

附件三：

《水质 物质对淡水鱼(真骨总目、鲤科)急性致死毒性的测定 半静态法》(征求意见稿)编制说明

《水质 物质对淡水鱼(真骨总目、鲤科)急性致死毒性的测定 半静态法》

标准编制组

二〇一二年六月

## 目 录

1	项目背景.....	3
2	标准制订的必要性分析.....	4
3	国内外相关分析方法研究.....	4
4	标准制订的原则和技术路线.....	5
6	参考文献.....	7

# 《水质 物质对淡水鱼(真骨总目、鲤科)急性致死毒性的测定 半静态法》编制说明

## 1 项目背景

### 1.1 任务来源

2007 年，国家质量监督检验检疫总局以《关于下达 2007 年第一批国家标准制修订项目经费的通知》（国质检财函[2007]971 号），下达了国家环保标准《水质 对淡水鱼(真骨总目、鲤科)急性致死物质毒性的测定 第 2 部分 半静态法》的编制任务，项目承担单位为中国检验检疫科学研究院和中国环境科学研究院，项目统一编号为：1207.22。

### 1.2 工作过程

#### 1.2.1 成立标准编制小组

2007 年，中国检验检疫科学研究院在接到《水质 对淡水鱼(真骨总目、鲤科)急性致死物质毒性的测定 第 2 部分 半静态法》标准任务后，立即成立了标准编制组。

#### 1.2.2 查询国内外相关标准和文献资料

2008 年 1 月~2009 年 10 月，标准编制组调研了国内外相关试验方法的研究进展，查阅了 ISO 国际标准及其他国外有关标准中关于此类试验情况。按照该标准下达任务要求，本标准的技术内容为等同采用《水质物质对淡水鱼(斑马鱼 *Brachydanio rerio*)急性致死毒性的半静态法》(ISO7346-2:1998)，即《Water quality –Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]- Semi-static method》，同时将标准名称确定为“水质物质对淡水鱼（斑马鱼）急性致死毒性的测定半静态法”。

#### 1.2.3 编写完成标准征求意见稿和编制说明

2009 年 11 月~2010 年 10 月，标准编制组以国际标准 ISO7346-1996 为蓝本，同时按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168）的要求编写完成标准征求意见稿和编制说明。

2010 年 11 月 5 日，环保部环境标准研究所受科技标准司的委托组织召开了包括《水质 对淡水鱼(真骨总目、鲤科)急性致死物质毒性的测定 第 2 部分 半静态法》在内的 9 项生物类方法标准研讨会。与会专家认为本标准为等同采用国际标准，可不开展实验室间验证试验而进行编写完善。会后标准编制组根据专家的意见，重新编写和完善了征求意见稿和编制说明，并提交环保部环境标准研究所。

## 2 标准制订的必要性分析

化学品在全世界范围内应用广泛，虽然化学品给人类的生产、生活带来很多益处，但是其在制造、储存、运输、销售、使用以及废弃后的处理过程中，由于处置不当，会对人身安全、人体健康和环境产生不利影响。因此许多国家和国际组织制定了相关法律法规和标准，对化学品的分类和标记进行系统的管理。联合国危险货物运输和化学品分类及标记全球协调制度专家委员会制订了《关于危险货物运输的建议书·规章范本》和《化学品分类和标签全球统一制度》（简称 GHS），要求必须通过科学实验对化学品的危险特性进行定级分类，通过统一的标签向化学品的使用者提供相应的安全信息，联合国要求在 2008 年在全世界范围内实施 GHS，APEC 要求有条件的国家或经济体在 2006 年提前实施 GHS。已于 2007 年 6 月 1 日生效的欧盟新化学品法规 REACH，更是开启了世界上化学品管理的新纪元，将市场上几乎所有化学品纳入管理范畴内，每年销售大于 1 吨的化学品均需注册；注册将需要化学品理化性质、卫生毒理、生态毒理的数据。

我国是化学品生产、销售和使用大国，国务院发布的《中华人民共和国危险化学品安全管理条例》明确提出对危险化学品进行强制性的管理，但目前我国尚未形成化学品对人体安全、健康以及对环境影响评估的技术标准体系。因此，我国亟待建立与国际通用标准接轨的化学品生态试验评估的技术标准，以提供化学品对环境影响的基础数据，保障人身安全健康，减少化学品对环境的不利影响，降低不必要的重复测试和评估，保护试验数据的专有权，打破技术壁垒，提高我国化学工业的竞争力，促进化学品的出口。

