

## 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 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/cm<sup>2</sup> 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级别、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,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

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)。

2 选择半静态供液方式并增加换液次数(如 8h 一次)。

### 鱼类急性毒性试验方法

鱼类急性毒性试验方法按 GB/T 13267。

### 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。

### 卤虫急性毒性试验方法

#### 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  $LC_{50}$ 。

#### 2 试验材料

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 <sub>4</sub>	7 740
MgCl <sub>2</sub>	6 000
CaCl <sub>2</sub>	1 530
KCl	70
NaHCO <sub>3</sub>	2 000

#### 2.2 试验生物

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。

#### 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。

#### 2.3 仪器、设备

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。

2.3.2 烧杯:50 mL、100 mL

结晶皿:200 mL

吸管、聚光灯。

2.3.3 恒温光照培养箱或恒温间。

2.3.4 其他常规试验仪器、设备。

#### 3 试验设计

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。