



中华人民共和国国家标准

GB/T 18420.2—2001

海洋石油勘探开发污染物 生物毒性检验方法

Biological toxicity inspection method for pollutant from marine
petroleum exploration and exploitation

2001-08-28 发布

2002-03-01 实施



中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
海洋石油勘探开发污染物
生物毒性检验方法
GB/T 18420.2—2001

*

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:68523946 68517548

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

*

开本 880×1230 1/16 印张 1¼ 字数 29 千字
2002年2月第一版 2002年2月第一次印刷
印数 1—2 000

*

书号:155066·1-18086 定价 12.00 元
网址 www.bzcbs.com

*

科 目 595—553

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 18420.2—2001



前 言

本标准是与 GB 18420.1—2001《海洋石油勘探开发污染物生物毒性分级》相配套的标准。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 为标准的附录。

本标准的附录 D、附录 E 为提示的附录。

本标准由国家海洋局提出并负责解释。

本标准由国家海洋标准计量中心归口。

本标准起草单位：国家海洋局南海分局、广东省实验动物监测所。

本标准起草人：黄 韧、杨丰华、吴进孝、薛 成、程树军、魏社林、徐梅春。

目 次

前言 I

1 范围 1

2 引用标准 1

3 定义 1

4 原理 1

5 采样、送样和样品保存..... 2

6 试验生物和标准毒物 2

7 设施和设备 2

8 试验环境和安全注意事项 3

9 试验程序 3

10 试验结果分析和判定..... 5

11 质量控制..... 5

12 检验报告..... 5

附录 A(标准的附录) 96 h 换水式生物毒性试验原始记录表 6

附录 B(标准的附录) 生物毒性检验报告表 8

附录 C(标准的附录) 生物毒性试验结果判定流程图 9

附录 D(提示的附录) 生物毒性试验结果分析举例 10

附录 E(提示的附录) 96 h LC_{50} 的概率计算法 12

中华人民共和国国家标准

海洋石油勘探开发污染物 生物毒性检验方法

GB/T 18420.2—2001

Biological toxicity inspection method for pollutant from marine
petroleum exploration and exploitation

1 范围

本标准规定了海洋石油勘探开发作业中使用或生成后排入海洋的部分污染物在不同海区的生物毒性检验中采用的试验方法,以及试验方法中有关样品的处理、试验生物、试验程序、结果判定、质量控制等要求。

本标准适用于海洋石油勘探开发作业中使用或生成后排入海洋的钻井泥浆、钻屑和生产水的生物毒性检验。

本标准中规定的方法在适当调整试验条件后亦适用于本标准限定外的其他海洋石油勘探开发污染物的生物毒性检验。

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 17378.3—1998 海洋监测规范 第3部分:样品采集、贮存与运输

GB 17378.4—1998 海洋监测规范 第4部分:海水分析

GB 17378.7—1998 海洋监测规范 第7部分:近海污染生态调查和生物监测

GB 18420.1—2001 海洋石油勘探开发污染物生物毒性分级

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 生物毒性检验 biological toxicity inspection

见 GB 18420.1—2001。

3.2 96 h 换水式生物毒性试验 96 h renewal biological toxicity test

在 96 h 的试验期间内每隔一定时间部分更换或全部更换试验溶液,进行观察、测定生物异常或死亡效应的试验。

3.3 无可见影响浓度 NOEC(no-observed-effect concentration)

指试验生物暴露在一组不同浓度的试验溶液一段时间后,通过观察试验生物的不良影响,并比较试验组与对照组统计分析结果,判定出对试验生物无显著影响的最大浓度。

4 原理

海洋生物的各种生理活动受海洋环境影响,通过观察测定试验生物在 96 h 试验条件下接触试验物质后的异常或死亡效应,可得到海洋石油勘探开发污染物对试验生物有明显影响的具体浓度。