## 3 国内外相关分析方法研究

### 3.1 国外相关分析方法研究：

(1) ISO 7346-1-1996 《水质 对淡水鱼（真骨总目、鲤科）急性致死物质毒性测定 第 1 部分 静态法》

(2) ISO 7346-2-1996 《水质 对淡水鱼（真骨总目、鲤科）急性致死物质毒性测定 第 2 部分 半静态法》

(3) ISO 7346-3-1996 《水质 对淡水鱼（真骨总目、鲤科）急性致死物质毒性测定 第 3 部分 直流法》

(4) JIS K0420-71-10-2000 《水质 对淡水鱼急性致死物质毒性测定 第 1 部分 静态法》

(5) JIS K0420-71-20-2000 《对淡水鱼急性致死物质毒性测定 第 2 部分 半静态法》

(6) JIS K0420-71-30-2000 《对淡水鱼（真骨总目、鲤科）急性致死物质毒性测定 第 3 部分 直

流法》

### 3.2 国内相关分析方法研究：

(1) GB/T 13267-1991 水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法，修改采用 ISO 7346-3。

(2) GB/T 21281-2007 《危险性化学品 鱼类急性毒性分级试验标准方法》

(3) GB/T 21814-2008 《工业废水的试验方法 鱼类急性毒性试验》

国内尚未有与本标准相关的标准，国际上德国、英国、法国都是等同采用上述 ISO 的方法，只有日本是制订了符合本国要求的方法。综上所述决定等同采用国际标准 ISO 7346-2 标准。

## 4 标准制订的原则和技术路线

### 4.1 标准制订的基本原则

本标准为等同采用《水质 物质对淡水鱼(斑马鱼 *Brachydanio rerio*)急性致死毒性的测定 半静态法》(ISO 7346-2:1996)，符合《标准化工作指南第 2 部分采用国际标准的规则》(GBT 20000.2-2001)和《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ168-2010)的要求。

