

全废水毒性测试方法与应用

上海市检测中心 生物与安全检测实验室
陈晓倩

Email : chenxq@apm.sh.cn

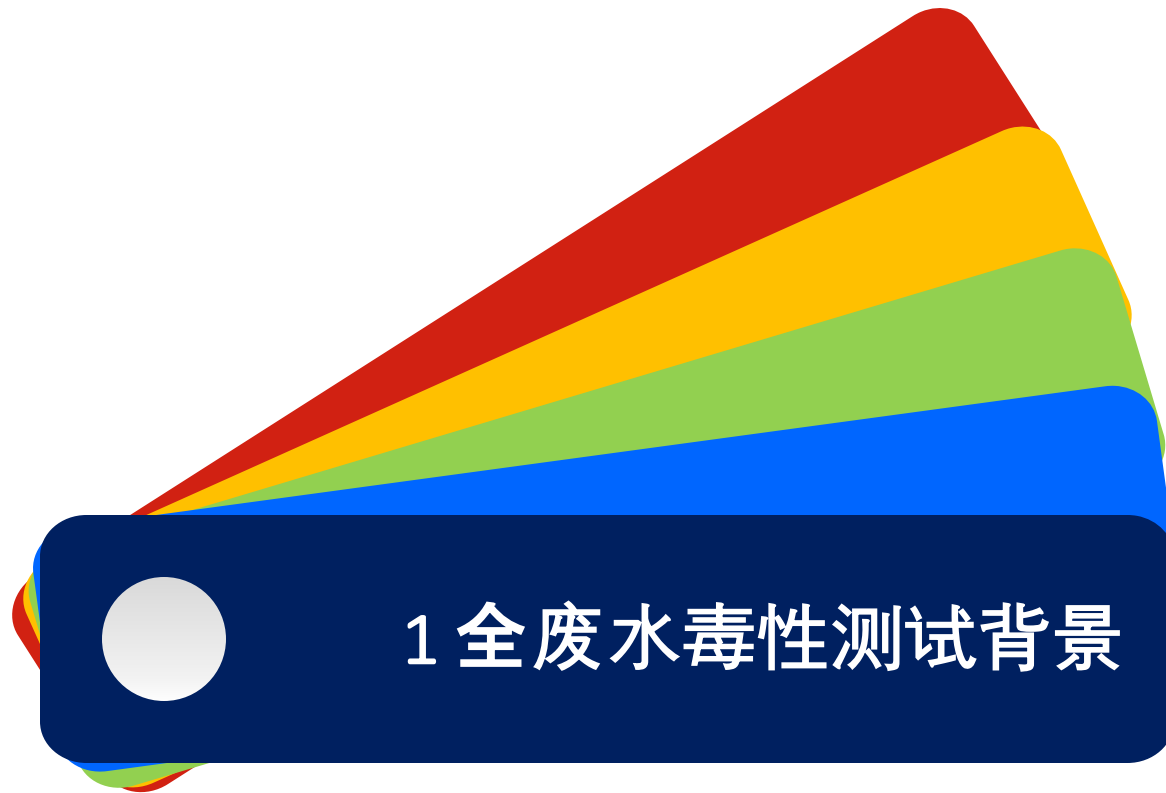
Speaker Bio

- 陈晓倩，高级工程师，实验室副主任，1998年毕业于华东师范大学生物化学专业，分别在上海市环境科学院和上海市检测中心工作。
- 主要从事生态毒理学研究和环境行为研究，环境风险评估工作，曾担任过实验室项目负责人，质量负责人，熟悉ISO 17025和GLP质量体系。
- 兼任中国毒理学会理事，上海毒理学会副秘书长，化学品测试技术标委会委员，生态环境部新化学物质登记注册评审专家。
- 主持/参与科技部“863”子课题等多项国家及上海市科研项目，发表论文10余篇。
- 联系方式：13585737132，微信号：13661480382
- Email: chenxq@apm.sh.cn