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2001-08-28 批准

2002-03-01 实施

5 采样、送样和样品保存

5.1 样品的采集

5.1.1 采样数量

采样数量应足够供3次重复试验的用量。油基泥浆5 L,水基泥浆5 L,钻屑5 kg,生产水排放口采5 L。

5.1.2 采样地点

5.1.2.1 钻井泥浆 经振动筛分离后的泥浆应从排放口或泥浆池采集。

5.1.2.2 钻屑 经振动筛分离后采样。

5.1.2.3 生产水 在生产水的排放口采样。

5.2 包装和运输

5.2.1 包装

采送样品必须用惰性材料制成的塑料容器密封包装。

5.2.2 运输

必须符合GB 17378.3有关样品贮存与运输的规定,样品必须在48 h内送达生物毒性实验室。

生产水样品必须在4℃~8℃保存。

5.2.3 标签

所有样品容器上应标明样品名称、采样油井号、生产或使用者、采样人、采样时间、采样方式、采样数量等。

样品送达实验室后送样人要填写送样表,样品接受人应检查样品标签和包装是否完整,并对样品进行编号、签字和记录存档。

5.2.4 贮存

生产水样品必须保存在4℃~8℃,其他样品必须保存在阴凉处,并在样品送达实验室后的24 h内开始试验。

6 试验生物和标准毒物

6.1 试验生物

6.1.1 种类

下列试验生物只需选用一种。

6.1.1.1 对虾仔虾:中国对虾(*Penaeus chinensis*)、斑节对虾(*Penaeus monodon*)、长毛对虾(*Penaeus penicillatus*)。

6.1.1.2 卤虫(*Artemiidae*)幼体。

6.1.2 试验生物开始试验日龄

6.1.2.1 对虾:小于仔虾期10 d(P_{10} 期)的仔虾。

6.1.2.2 卤虫:虫卵孵化20 h~24 h后的幼体。

6.2 标准毒物

本试验所用标准毒物为分析纯的十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)。

7 设施和设备

7.1 设施

7.1.1 饲养试验生物的水池或水族箱等。

7.1.2 可控照明装置。

7.1.3 维持试验生物的控温、充氧、循环清洁海水的设备,包括制冷和加热的恒温设备、充气设备、循环

水设备、水过滤设备等。

7.2 试验容器

7.2.1 对虾仔虾试验用 1 000 mL 烧杯或其他同等体积的玻璃水槽。

7.2.2 卤虫无节幼体试验用 40 mL~50 mL 的烧杯或其他同等体积的玻璃水槽。

7.3 环境因子测定的试剂和仪器

7.3.1 按 GB 17378.4 第 27、30、32 章要求的试剂或仪器。

7.3.2 除 7.3.1 要求外,可选用的试剂和仪器包括经校正的普通温度计、精密试纸等。

7.4 其他

搅拌器、显微镜、胶头滴管、量筒、手抄网等。

8 试验环境和安全注意事项

8.1 试验室环境必须干净、无污染,避免人为的影响因素。

8.2 试验人员必须作好安全防护措施,如配备工作服,一次性手套等。

9 试验程序

9.1 试验生物来源、饲养和选择

9.1.1 对虾仔虾

9.1.1.1 来源 从虾苗厂购入或生物毒性实验室自繁饲养。

9.1.1.2 饲养 对虾仔虾饲养的适宜条件见表 1。购入的仔虾必须在实验室驯养 48 h 后才可用于毒性试验,自繁饲养的仔虾必须在试验开始前 24 h 从饲养室移入实验室。

表 1 仔虾试验室饲养条件

饲养条件	中国对虾仔虾	斑节对虾仔虾	长毛对虾仔虾
温度,℃	22~25	27~29	26~29
盐度	25~33	28~33	25~30
pH	7.6~8.2	7.6~8.2	7.6~8.2

9.1.2 卤虫幼体

9.1.2.1 卤虫卵来源 从商场购入或实验室自繁收集。

9.1.2.2 卤虫卵孵化 取 1 g 卤虫卵加入 1 L 稀释水中,在 25℃、盐度 30~35、光照 2 000 lx~3 000 lx 的环境条件下充氧孵化,取同一批次孵出的无节幼体放入稀释水中经 20 h~24 h 饲养后,选择消化道形成后的幼体用于毒性试验。