### 4.2 标准制订的技术路线

4.2.1 文献调研：对国内外相关标准和文献资料进行调研，翻译和整理 ISO 7346-2:1996，确定转化 ISO 方法，确定技术路线，并提出初步实验方案；

4.2.2 通过预实验初步建立转化 ISO 7346-2:1996 的实验方法。

4.2.3 编制标准的征求意见稿和编制说明；

4.2.4 对征求的意见进行汇总，编制标准的送审稿和编制说明；

4.2.5 送审稿经审查合格后，提交标准报批稿及编制说明；

4.2.6 报批稿经审查合格后发布。

本标准制订的具体技术路线，见图 1。

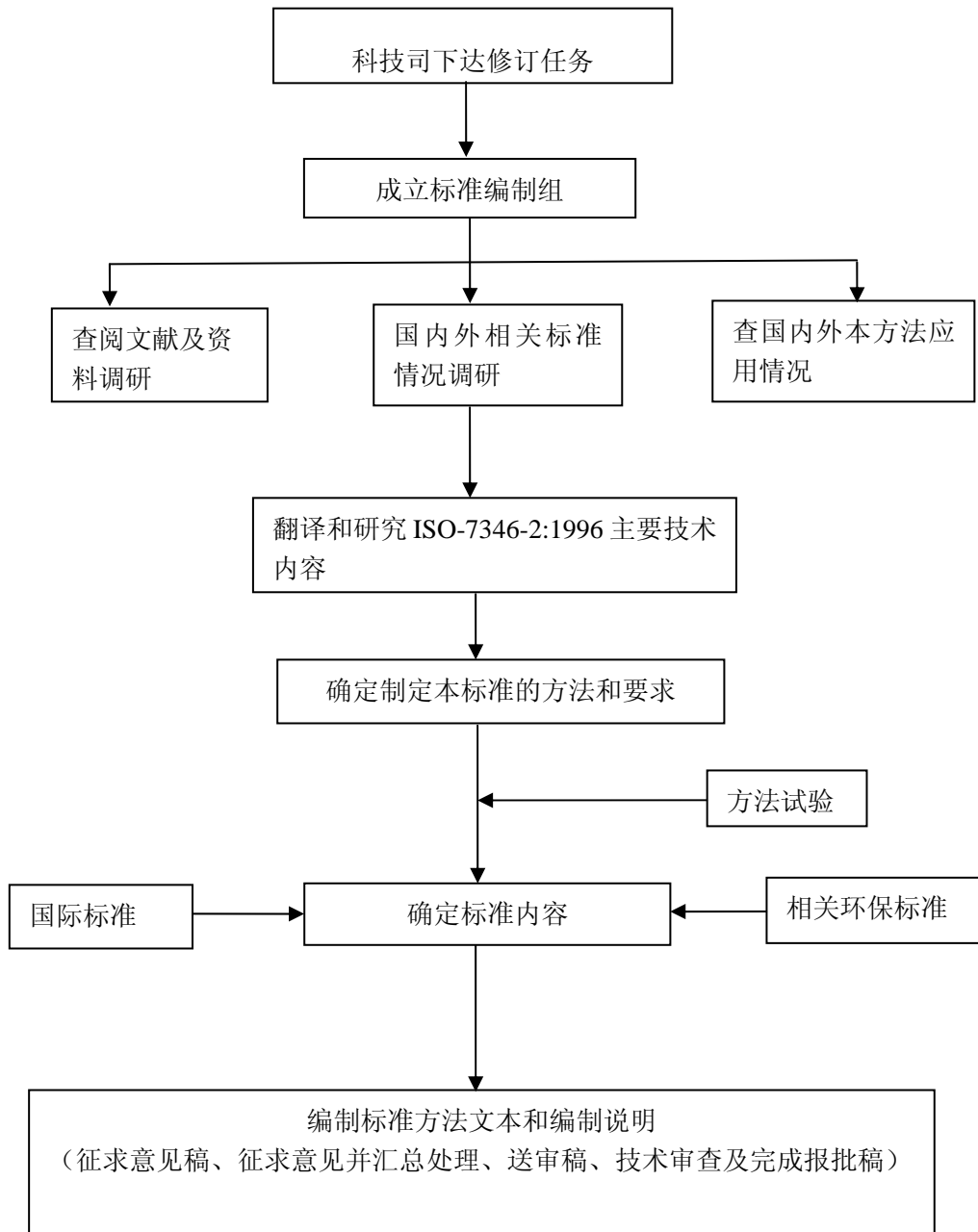


图1 标准制订的技术路线图

## 5 标准技术内容说明

本标准技术内容包括适用范围、方法原理、试验生物和试剂、仪器和设备、试验环境、试验步骤、结果表述和试验报告。

### 5.1 适用范围

参照《Water quality –Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]- Semi-stastic method》(ISO 7346-2:1996)，本标准规定了在确定的试验条件下测定稳定的、非挥发性的水溶的单一物质引起水

中淡水鱼（斑马鱼）急性致死毒性的方法-半静态法。

## 5.2 方法原理

参照 ISO 7346-2:1996，规定了本试验的方法原理。将试验分为预备试验和正式试验，规定了不同稳定性受试物质的 LC50 的估算。

## 5.3 试验生物和试剂

参照 ISO 7346-2:1996，规定了试验生物是斑马担尼鱼（真骨鱼总目，鲤科），规定了试验用鱼的大小和要求。规定了标准稀释水、试验物质储备液和试验溶液的配制。

## 5.4 仪器和设备

参照 ISO 7346-2:1996，规定了本试验对仪器设备的要求。

## 5.5 试验环境

参照 ISO 7346-2:1996，规定了试剂配制、贮存、鱼的喂养及所有试验操作过程的实验环境。

## 5.6 试验步骤

参照 ISO 7346-2:1996，规定了受试鱼的条件、限度试验、预备试验和正式试验的试验浓度分组和操作过程。

## 5.7 结果表述

参照 ISO 7346-2:1996，介绍了 2 种估算 LC50 的方法，即直线内插法估算 LC50 和概率单位图解法估算 LC50。

## 5.8 检测报告

参照 ISO 7346-2:1996，介绍了检测报告应包括以下资料及数据。

## 6 参考文献

- [1] FINNEY. DJ. Statistical Methods in Biological Assay, Wycombe, United Kingdom, Griffin (1978);
- [2] LITCHFIELD, J.T.和 WILCOXON, F. A Asimplified method for evaluating dose-effect experiment. J. Pharmacol. Exp, Ther. 96(1949), P99~113;
- [3] STEPHAN, C.E. Methods for calculating an L50 Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, ASTM (1977), ST, P 634;
- [4] AXELROD, HP. Breeding Aquarium Fishes Book 1. T.F.H. Publication, 1967;
- [5] LAALE, H.W. The biology and use of zebra fish (Brachydanio rerio) in fisheries research. Aliteratura review. J. Fish Biol. 10 (2) (1977), P121~173;
- [6] MERTENS, J. Year-round controlled mass reproduction of the zebra fish. Aquaculture 2 (1973),

P245~249;

[7] NEWSOME, C.S. 和 PIRON, R.D. Aetiology of skeletal deformities in the Zebra Danio fish (Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan) . J. Fish Biol. 21 (1982), P231~237;

[8] NIIMI, A.J. 和 LAHAM, Q.N. Influence of breeding time interval on egg number, mortality and hatching of the zebra fish (Brachydanio rerio) . Can. J. Zool. 52 (1974), P515~517;

[9] PIRON, R.D. Spontaneous skeletal deformities in the zebra fish (Brachydanio rerio) bred for fish toxicity tests. J. Fish Biol. 13 (1978), P79~84.