yC 之分。

2.4

藻类生长培养基 growth medium

含有特定营养成分的液体或胶状物质。藻类在培养基中生长并暴露于受试物。通常是将受试物溶于培养基中。

2.5

生长率 growth rate

即平均比生长率(average specific growth rate),是暴露期间藻类生物量的指数增长率。

2.6

最低可观察效应浓度 lowest observed effect concentration; LOEC

在一定暴露期内,与对照相比,对藻类生长有明显($p < 0.05$)抑制效应的最低受试物设置浓度。高于 LOEC 的所有试验浓度均可观察到与 LOEC 时相同的或更严重的毒性影响。如果未满足上述条件,应就 LOEC(以及 NOEC)的选择进行详细说明。

2.7

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

直接低于最低可观察效应浓度(LOEC)的受试物设置浓度。