



中华人民共和国国家标准

GB/T 29881—2013

杂项危险物质和物品分类试验方法 水生生物毒性试验

Test method for classification of hazardous materials—
Hydrobiology toxicity test

2013-11-12 发布

2014-05-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准与联合国《全球化学品统一分类和标签制度》(第三修订版)附件 A9.3《水生环境危害指导水生生物毒性》的第 A9.3.1~A9.3.4 的内容基本一致。

本标准与联合国《全球化学品统一分类和标签制度》中相关内容相比,存在以下差异:

第 4 章试验方法直接采用我国国家标准,删除可选性的美国标准:

— 计量单位改成法定计量单位;

增加了前言部分;

将《全球化学品统一分类和标签制度》(第三修订版)的“A9.3.1 引言”部分作为引言。

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。

本标准起草单位:湖南出入境检验检疫局检验检疫技术中心、天津出入境检验检疫局、江南大学、环境保护部化学品登记中心。

本标准起草人:王利兵、刘纯新、张园、王华、李学洋、周磊、赵琢、黄星、高桂华、殷雅丹、于丽娜。

引 言

某种物质的水生生物毒性是鉴别这种物质对水生环境的危害的基础,分类是根据物质对鱼类、甲壳类动物和藻类/水生植物的现有毒性数据进行的。通常认为这些物种对水生动物和水生植物中的危害鉴别具有代表性。有关这些特定物种的数据可能会比较容易找到,因为它们通常被管理机构和化工行业所接受。有关降解性和生物累积行为的其他信息,能助于更好地描述水生环境危害。本标准介绍了生态毒性的有关试验,提出了用于评价数据和使用组合试验结果进行分类的一些基本概念。

杂项危险物质和物品分类试验方法

水生生物毒性试验

1 范围

本标准规定了危险货物运输中杂项危险物质和物品分类方法的水生生物毒性试验的说明、概念和证据权重。

本标准适用于杂项危险物质和物品的分类。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 21281 危险化学品鱼类急性毒性分级试验方法

GB/T 21805 化学品 藻类生长抑制试验

GB/T 21828 化学品 大型藻繁殖试验

GB/T 21830 化学品 溞类急性活动抑制试验

GB/T 21854 化学品 鱼类早期生活阶段毒性试验

美国环保局 850.4400 水生植物毒性,浮萍 [US EPA OPPTS 850.4400 Acute Toxicity of (TAI or EUP) to Aquatic Vascular Plants]

联合国《全球化学品统一分类和标签制度》(第三修订版)

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

3.1

LD₅₀

引起一组受试生物 50%(半数)死亡的剂量。

3.2

LC₅₀

引起一组受试生物 50%(半数)死亡的浓度。

3.3

EC_x

引起一组受试生物中的 x % 生物出现某种观察效应的浓度。

3.4

EC₅₀

引起一组受试生物中的 50% 生物出现某种观察效应的浓度。

3.5

L(E)C₅₀

LC₅₀ 或 EC₅₀。

3.6

NOEC no observable effect concentration

无可观察效应浓度。

3.7

QSAR quantitative structure-activity relationship

定量结构-活性关系。

4 试验说明

4.1 在进行物质分类时,可将淡水和海洋物种毒性数据视为同等有效的数据。但是,某些类目的物质,如可电离的有机化学物质或有机金属物质,在淡水和海水环境中可能会表现出不同的毒性。由于分类的目的是确定水生环境中的危害特性,因此,应选用表现出最大毒性的结果。

4.2 用于确定健康和环境危害的标准允许使用不同的方法。这些方法应是根据现行体系中所指的关于人们关切的重点指标的国际程序和标准,在科学上是完善和有效地,并能够产生可互认的数据。

4.2.1 急性毒性通常利用下列方法确定:鱼类 96 h 的 LC_{50} (GB/T 21281),甲壳纲动物 48 h 的 EC_{50} (GB/T 21830 或相当试验)和/或藻类 72 h 或 96 h 的 EC_{50} (GB/T 21805 或同等导则)。这些物种被认为是所有水生生物的代表者。如果试验方法得当的话,有关其他物种,如浮萍属植物的数据,也可考虑。