9.1.3 合格的试验生物

9.1.3.1 健康、正常的试验生物,24 h 内死亡率小于 10%。

9.1.3.2 试验生物的 24 h 标准毒物敏感试验的毒性结果必需与其他批次试验生物的敏感范围一致。

9.2 稀释水的准备

使用人工海水作为稀释水,盐度 30,pH(7.9±0.2),溶解氧接近饱和。用作稀释水的人工海水配方必须经试验生物饲养试验,证明其对试验生物的生长发育无明显影响或是已经普遍使用的人工海水配方。

9.3 贮备液的配制

9.3.1 泥浆贮备液的配制

9.3.1.1 油基泥浆 按体积比取 1 份泥浆加入 9 份稀释水,2 000 r/min~3 000 r/min 搅拌 15 h 至絮状,然后加水稀释为试验组的最高浓度,继续搅拌 5 min,静置 60 min 后取上层混悬液作为贮备液。

9.3.1.2 水基泥浆 按体积比取 1 份泥浆加入 9 份稀释水,2 000 r/min~3 000 r/min 搅拌 15 min,然后加水稀释为试验组的最高浓度,继续搅拌 5 min,静置 60 min 后取上层混悬液作为贮备液。

9.3.2 钻屑贮备液的配置

9.3.2.1 油基泥浆钻屑 取一定质量的钻屑加入稀释水中,2 000 r/min~3 000 r/min 搅拌 15 h,取上层混悬液作为贮备液,试验前充分搅拌。贮备液浓度小于 100 000 mg/L。

9.3.2.2 水基泥浆钻屑贮备液的准备同水基泥浆。

9.3.3 生产水贮备液的配制

取一定体积的生产水加入稀释水中,2 000 r/min 搅拌 15 min,配制成预定浓度的贮备液。

9.4 预备试验

9.4.1 选取 4 组~5 组等比或等间距浓度,如 1,10,100,1 000 mg/L 及对照组,设 2 个~4 个重复样,每个容器放 5 个生物进行试验,以确定全部死亡和存活的浓度范围。温度、pH、溶解氧要求与驯养条件一致,每 24 h 观察记录死亡率,及时取出死亡生物。如试验结果不能确立正式试验液浓度范围则需要重新选择浓度并重复预备试验。

9.4.2 在为判定是否符合某个特定毒性容许值的试验中,预备试验浓度可在大于毒性容许值设置等距浓度。

9.5 正式试验

9.5.1 试验浓度设置

9.5.1.1 在预备试验设定的浓度范围内,设定 5 个等对数间距或等比浓度组和 1 个对照组,建议采用的等对数间距为 1,1.35,1.8,2.4,3.2,4.2,5.6,7.5 等及其 10 的各次方倍数,等比的稀释因子为 0.5。如需计算 LC_{50} 值,试验浓度应包括无死亡和全部死亡的浓度,用以得到至少三个连续的死亡浓度。每个试验浓度至少 4 个重复样。每个容器包括 10 个生物体。

9.5.1.2 在为判定是否符合某个特定毒性容许值的试验中,如试验生物预备试验的 LC_{50} 远大于毒性容许值,则可在大于容许值的区间选择等间距浓度。

9.5.2 试验生物移入

9.5.2.1 对虾仔虾 用手抄网在驯养池中随机选择试验生物并及时放入试验容器内。弃用跃出或损伤的生物。在试验操作过程中,应在 30 min 内完成分放试验生物。

9.5.2.2 卤虫幼体 用胶头滴管在驯养容器随机吸取卤虫幼体,然后小心移入试验容器。应在 30 min 内完成分放试验生物。

9.5.3 试验溶液更新

每 24 h 准备新的试验溶液,然后从对照组开始,由低浓度到高浓度试验组逐级移入存活的试验生物。

9.5.4 充气要求

当试验溶液的溶解氧浓度小于 60% 的饱和度,必须对试验溶液进行轻微充气,充气气泡为 60 个/min~100 个/min。如试验组进行充气,同样对照组也需进行充气。

