



中华人民共和国国家标准

GB/T 45422—2025

化学品 地表水系统-沉积物中泥鳅 毒性试验

Chemicals—Surface water-sediment *Misgurnus anguillicaudatus* toxicity test

2025-02-28 发布

2025-09-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 试验原理	2
5 受试物信息	2
6 仪器设备	2
7 试验系统	2
7.1 受试生物	2
7.2 试验用水	3
7.3 试验条件	3
7.4 沉积物	3
8 试验程序	4
8.1 预试验	4
8.2 限度试验	4
8.3 正式试验	4
8.4 生物观察	5
8.5 浓度分析	5
9 质量保证与质量控制	5
10 数据与报告	5
10.1 试验数据	5
10.2 试验数据处理	6
10.3 结果报告	6
附录 A（资料性） 泥鳅生物学特性	8
A.1 分类地位	8
A.2 生活习性	8
A.3 生物学特性	8
附录 B（规范性） 试验用水的化学特征	9
附录 C（资料性） 配制沉积物的组成	10
参考文献	11

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件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。

本文件起草单位：中国环境科学研究院、南开大学、中检科健（天津）检验检测有限责任公司、南昌大学、中国海洋大学、南京大学。

本文件主要起草人：刘征涛、李霁、祝凌燕、张彦峰、王晓南、闫振广、陈会明、周丽丽、葛刚、李正炎、王尚洪、王遵尧、孙成、郑欣。



化学品 地表水系统-沉积物中泥鳅 毒性试验

1 范围

本文件描述了化学品地表水系统-沉积物中泥鳅毒性试验的试验原理、受试物信息、仪器设备、试验系统、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本文件适用于地表水环境中化学品对底栖生物泥鳅的毒性效应测试，不适用于挥发性物质测试。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 5750.4 生活饮用水标准检验方法 第4部分：感官性状和物理指标

GB/T 11901 水质 悬浮物的测定 重量法

GB 17378.5 海洋监测规范 第5部分：沉积物分析

HJ 494 水质 采样技术指导

HJ 501 水质 总有机碳的测定 燃烧氧化-非分散红外吸收法

HJ 586—2010 水质 游离氯和总氯的测定 N, N-二乙基-1,4-苯二胺分光光度法

HJ 1257 化学物质环境管理 化学物质测试术语

3 术语和定义

HJ 1257 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

上覆水 overlying water

试验容器中位于沉积物之上的水。

3.2

间隙水或孔隙水 interstitial water or pore water

占据沉积物或土壤颗粒内部空间的水。

3.3

人工沉积物 formulated sediment

由多种材料组成的用于模拟天然沉积物成分的混合物。

注：又称再造或合成沉积物。

3.4

加标沉积物 spiked sediment

添加了受试物的沉积物。

3.5

半数致死浓度 median lethal concentration; LC₅₀

引起一组受试实验生物半数死亡的目标受试化学物质的浓度。

3.6

半数效应浓度 median effect concentration; EC_{50}

引起一组受试实验生物半数出现某种生物效应的目标受试化学物质浓度。

3.7

10% 致死浓度 10% lethal concentration; LC_{10}

在给定测试周期内，导致 10% 受试生物死亡的目标受试化学物质浓度。

4 试验原理

选取经过驯养、大小一致（4 cm~6 cm）、生理状态相近的泥鳅，暴露于含有一系列浓度受试物的沉积物-水系统中，测定该受试物对泥鳅的毒性。受试物添加到沉积物中，并设置不添加受试物的对照。受试物的浓度在沉积物和水中的平衡后，加入泥鳅，暴露 96 h 或 21 d。记录泥鳅的死亡、平衡受损、鳃部渗血等中毒情况，计算 10% 致死浓度（ LC_{10} ）、半数致死浓度（ LC_{50} ）和半数效应浓度（ EC_{50} ）等参数。

5 受试物信息

试验前，应掌握下列受试物信息：

- a) 结构式；
- b) 纯度；
- c) 水中溶解度；
- d) 蒸气压；
- e) 解离常数（ pK_a ）；
- f) 正辛醇-水分配系数（ K_{ow} ）；
- g) 在水中和沉积物中的稳定性；
- h) 受试物在沉积物、上覆水、孔隙水或间隙水中的定量分析方法；
- i) 快速生物降解试验结果。