4.2.2 慢性试验涉及一个持续时间很长的暴露期,时间长短根据水生生物的繁殖周期确定。慢性试验可用于评估与生长、存活、繁殖和发育有关的某些终点指标。

4.2.2.1 慢性毒性可接受根据 GB/T 21854、GB/T 21830 或 GB/T 21828 和 GB/T 21805 得到的数据,其他有效的和在国际上认可的试验,也可使用。应使用 NOECs 或其他等效 L(E)C₅₀。

4.2.2.2 有一个描述标准生态毒性试验数据的主要统计学方法的 OECD 文件(OECD 2036)。

4.3 关于鱼类、甲壳纲动物和藻类的试验方法,有许多可接受的方法(包括 OECD 的化学品测试导则、美国环保局的测试导则、美国试验与材料协会的测试导则、国际标准化组织的测试标准、欧盟的测试导则和中国国家标准等),如 OECD 专著中《关于工业化学品和杀虫剂的水生生物毒性试验的详细回顾》,提供了许多适当的试验方法。

4.4 鱼类试验

4.4.1 急性毒性

鱼类急性毒性试验通常用质量在 0.1 g~5 g 的鱼进行,试验时间为 96 h。这些试验的观察指标是死亡率。应使用符合 GB/T 21281 或同等导则的试验所得数据进行分类。

4.4.2 慢性毒性

用鱼类进行慢性或长期试验,可从受精卵、胚胎、幼鱼或具有繁殖活力的成年鱼开始。符合 GB/T 21854 或同等导则的试验,可用于分类。试验时间可按试验目的的不同而存在很大差别(从 7 d~200 d 均可)。观察终点指标可包括孵化成功率、生长(身长和质量变化)、产卵成功率和存活率。

4.5 甲壳纲动物试验

4.5.1 急性试验

利用甲壳纲动物进行的急性试验通常始于第一龄期幼虫。对溞类使用的试验时间为 48 h,对于其他甲壳纲动物,比如糠虾或其他动物,典型的试验时间为 96 h,观察终点指标是死亡率,或者用僵化不动作为死亡率的代替指标。符合 GB/T 21830 或其他同等导则的试验均可用于分类。

4.5.2 慢性试验

利用甲壳纲动物进行慢性试验通常也是从第一龄期幼虫开始,然后经历发育成熟和繁殖阶段。对于溞类来说,21 d 即可达到成熟,并产卵 3 次。对于糠虾来说,则需要 28 d。观察终点指标包括第一次产卵的时间、每只雌虫产下的后代数量、成长和存活情况。建议用 GB/T 21828 或其他同等导则的试验进行分类。

4.6 藻类/植物试验

4.6.1 藻类试验

4.6.1.1 藻类在营养丰富的基质中培养并暴露于受试物质，应采用与 GB/T 21865 一致的试验。标准试验方法采用接种体中的细胞密度，以确保在整个试验阶段（通常为 3 d~4 d）的指数增长。

4.6.1.2 藻类试验是一种短期试验。在此项研究中，首选的观察终点指标是藻类生长率抑制。

4.6.2 水生大型植物试验

在水生生物毒性试验中最常使用的维管植物是浮萍 (*Lemna gibba* 和 *Lemna minor*)。浮萍试验是一种短期试验；可提供急性和亚慢性终点指标值。试验时间最长 14 d，可在类似于藻类试验所用的营养丰富的基质中进行，但可增强强度。应使用符合美国环保局 850.4400(水生植物毒性，浮萍)的试验。