9.5.5 试验的环境因子

试验适宜的环境为温度 23℃~28℃,盐度 28~33,pH 7.6~8.2,试验过程中温度变化范围不超过 2℃,盐度变化范围不超过 2,pH 值变化范围不超过 0.4。

9.5.6 饲喂

9.5.6.1 对虾仔虾喂卤虫无节幼体 50 个/d。

9.5.6.2 卤虫幼体饲喂扁藻、小球藻等单细胞藻类,藻液离心后饲喂,应避免加入藻液引起试验溶液体积的明显改变。

9.5.7 观察和记录

每 24 h 观察试验生物两次并记录异常行为,尽快移去试验生物的死亡个体。试验生物存活数记录在原始记录表内,见附录 A(标准的附录)。

9.6 环境因子的测定和记录

每次试验溶液配制后和试验溶液更新前必须测量并记录各项环境因子,如溶解氧、pH 值、温度、盐度等。测定方法参照 GB 17378.4 中第 27、30、32 章的有关规定,另外可选用校正后的普通温度计测定水温以及选用精密试纸测定 pH 值。测定值记录在 96 h 换水式生物毒性试验原始记录表上,见附录 A (标准的附录)。

9.7 试验生物死亡判定

试验生物体色变成不透明,轻触无反应或在显微镜下观测心脏停止跳动均可判定为死亡。

10 试验结果分析和判定

10.1 结果的有效性

试验溶液的溶解氧必须达到 60% 饱和度以上,对照组的死亡率不超过 10%,驯养生物 24 h 的 LC_{50} 和同一实验室其他批次同种生物的试验结果相符。

10.2 试验结果的判定

生物毒性的试验结果判定见附录 C (标准的附录)。

10.2.1 在大于或等于生物毒性容许值的试验浓度组未出现试验生物死亡,直接判定为大于生物毒性容许值。

10.2.2 在小于生物毒性容许值的试验浓度组出现试验生物死亡,对试验结果进行正态分布和方差齐次检验,如符合正态检验和方差齐次检验则采用附录 D (提示的附录) 的参数检验方法 (Dunnett's 检验) 判定 NOEC 值。如不符合正态检验或方差齐次检验则采用附录 D (提示的附录) 的非参数秩检验方法 (Steel's 多对一检验) 判定 NOEC 值,以 NOEC 值来判定是否符合生物毒性容许值。

10.2.3 当小于生物毒性容许值的试验浓度组出现生物死亡,并且有一组的死亡率为 100% 时,可通过图表法或概率法计算 LC_{50} 值。图表法直接判定是否符合生物毒性容许值,概率计算法计算置信区间,以置信上限是否大于毒性容许值为判定限。96 h LC_{50} 的概率计算法见附录 E (提示的附录)。

11 质量控制

11.1 批间和批内质量控制

11.1.1 每批次试验必须同时进行标准毒物的 24 h 生物毒性试验,通过比较 LC_{50} 值评价试验生物质量的稳定性。

11.1.2 保证试验过程试验环境因子的一致性,即试验期间的温度变化不超过 2℃,盐度变化不超过 2, pH 变化范围不超过 0.4,溶解氧大于 60% 的饱和度。

11.2 原始记录

原始记录应完整。包括:采样和试验的时间、地点;样品的保存方法;采样和试验人员签名;试验所用的方法和技术;质量控制记录;试验的原始资料,仪器校准和维修记录;试验报告等。

12 检验报告

检验报告包括检验报告表和试验报告。

12.1 检验报告表

检验报告表包括:送样单位、送样人、送样时间、样品名称、样品编号、样品接受人、检验依据的标准、试验结果和依据 GB 18420.1—2001 对试验结果判定的结论、出具检验结果的生物毒性试验室签章等。生物毒性检验报告表的格式见附录 B (标准的附录)。