6 仪器设备

试验容器和其他与试验系统直接接触的器具应由玻璃或其他化学惰性材料制成。

其他仪器设备包括 pH 计、溶解氧测定仪、硬度计、电导率仪、有机碳分析仪、曝气装置，以及其他化学分析所需相关设备。

7 试验系统

7.1 受试生物

7.1.1 受试生物的选择

试验的受试生物为泥鳅（*Misgurnus anguillicaudatus*），即青鳉，属于鲤形目，鳅科。试验中所使用的泥鳅应取自同一实验室环境下驯养的群体。泥鳅驯养时的环境条件应与试验时条件一致。泥鳅生物学特性见附录 A。

7.1.2 受试生物的驯养

泥鳅置于惰性材质容器中驯养，水深为 5 cm~7 cm。容器中加入经曝气 48 h 的试验用水，水温为 18℃~25℃，水体 pH 值为 6.0~9.0，溶解氧不低于所用温度下空气饱和值的 60%，光照为每天 12 h~16 h。每周至少喂鱼食 1 次，投喂量为泥鳅总体重的 4%~8%，及时清除粪便及残饵。驯养过程中及时添注试验用水保持水量恒定，并且每周换水 1 次~2 次。泥鳅驯养 2 周及以上且死亡率小于 10% 可用于试验。

7.1.3 受试生物的选择

从成功驯养且死亡率达标的泥鳅群体中随机选取体色一致、健康、体长为 4 cm~6 cm 的泥鳅开展试验，同一批次试验所用泥鳅来自同一种群的健康个体。试验前泥鳅禁食 24 h 进行清肠。

7.2 试验用水

试验用水应适合泥鳅的存活、生长和繁殖。试验用水可使用天然水或除氯自来水。天然水可是无污染的井水、泉水或地表水，也可是取自沉积物样品采集地的原水，其硬度、碱度、电导率和 pH 值等应保持稳定，充分曝气。整个试验过程中应使用同一类型的水。试验用水的化学特征应符合附录 B 的规定。

7.3 试验条件

试验温度在 20℃~25℃ 范围之内，水体 pH 值为 6.0~9.0，溶解氧浓度不低于空气饱和值的 60%，光照时间为每天 16 h，光照强度为 400 lx~800 lx。

7.4 沉积物

7.4.1 沉积物的制备

 沉积物可采用天然沉积物或人工配制沉积物。天然沉积物可取自无污染的地点，采样方法按照 HJ 494 规定进行。测定沉积物孔隙水的 pH 值、总有机碳（TOC）和含水率。含水率按照 GB 17378.5 规定的方法测定。配制沉积物的组成见附录 C。

7.4.2 加标沉积物系统

使用无污染的天然沉积物或人工配制的沉积物配制加标沉积物。受试物应均匀地分布在沉积物中。对于水溶解度低的有机化学品可使用物理强化分散混匀加入沉积物，金属类无机化学品可以水溶液形式加入沉积物中。受试物加入沉积物之后，可通过旋转震荡搅拌器、饲料搅拌器或人工搅拌使受试物与沉积物混合均匀。

7.4.3 加标沉积物-水系统

将加标沉积物置于试验容器中，沉积物层的深度范围为 1.5 cm~3.0 cm，加入上覆水使得沉积物与水深度比为 1:3~1:5。在试验温度和曝气条件下稳定一段时间。合适的稳定时间因沉积物类型和受试物的化学性质而异。稳定时间短会使受试物在水相和沉积物间达不到分配平衡，稳定时间过长会导致很多化合物发生降解。推荐稳定时间是 24 h~48 h。在此平衡周期后，至少测定最高和一个较低浓度组中上覆水、孔隙水或间隙水、沉积物中受试物的浓度（mg/L 或 mg/kg）。这些受试物浓度的测定结果能够明确受试物在沉积物-水系统中的稳定性和分配平衡情况。