5 水生生物毒性概念

5.1 急性毒性

5.1.1 用于分类目的急性毒性，是指物质会对短期暴露的生物体产生有害作用的物质的固有特性。急性毒性通常用半数致死浓度 (LC_{50})、对 50% 的受试生物体产生可测量的有害效应(如藻类的活动抑制)来表示；或者使受试生物体(经过处理)比对照组(未处理)生物体的反应(如藻类生长率)降低 50%。

5.1.2 确定的急性毒性小于 1 mg/L (1 ppm) 的物质，通常被认为是具有很大的毒性。接触、使用这些物质或将其排放到周围环境中，具有很大的危险性；可将它们列入慢性和/或急性 1 类。高于这一类的急性毒性，采用以十为倍数进行分类。测得的急性毒性值在 1 mg/L~10 mg/L (1 ppm~10 ppm) 的物质，划为急性毒性 2 类；急性毒性值在 10 mg/L~100 mg/L (10 ppm~100 ppm) 的物质，划为急性毒性 3 类；急性毒性值在大于 100 mg/L (100 ppm 以上) 的物质，被认为是实际上无毒性物质。

5.2 慢性毒性

5.2.1 用于分类目的慢性毒性，是指物质对水生生物体在相对于其生命周期确定的暴露期间内产生有害效应的物质的固有特性。这种慢性效应通常包括一系列的亚致死终点指标，一般用无可观察效应浓度 (NOEC)，或相应的 EC_{10} 来表示。典型的观察终点指标包括存活、生长和/或繁殖。慢性毒性暴露时间随检测的试验终点指标和所用的受试物种不同，变化范围很大。

5.2.2 可快速降解和非可快速降解物质的慢性毒性的分类是不同的。可快速降解物质，在慢性毒性 ≤ 0.01 mg/L 时被划分为慢性 1 类。高于这一类的慢性毒性，采用以十为倍数进行分类。可快速降解物质，慢性毒性在 0.01 mg/L~0.1 mg/L 之间的，划分为慢性毒性 2 类；0.1 mg/L~1.0 mg/L 之间的，划分为慢性毒性 3 类；大于 1.0 mg/L 的，被认为基本无毒。非可快速降解或没有快速降解信息的物质可用两类慢性分类：慢性毒性小于等于 0.1 mg/L 的，划分为慢性 1 类；慢性毒性在 0.1 mg/L~1.0 mg/L 之间的，划分为慢性 2 类。

5.2.3 由于慢性毒性数据通常比急性毒性数据少，因此在分类计划中，对于慢性毒性可能会没有水生生物慢性毒性数据，此种情况可适当综合考虑急性毒性、不易降解性和/或潜在的或实际的生物累积的特性，确定慢性毒性的潜力。但是，只要有慢性毒性数据，就应使用这些数据，而不采用结合急性毒性、降解性和/或生物累积情况的办法。应使用下面的方法：

- a) 如果能得到所有 3 个营养级的充分的慢性毒性数据，那么可直接用于进行适当的慢性危害分级；
- b) 如果能得到 1 个或 2 个营养级的充分的慢性毒性数据，应当考察其他营养级的急性毒性数据。比较用慢性毒性数据做慢性分级和用其他营养级的急性毒性数据分级的结果，根据其中最严结果进行最终分类；

- c) 如果使用慢性毒性数据取消或降低慢性毒性的分类,应证明所采用的 NOEC(或相当的 EC₁₀),对根据急性数据结合降解性和/或生物累积进行的分类,足以消除或降低对所有物种的关注。一般可采用急性毒性确定的最敏感物种的长期 NOEC 来实现。因此,如果已经基于鱼类急性 LC₅₀进行了分类,通常不可能利用无脊椎动物毒性试验的长期 NOEC 来取消或降低这一分类。既然这样,NOEC 一般需要从同一种或相当的或更敏感种类的鱼的长期试验得到。相同地,如果分类是根据一个以上物种的急性毒性数据做出的,可能需要每个种类的 NOEC。在将一种物质划为慢性第 4 类时,应提供充分证据证明每个种类的 NOEC 或相当的 EC₁₀ 都大于 1 mg/L 或该物质的水溶解度。