目录

- ◆ 1 全废水毒性测试背景
- ◆ 2 什么是全废水毒性测试
- ◆ 3 全废水毒性测试方法介绍
- ◆ 4 废水毒性测试结果应用
- ◆ 5 实验室简介



1 全废水毒性测试背景

全废水毒性测试 (WET) 背景

- 1980s年代早期-美国EPA发布了WET测试方法，1995- 美国法律 40 CFR 136 写入WET方法，给WET确立了法律地位。USEPA(美国国家环境保护局)将WET(whole effluent toxicity, 全废水毒性)定义为由水生生物毒性测试直接测量的排水综合毒性效应，将WETT(whole effluent toxicity test, 全废水毒性测试)定义为用一组淡水、海水与河口的标准化植物、无脊椎动物和脊椎动物评估排水和接纳水体的急性和慢性综合毒性的测试，并且将WET技术与水质基准项目、水生态评价项目并称为水质毒性控制战略的三大控制措施
- 新西兰和韩国也采用WET表示排水综合毒性，英国和澳大利亚采用DTA (direct toxicity assessment, 直接毒性评价)表示排水综合毒性，加拿大则采用EEM(environmental effects monitoring, 环境效应监测)表示排水综合毒性，OSPAR(欧洲大陆国家组织《保护东北大西洋海洋环境公约》15国)和COHIBA(波罗的海有害物质控制项目8国)进一步提出WEA (whole effluent assessment, 排水综合评价)，其定义为一组用于评价排水的持久性、生物蓄积性和综合毒性的生物学测试

全废水毒性测试 (WET) 背景

- 我国水质生物毒性测试标准现状2002年国家环境保护总局发布了《水和废水监测分析方法》(第4版),其中包括藻类生长抑制试验、溞类活动抑制试验、鱼类急性毒性试验、发光细菌急性毒性试验、种子发芽和根伸长的毒性试验等5个生物毒性测试方法;同时,还增加了细菌回复突变(AMES)试验、姐妹染色单体交换(SCE)试验、植物微核试验等3个遗传毒性试验方法,这些方法基本等同于行业标准方法,我国有4个现行的水质生物毒性测试方法国家标准。
- 我国水质生物毒性测试方法标准数量有限,本土受试生物种类少、标准化程度不足,尚未形成物种门类齐全的测试方法标准系,构建我国排水综合毒性测试技术体系,应充分借鉴发达国家成熟的测试方法标准,同时着力筛选培育本土受试生物,进一步制订本土受试生物测试方法标准,分步、分区制订并完善我国排水综合毒性测试标准系列。



2 什么是全废水毒性测试

什么是全废水毒性测试 (WET)

- 目前，工业废水排水的环境监测方法大体上可分为两类：理化分析和全废水毒性测试。
- 理化分析是单一污染物的废水常规指标测试，发展比较成熟，国外测试指标为120多项，国内截止于现在为80多项。
- 全废水毒性测试使用标准试验生物评价工业废水的有害效应/毒性，被用于检测工业废水或接受环境水体的毒性。也称为“生物检测”或“生物监测”。



什么是全废水毒性测试 (WET)

理化分析依靠有限的单一污染物指标评价工业废水水质安全存在以下不足:

- ①单一指标一般是依据化学物质对人类的健康影响来制定的, 较少考虑对生态系统的影响;
- ②不能反映化学物质间的联合、协同、叠加、拮抗等作用;
- ③有毒有害污染物种类繁多, 对毒性数据不足、或其毒性还没有被认识到的化学物质难以进行控制;
- ④工业生产中制造和使用的化学物质的种类日趋增加, 新的有毒有害化学物质不断出现, 将使单一指标越来越多, 且由于新的有毒有害化学物质在环境中的浓度非常低, 这会大大增加分析技术的难度和分析费用。

什么是全废水毒性测试 (WET)

全废水毒性测试作用：

- 监测复杂污染物对环境的联合效应，直观地反映污染水体的综合毒性，因此，又被称为综合毒性检测
- 预测和控制化学物质污染的一种不可缺少的辅助手段
- 寻求化学物质或工业废水对水生生物的安全浓度
- 制定合理的水质标准和废水排放标准提供科学依据
- 检查废水处理的有效程度
- 测试水体的污染程度
- 比较不同化学物质的毒性高低

3 全废水毒性测试 方法介绍

采样

试验生物

方法

结果分析

WET 测试可以回答的问题

- 废水是否具有急性毒性？
- 废水是否具有任何亚致死效应（如缺乏繁殖，生长或繁殖力）？
- 试验生物在敏感性上的差异？
- 毒性是否随着时间而改变？
- 不同废水或测试样品的相关毒性是什么？