12.2 试验报告

试验报告包括:试验物质的化学性质和其他材料;稀释水,贮备液,和试验溶液的配制;试验动物驯养和负荷数;对照组死亡数和标准物质 LC_{50} 的生物数据;用浓度反应曲线或方程表示的试验浓度和试验生物反应的关系。

96 h 换水式生物毒性试验原始记录表

表 A1 96 h 换水式生物毒性试验原始记录表

试验物质:

样品编号：
日龄：

送样人/单位: _____

采/送样日期：
复核：

[illegible]

表 A1 (完)

试验物质:
试验生物:

样品编号:
日龄:

送样人/单位:
试验日期

采/送样日期:
复核:

时间	项目 (开始/结束)	试验组 3				试验组 4				试验组 5			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
0 h~24 h	存活												
	温度												
	盐度												
	pH												
	DO												
24 h~48 h	记录												
	存活												
	温度												
	盐度												
	pH												
48 h~72 h	DO												
	记录												
	存活												
	温度												
	盐度												
72 h~96 h	pH												
	DO												
	记录												
	存活												
	温度												

附 录 B
(标准的附录)
生物毒性检验报告表

表 B1 生物毒性检验报告表

No: _____
共 页 第 页

样品接受	名称		产品编号	
			产品出厂日期	
	生产单位		受检单位	
	委托人		委托单位	
	来样方式		样品编号	
采样	采样地点		采样日期	
	采样方式		样品保存方式	
	样品数量		抽样基数	
	检验类别		试验日期	
	试验生物物种		试验生物日龄	
检验依据				
检验结论	检验室: (签章) 年 月 日			
备注				

批准: 审核: 汇核:

附录 C
(标准的附录)
生物毒性试验结果判定流程图

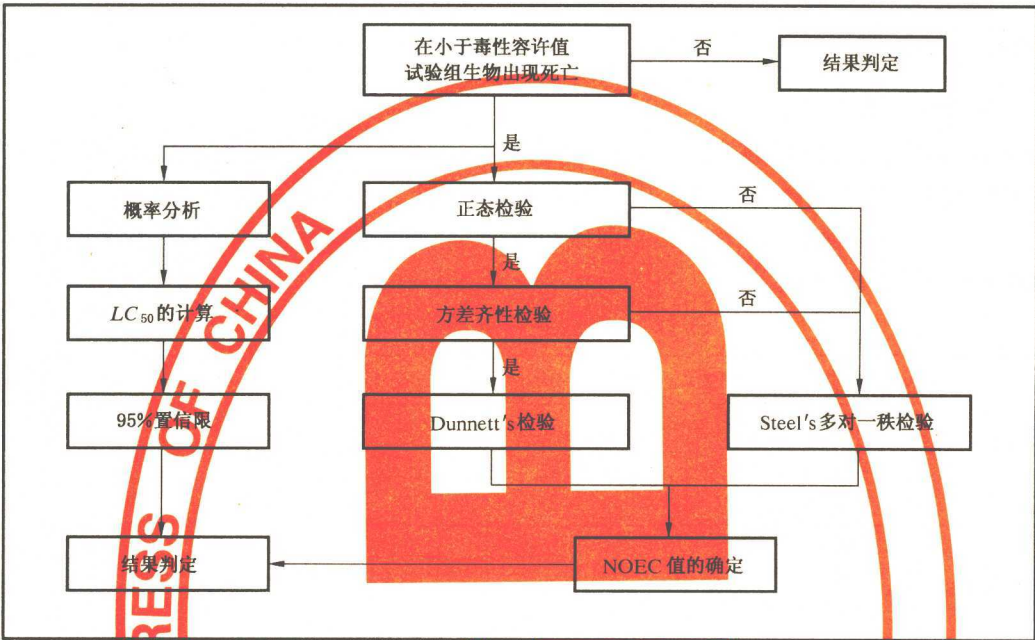


图 C1 试验生物存活的假设检验

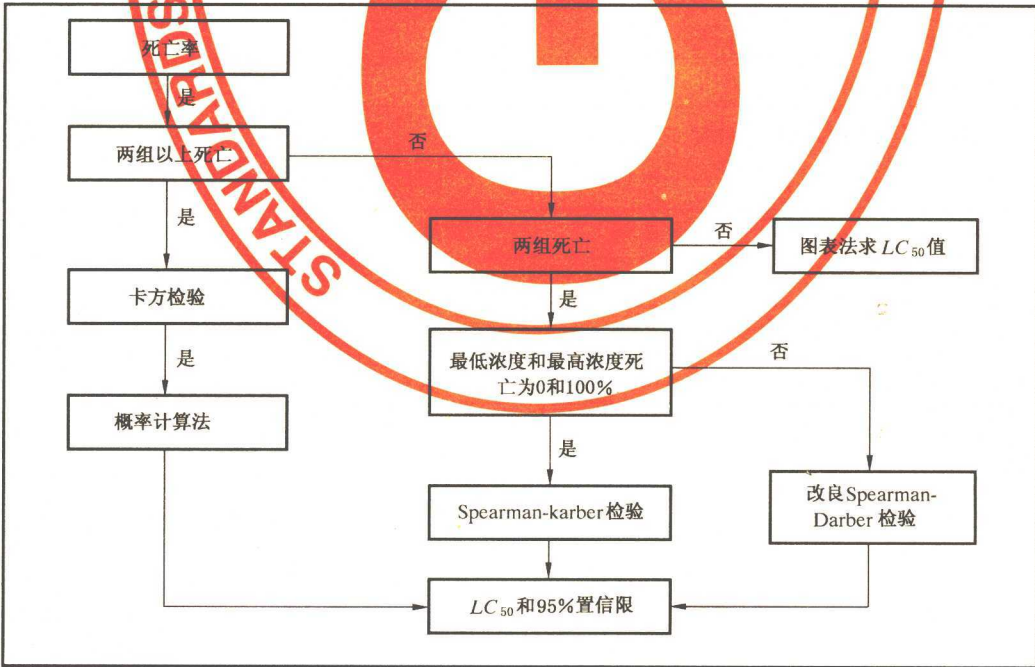


图 C2 概率分析

附 录 D
(提示的附录)
生物毒性试验结果分析举例

D1 Dunnett's 检验

D1.1 原理和适用范围

Dunnett's 检验通过比较各试验组均数和对照组均数来判定两者之间是否有统计学上的差异。本分析方法适用于毒性试验的原始数据符合正态和方差齐次检验后的数据分析。

D1.2 把一组 96 h 污染物的毒性试验结果的原始数据、反正弦方根变换值、平均值和标准离差列表,见表 D1 标准差和平均值计算表。

表 D1 标准差和平均值计算表

原始数据	重复样	对照组	1. 25	2. 5	5	10	20
	A	0. 80	0. 73	0. 80	0. 40	0	0
	B	0. 87	0. 80	0. 33	0. 53	0	0
	C	0. 93	0. 87	0. 60	0. 07	0	0
反正弦方根变换	A	1. 107	1. 024	1. 107	0. 685	—	—
	B	1. 202	1. 107	0. 612	0. 815	—	—
	C	1. 303	1. 202	0. 886	0. 265	—	—
总数 T		3. 612	3. 333	2. 605	1. 768		
平均值 $\bar{X}$		1. 204	1. 111	0. 868	0. 589		
方差平方		0. 01	0. 008	0. 061	0. 082		
组数		1	2	3	4		
$C = \sum T$		11. 318					

D1.3 建立 ANOVA(方差分析)计算表,见表 D2。

表 D2 ANOVA 计算表

变异来源	自由度 ν	离均差平方和 SS	均方 $MS=SS/\nu$
组间	$\nu_{\text{组间}}=3$	$SSB=0. 681$	$SB^2=0. 227$
组内	$\nu_{\text{组内}}=8$	$SSW=0. 321$	$SW^2=0. 040$
总数	$N-1=11$	$SST=1. 002$	