8 试验程序

8.1 预试验

8.1.1 准备容器制备加标沉积物-水系统，加标沉积物浓度宜以 10 为公比做间距，例如 0.1 mg/kg（干重）、1 mg/kg（干重）、10 mg/kg（干重）、100 mg/kg（干重）和 1 000 mg/kg（干重），也可根据需要选定其他等比，设置空白对照，可不设平行组。

8.1.2 每个容器中放 8 尾泥鳅，调节并保持试验温度为 20℃~25℃，根据受试终点的不同，设置试验时间 96 h 或 21 d。每天测定一次溶解氧浓度，观察并记录泥鳅的中毒症状及死亡。死亡泥鳅应及时捞出，以免破坏水质，影响试验结果。

8.1.3 根据试验结果确定泥鳅 96 h 的无死亡和全死亡浓度范围，设计以死亡率作为受试终点的正式试验的浓度范围。根据试验结果确定受试物 21 d 的最高死亡率和最低死亡率、鳃部渗血率或平衡受损率浓度范围，设计以死亡率、鳃部渗血率或平衡受损率为受试终点的正式试验浓度范围。死亡个体也计入鳃部渗血和平衡受损。

8.1.4 按照本文件规定的试验条件对泥鳅进行沉积物-水系统受试物测试时，应在试验开始时测定上覆水 pH 值和电导率，在试验过程中每天测定上覆水的溶解氧浓度和温度，以保证毒性试验的可靠性。

8.2 限度试验

本文件规定的试验条件下，以加标沉积物中最大受试物的浓度为 1 000 mg/kg（干重）或上覆水、孔隙水中浓度为 1 000 mg/L，每个试验容器取 10 尾泥鳅进行试验，试验周期 96 h 或 21 d。试验和对照各需至少 3 个平行样。96 h 试验结束时如果泥鳅没有死亡或者 21 d 试验结束时泥鳅没有明显毒性效应出现，比如死亡、平衡受损、鳃部渗血等，则不再进行下一步试验。试验结果以 96 h LC_{50} 大于 1 000 mg/kg（mg/L）、21 d LC_{50} 大于 1 000 mg/kg（mg/L）或 21 d EC_{50} 大于 1 000 mg/kg（mg/L）表示。

8.3 正式试验

8.3.1 试验设计

8.3.1.1 在预试验确定的浓度范围之间，以几何级数做间距，至少设置 5 个浓度进行正式试验，浓度间隔系数应小于或等于 3.2。每个浓度设置 3 个平行，每个平行放入 10 尾泥鳅，进行正式试验。在 3 个相邻几何系列浓度宜测得 20%~80% 的死亡率，以计算 LC_{50} 值。同样，以鳃部渗血或平衡受损情况作为受试终点，按照此方法确定浓度范围，以计算 EC_{50} 值。

8.3.1.2 如果计算最低可观察效应浓度（LOEC）/无可观察效应浓度（NOEC），至少设置 5 个浓度，每个浓度至少 4 个平行，浓度间隔系数应小于或等于 2。保证每个平行有足够的生物数量。每隔 2 d 补充一次上覆水，保证沉积物和上覆水的体积比一致。

8.3.1.3 试验中应设置对照，对照应至少设置 3 个平行。测试终点包括存活率、鳃部渗血率、平衡受损率等。

8.3.2 试验条件

8.3.2.1 宜采用静态系统。在有些情况下，比如水质指标变得不适合泥鳅正常的存活、生长和繁殖或者影响化学平衡时（如试验体系水中溶解的氧气含量变化过低、半挥发性受试物浓度稳定期短、泥鳅的排泄物含量过高或者从沉积物中析出的矿物质影响水的 pH 值或硬度时），也可使用半静态系统，间断性地更新上部水体。