5.2.4 藻类/浮萍的试验不能用于取消或降低分类是因为:

- 藻类/浮萍试验不是长期危害的研究;
- 急性毒性与慢性毒性的比值一般较窄;而且
- 终点指标较接近其他生物的急性毒性终点指标。

5.3 暴露途径

在急性和慢性试验中,包括在淡水和海水介质中进行的,都采用以下 4 种暴露条件:静态、静态更新(半静态)、循环和流水式。选择使用哪种试验类型,通常取决于受试物质特性、试验时间、试验物种和管理要求。

5.4 藻类的试验基质

藻类试验应在营养丰富的基质中进行,常见组分乙二胺四乙酸(EDTA)或其他整合剂的使用应慎重考虑。在试验有机化学品毒性时,在基质的复合微营养物中需要有微量的 EDTA 一类的整合剂;如果没有的话,藻类生长有可能会显著减慢,从而影响试验的有效性。但是,整合剂可能降低金属试验物质可检测到的毒性。因此,对于金属化合物来说,对采用高浓度整合剂的试验和/或与铁相比整合剂化学计量过多的试验中得到的数据,应进行严格的评估。游离整合剂可显著掩盖重金属的毒性,特别是在使用像 EDTA 一类的强整合剂的时候。然而,在基质中如果没有可利用的铁,藻类的生长会受到铁的限制,因此,对没有铁或较少铁和 EDTA 的试验数据,也应谨慎对待。

5.5 QSAR 的使用

出于分类目的,在没有试验数据的情况下,可利用 QSAR 预测非电解物质、非亲电物质和其他不起反应物质对鱼类、藻类和藻类的急性毒性。但对像有机磷酸酯类物质,其通过官能团与生物受体起反应或与细胞蛋白形成硫氢键这样的特殊机理起作用,应用仍然存在。通过基本麻醉机理起作用的化学物质,已经得到可靠的 QSAR。这些化学物质属于低反应性非电解质,如碳氢化合物、酒精、酮和某些脂肪族氯化烃,它们产生的生物效应与其分配系数有关。每种有机化学物质都可产生麻醉作用。然而,如果化学物质是一种电解质,或者含有可导致非麻醉机理的特定官能团,仅根据分配系数进行的任何毒性计算,都会严重低估毒性。如果毒性代谢物或降解产物出现效应需要的时间比急性毒性试验的时间长,那么母化合物急性水生生物毒性的 QSAR 数据不能用于预测这些效应。

6 证据权重

6.1 质量最好的数据应作为分类的基本基础。分类最好建立在一级数据源的基础上。明确和完整地说明试验条件十分重要。

6.2 如果某个分类群体已有多项研究,应确定哪些是最敏感的、质量最好的。应具体情况具体分析,确定是否用更敏感的非良好实验室研究的观察结果替代良好实验室研究结果。根据非标准或非良好实验

室规范导则进行试验而得出的高毒性结果,可用于分类,而如果试验结果表明无毒性时,则需要进行更仔细的考虑。难于进行试验的物质,有可能得出比实际毒性更高或更低的结果。在这些情况下,分类也需要专家判断。

6.3 当同一个分类群有多个可接受的试验结果时,应在分类时采用最敏感的试验结果[最低的 $L(E)C_{50}$ 或 NOEC]。然而,这应针对具体情况分别对待。在同一物种有较大数据集(4 或 4 个以上数值)的情况下,毒性数值的几何平均可作为该物种的代表性毒性数值。在估计平均值的时候,不能将同一分类群中不同物种,或不同生命阶段,或在不同的试验条件或试验期进行的试验结果综合在一起考虑。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
杂项危险物质和物品分类试验方法
水生生物毒性试验
GB/T 29881—2013

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(10045)

网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523941

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 0.75 字数 12 千字
2014年3月第一版 2014年3月第一次印刷

书号: 155066·1-47937 定价 16.00 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



GB/T 29881-2013