表中各数值的计算公式为:

$$\nu_{\text{组间}}=p-1 \quad \cdots \cdots \cdots (D1)$$
$$\nu_{\text{组内}}=N-p \quad \cdots \cdots \cdots (D2)$$
$$SSB=\sum_{i=1}^p T_i^2/n_i-C^2/N \quad \cdots \cdots \cdots (D3)$$
$$SST=\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_j} T_{ij}^2/n_i-C^2/N \quad \cdots \cdots \cdots (D4)$$
$$SSW=SSB-SST \quad \cdots \cdots \cdots (D5)$$
$$SB^2=SSB/(p-1) \quad \cdots \cdots \cdots (D6)$$
$$SW^2=SSW/(N-p) \quad \cdots \cdots \cdots (D7)$$

式中：C——表 D1 计算的总数；
N——样本含量；
p——试验组和对照组的总数；
n_i——第 i 组。

D1.4 t 值的计算,按式(D8)和表 D3 进行。

计算 t 值的公式：

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_i}{[S_w(1/n_1 + 1/n_i)]^{1/2}} = \frac{1.204 - 1.111}{[0.020 \times (1/3 + 1/3)]^{1/2}} = 0.570 \dots\dots\dots (D8)$$

式中：X₁——对照组的平均存活率；
X_i——第 i 试验组的平均存活率；
S_w——平均值的方根；
n_i——对照组的重复样；
n₁——试验组的重复样。

表 D3 t 值计算表

污染物浓度,g/L	i	t _i
1.25	2	0.570
2.5	3	2.058
5.0	4	3.766

D1.5 方差分析 T 介值表(见表 D4)使用举例。当 α=0.05 时,查表 D4 可知 t_α 值为 2.42。那么 t₃< 2.42,t₄>2.42 从而判定 NOEC 为 2.5%。

表 D4 方差分析(Dunnett's test)T 介值表

α=0.05 单侧检验						
v/n	1	2	3	4	5	6
5	2.02	2.44	2.68	2.85	2.98	3.08
6	1.94	2.34	2.56	2.71	2.83	2.92
7	1.89	2.27	2.48	2.62	2.73	2.82
8	1.86	2.22	2.42	2.55	2.66	2.74
9	1.86	2.18	2.37	2.50	2.60	2.68
10	1.83	2.15	2.25	2.47	2.56	2.64
11	1.81	2.13	2.24	2.44	2.53	2.60
12	1.80	2.11	2.23	2.41	2.50	2.58

D2 Steel's 多对一秩检验 Steel's many-one rank test

D2.1 原理和适用范围

Steel's 检验将各试验组和浓度组编秩后,通过比较各浓度组和对照组的秩和来判定两者之间是否有统计学的差异。本分析方法适用于毒性试验的原始数据不符合正态检验和方差齐次检验后的数据分析。

D2.2 分析步骤

D2.2.1 把一组 96 h 污染物的毒性试验结果的原始数据、反正弦方根变换值、平均值和标准离差列表,见表 D5。

D2.2.2 把每个对照组和试验组的数据进行合并;然后将对照组和每个试验组的数据从小到大排序,统一编秩(1,2,...)。当数据相同时,秩次取位置序数的平均值;最后把所有排序结果列表,并计算每个试验浓度组的秩和。见表 D6 秩计算表。

D2.2.3 本例检验水平 α 为 0.05, 试验组数(除对照组)为 4, 查表 D7, $T_\alpha=10$, 只有 1 个试验组的秩和值等于 T_α , 而其余试验组的秩和值均大于 T_α , 所以本例中 NOEC 为 10%。符合生物毒性容许值。

表 D5 平均值和标准离差计算表

	重复样	对照组	1.8%	3.2%	5.6%	10%
原始数据	A	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8
	B	0	1.0	1.0	1.0	0.8
	C	0	0.9	1.0	1.0	0.7
	D	1.0	1.0	1.0	0.8	0.6
反正弦方根变换		1.412	1.412	1.412	1.412	1.107
		1.412	1.412	1.412	1.412	1.107
		1.412	1.412	1.412	1.412	0.991
		1.412	1.249	1.412	1.107	0.886
平均值离差组数		1.412	1.371	1.412	1.336	1.023
		0.0	1.412	0.0	0.023	0.011
		1	2	3	4	5