8.3.2.2 96 h 急性试验期间不喂食，21 d 慢性试验期间每 7 d 至少喂食一次。

8.3.2.3 试验期间应对试验上覆水进行温和曝气，以保证溶解氧浓度不低于饱和溶氧的 60%。在曝气过程中不应应对沉积物扰动。

8.3.2.4 在正式试验开始时测定上覆水 pH 值和电导率，在试验过程中每天测定上覆水的溶解氧浓度和温度，以保证加标沉积物-上覆水系统的稳定性。

8.4 生物观察

8.4.1 平衡受损

泥鳅在静止的情况下，出现翻身，支撑能力减弱而浮于水位中部情况，视为平衡受损。

8.4.2 鳃部渗血

泥鳅出现鳃部出血、肿大等情况，视为鳃部渗血。

8.4.3 死亡

泥鳅没有任何肉眼可见的运动（如鳃的扇动），且碰触尾柄后无反应，视为死亡。

8.5 浓度分析

8.5.1 在暴露试验开始前，至少测定最高和一个较低浓度组中上覆水、孔隙水或间隙水、沉积物中受试物的浓度。在暴露期开始和结束时，应至少从每个浓度组的一个试验容器中取上覆水和沉积物进行受试物的浓度分析。半静态试验中，在更换溶液时应测定所有试验组在换水前后的新、旧试验系统中上覆水和沉积物的浓度。

8.5.2 孔隙水或间隙水采集宜用离心法，条件可为：10 000g（ g 为自由落体加速度值）、30 min。

8.5.3 试验期间，如沉积物中受试物实测浓度维持在加标浓度的 $\pm 20\%$ ，可用加标浓度表示结果。如受试物实测浓度无法维持在加标浓度的 $\pm 20\%$ ，96 h 急性毒性试验应以暴露期间实测浓度的几何平均值表示结果，21 d 慢性毒性试验应以暴露期间实测浓度的时间-加权平均浓度表示结果。时间-加权平均浓度的计算方法见 GB/T 42366—2023 的附录 C。

9 质量保证与质量控制

如满足以下条件，试验结果有效。

- a) 试验结束时，对照组所有平行的平均死亡率、平均平衡受损率和平均鳃部渗血率均不超过 20%。
- b) 试验结束时，各实验容器中温度、溶解氧和 pH 值应保持在可接受的范围内。溶解氧至少应为所用温度下空气饱和值的 60%，所有容器中上覆水的 pH 值应为 6.0~9.0。水温变化不超过 ± 2 。

10 数据与报告

10.1 试验数据

10.1.1 死亡率

每个容器中死亡的泥鳅数 m ，除以每个容器中受试泥鳅总数 M ，即得死亡率，见公式（1）：

$$LR = \frac{m}{M} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

LR —— 死亡率；

m —— 每个容器中死亡的泥鳅数；

M —— 每个容器中受试泥鳅总数。

10.1.2 平衡受损率

每个容器中出现平衡受损症状的泥鳅数 a ，除以每个容器中受试泥鳅总数 M ，即得平衡受损率，见公式（2）：

$$\text{平衡受损率} = \frac{a}{M} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

a —— 每个容器中出现平衡受损症状的泥鳅数；

M —— 每个容器中受试泥鳅总数。

10.1.3 鳃部渗血率

每个容器中出现鳃部渗血症状的泥鳅数 b ，除以每个容器中受试泥鳅总数 M ，即得鳃部渗血率，见公式（3）：

$$\text{鳃部渗血率} = \frac{b}{M} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

b —— 每个容器中出现鳃部渗血症状的泥鳅数；

M —— 每个容器中受试泥鳅总数。

10.2 试验数据处理

10.2.1 概述

毒性试验报告结果为 LC_{10} 、 LC_{50} 和 EC_{50} 。通过剂量-反应模型计算 LC_{10} 、 LC_{50} 和 EC_{50} ，常用的方法有概率单位图解法、直线内插法等。

10.2.2 概率单位图解法

用半对数坐标，以浓度对数为横坐标，死亡百分率、鳃部渗血率或平衡受损率对数概率单位为纵坐标绘图。将各实测值在图上画一条相关直线，从直线中读出 LC_{10} 、 LC_{50} 和 EC_{50} 。

10.2.3 直线内插法

采用线性刻度坐标，绘制死亡百分率、鳃部渗血率或平衡受损率对受试物浓度的曲线，从引起 50% 死亡和鳃部渗血或平衡受损的内插浓度值求出 LC_{10} 、 LC_{50} 和 EC_{50} 。

10.2.4 软件算法

采用合适的计算机软件计算 LC_{10} 、 LC_{50} 和 EC_{50} 等。

10.3 结果报告

试验报告应包括以下内容。

a) 受试物信息：

名称、结构、纯度、来源、理化性质（如水中溶解度、蒸气压、 pK_a 、 K_{ow} 、稳定性）等。

b) 受试生物信息：

名称、来源、驯化和培养等。

c) 试验程序：

- 1) 试验系统：试验用水、沉积物的制备、性质和加标方法；
 - 2) 试验方法：静态或半静态试验；
 - 3) 试验设计：受试生物数量、受试物加标浓度和实测浓度；
 - 4) 试验条件：暴露的时间和条件；
 - 5) 测定方法：受试物浓度测定方法和生物效应测定方法。
- d) 试验结果：
- 1) 试验浓度，加标浓度和实测浓度；
 - 2) 受试生物产生效应（死亡率、平衡受损率、鳃部渗血率等）情况；
 - 3) 试验终点（ LC_{50} 、 EC_{50} ）及统计方法；
 - 4) 对本文件偏离的解释说明。

附 录 A
(资 料 性)
泥鳅生物学特性

A.1 分类地位

本文件受试生物为泥鳅，属于鲤形目，鳅科。

A.2 生活习性

泥鳅喜栖息于静水的底层，常出没于湖泊、池塘、沟渠和水田底层富有植物碎屑的淤泥表层，广泛分布于我国除青藏高原外的大部分地区，以长江流域物种资源最为丰富。泥鳅是以动物性食物为主的杂食性动物，食性广，多在晚上出来摄食小型甲壳动物、水蚯蚓、昆虫、扁螺、高等植物的碎屑及藻类等，有时亦食取水底腐殖质或泥渣。

A.3 生物学特性

泥鳅的图片如图 A.1 所示。泥鳅体细长，前段略呈圆筒形，后部侧扁，腹部圆。须 5 对，最长口须后伸到达或稍超过眼后缘。无眼下刺。鳞小，埋于皮下。尾柄上皮褶棱低，与尾鳍相连。尾柄长大于尾柄高。尾鳍圆形。肛门靠近臀鳍。自然条件下，泥鳅 4 月上旬开始繁殖，以 5 月～6 月最盛。卵无色，几乎透明，产出后略具黏性，1 d～2 d 即可孵化。幼鱼刚孵出，具有外露鳃条，以后逐步蜕变而成鳅形。



图 A.1 泥鳅的图片

附 录 B
(规范性)
试验用水的化学特征

试验用水的化学特征要求见表 B.1。

表 B.1 试验用水的化学特征

指标	浓度	测试方法
颗粒物	<20 mg/L	GB/T 11901
总有机碳	<2 mg/L	HJ 501
余氯	<10 μg/L	HJ 586—2010
硬度（以CaCO ₃ 计）	<400 mg/L	GB/T 5750.4

附 录 C

(资料性)

配制沉积物的组成

试验中使用配制沉积物，能够最大限度地降低试验条件的变异程度，并且避免引入其他生物。使用的沉积物应保证受试生物正常地存活、生长和繁殖，不使受试生物出现任何异常的外观和行为。配制沉积物的组成。

- a) 泥炭4%~5% (干重) 或无：使用粉末状、中等分散度、磨细 (粒度不大于0.5 mm)、风干的泥炭。
- b) 高岭土 (20±1)% (干重) 或无：高岭石含量高于30%。
- c) 石英砂75%~76% (干重) 或98%~100% (干重)：粒度不大于2 mm，50%以上的颗粒粒度在50 μm~500 μm。
- d) 去离子水：加入沉积物干组分中，占最终沉积物重量的30%~50%。
- e) 分析纯CaCO₃：调节最终沉积物pH值为7.0±0.5。
- f) 总有机碳1%~2% (干重)：根据a) 和c) 用适量泥炭和石英砂调节。

参 考 文 献

- [1] GB/T 42366—2023 化学品 静水椎实螺繁殖试验
 - [2] 环境保护部化学品登记中心.化学品测试方法生物系统效应卷（第二版）[M]. 北京：中国环境出版社，2013.
 - [3] USEPA （2000）. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates—Second Edition. EPA 600/R-99/064.
 - [4] Stuart Simpson, Graeme Batley （2016）. Sediment Quality Assessment—A Practical Guide （Second Edition）. CSIRO Publishing, Australia.
-