表 D6 秩计算表

重复样	对照组	1.8%	3.2%	5.6%	10%
A	1.412(5,5,5,3,5)	1.412(5)	1.412(5)	1.412(5)	1.107(3.5)
B	1.412(5,5,5,3,5)	1.412(5)	1.412(5)	1.412(5)	1.107(3.5)
C	1.412(4,5,5,2)	1.249(4)	1.412(5)	1.412(5)	0.991(2)
D	1.412(5,5,3,1)	1.412(5)	1.412(5)	1.107(3)	0.886(1)
秩和		19	20	18	10

表 D7 T 介值表

重复样	试验组数(不包括对照组)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
4	11	10	10	10	10	—	—	—
5	18	17	17	16	16	16	16	15
6	27	26	25	25	24	24	24	23
7	37	36	35	35	34	34	33	33
8	49	48	47	46	46	45	45	44
9	63	62	61	60	59	59	58	58
10	79	77	76	75	74	74	73	72
11	97	95	93	92	91	90	90	89
12	116	114	112	111	110	109	108	108

附 录 E

(提示的附录)

96 hLC₅₀的概率计算法

E1 把一组试验的原始数据进行浓度对数转换、死亡率查表转换为概率单位。见表 E1 计算表。

表 E1 计算表

浓度/%	浓度对数 X	试验生物数 n	死亡数 r	死亡率/%	概率单位
1.35	0.130 3	40	12	30	4.48
1.8	0.255 3	40	24	60	5.25
2.4	0.380 2	40	28	70	5.52
3.2	0.505 1	40	36	90	6.28
4.2	0.623 2	40	40	100	—
对照	—	40	0	0	—

E2 把浓度对数作为横轴,死亡概率作为纵轴作坐标图,见图 E1。在图中标出概率 5 的浓度对数, $\log LC_{50}=0.24$,求反对数,得 1.74%。

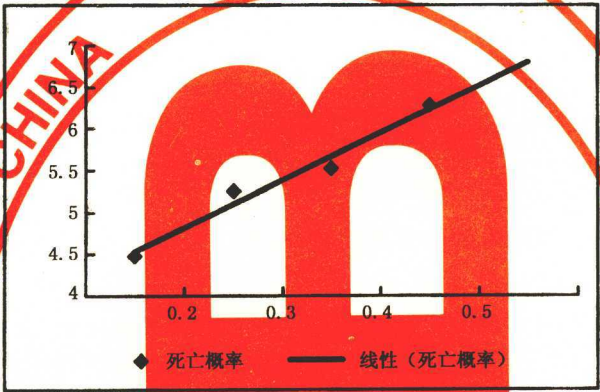


图 E1 浓度对数和死亡概率单位关系图

E3 求浓度-反应的回归方程

E3.1 在直线取距离较远的两个点,如取概率单位 4(y_1)和 6(y_2),然后在图中读出相应的 $x_1=0.035$ 和 $x_2=0.445$,代入式(E1),计算斜率 b :

$$b = (y_2 - y_1) / (x_2 - x_1) = 4.878 \dots\dots\dots (E1)$$

E3.2 将 b 值和 $\log LC_{50}$ 值代入式(E2):

$$y = Y + b(x - X) = 3.829 + 4.878 \dots\dots\dots (E2)$$

式中: y ——试验组的期望概率单位;
 Y ——概率单位 5;
 x ——概率单位为 y 时的浓度对数;
 X ——概率单位为 5 时的浓度对数。

E4 x^2 检验

x^2 检验的公式:

$$x^2 = \sum [(r - np)^2 / (np(1 - p))] \dots\dots\dots (E3)$$

式中: n ——试验生物数;
 r ——死亡数;
 p ——期望死亡率,%;
 np ——期望死亡数。

列出回归线的 x^2 检验表,见表 E2。
本例自由度为 2,查表得 $x_{0.05}^2=5.99$,而回归线的 $x^2=1.335 9$,所以回归线符合检验。