采样位置废水理化分析采样规范一致

表 3 化学药品制剂制造排污单位废水类别、污染物项目及污染治理设施一览表

废水类别	污染物项目	许可排放量 污染物项目	污染治理设施			排放去向	排放口类型	排放标准 ^a
			污染治理 设施名称	污染治理工艺	是否为可行技术			
综合废水（生产废水、公用单元废水、生活污水、初期雨水）	pH 值、化学需氧量、氨氮、总磷、总氮、悬浮物、五日生化需氧量、总有机碳、急性毒性（HgCl ₂ 毒性当量）	化学需氧量、氨氮	综合废水处理站	预处理：灭活、中和、混凝沉淀、气浮、其他 生化处理：水解酸化、好氧生物、其他	是□ 否□ 如采用不属于“6 污染防治可行技术要求”中的技术，应提供相关证明材料	直接排放 ^b	重点管理排污单位为主要排放口，简化管理排污单位为一般排放口	GB 21908
						间接排放 ^c		GB 21908 ^d
						不外排 ^e	/	/
生活污水单独排放	pH 值、化学需氧量、氨氮、总磷、总氮、悬浮物、五日生化需氧量	/	生活污水 处理系统	预处理：灭活、格栅、混凝、沉淀、其他； 生化处理：好氧生物法、其他	是□ 否□ 如采用不属于“6 污染防治可行技术要求”中的技术，应提供相关证明材料	直接排放 ^b	一般排放口	GB 21908
			/	/		/	间接排放 ^c	/

^a 地方有排放标准要求的，按照地方排放标准执行。
^b 直接排放指直接进入海域；直接进入江河、湖、库等水环境；进入城市下水道（再入江河、湖、库）；进入城市下水道（再入沿海海域），以及其他直接进入环境水体的排放方式。
^c 间接排放指进入城镇污水处理厂；进入其他排污单位；进入工业废水集中处理厂，以及其他间接进入环境水体的排放方式。
^d 当废水间接排入其他废水集中处理设施时，按照排污单位与废水集中处理设施责任单位的协商值确定，并报当地生态环境主管部门备案。
^e 不外排指回喷、回灌、回用等。

采样周期和频率

表 6 化学药品制剂制造废水排放口监测指标及最低监测频次

监测点位	监测指标	监测频次	
		直接排放	间接排放
废水总排放口	流量、pH 值、化学需氧量、氨氮	自动监测	季度
	总磷、总氮、悬浮物、五日生化需氧量	月	季度
	急性毒性 (HgCl ₂ 毒性当量)、总有机碳	季度	半年
生活污水单独排放口	流量、pH 值、化学需氧量、氨氮、总磷、总氮、悬浮物、五日生化需氧量	月	/

注 1：设区的市级及以上生态环境主管部门明确要求安装自动监测设备的污染物项目，须采取自动监测。
注 2：其余监测点位及监测指标按该行业自行监测指南执行。

采样类型

抓样

- 单个离散样品或收集不超过15分钟的单个样品
- 代表样品采集时废水的状况
- 样本量取决于要执行的分析的类型和数量。



复合样品

- 一般24小时或运行期间样品
- 流动加权和时间加权
- 能够自动或手动收集



采样条件

- 文件记录采样时的环境条件
- 在一般运行条件下，有排放时进行采样
- 样品收集在酸/丙酮冲洗过的玻璃瓶或没有使用过的塑料容器内
- 收集后容器没有顶空
- 收集和运输过程中放置在低温下，一般低于7摄氏度
- 在运输前检查pH，总残留氯 (TRC)，氨
- 样品保存时间，一般36小时内

试验生物物种-淡水种

淡水藻



近头状伪蹄形藻
Pseudokirchneriella subcapitata

淡水溞类



大型溞
Daphnia magna



网纹溞
Ceriodaphnia dubia

淡水鱼类



斑马鱼
Danio rerio



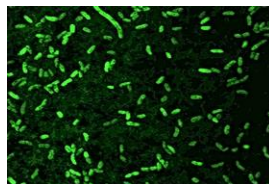
稀有鮎鲫
Gobiocypris rarus
中国本土鱼种



黑头软口鲮
Pimephales promelas

试验生物物种-海水种

海水细菌类



发光细菌费歇尔弧菌
Vibrio fischeri

海水无脊椎
动物类



糠虾
Mysidopsis bahia

海水鱼类



内陆银河鱼
Menidia beryllina

试验方法

毒性试验：在适当控制的条件下，把受试生物放在不同浓度的废水中，观察记录生物的各种反应。

1.急性毒性试验：测定一种毒物在不同浓度时，24h、48h、96h小时期间的相对致死性。

LC₅₀：废水在限定时间内使50%的试验生物个体死亡的浓度

2.慢性毒性试验：水生生物长时间暴露在低浓度毒物下所产生的可观察的生物效应。

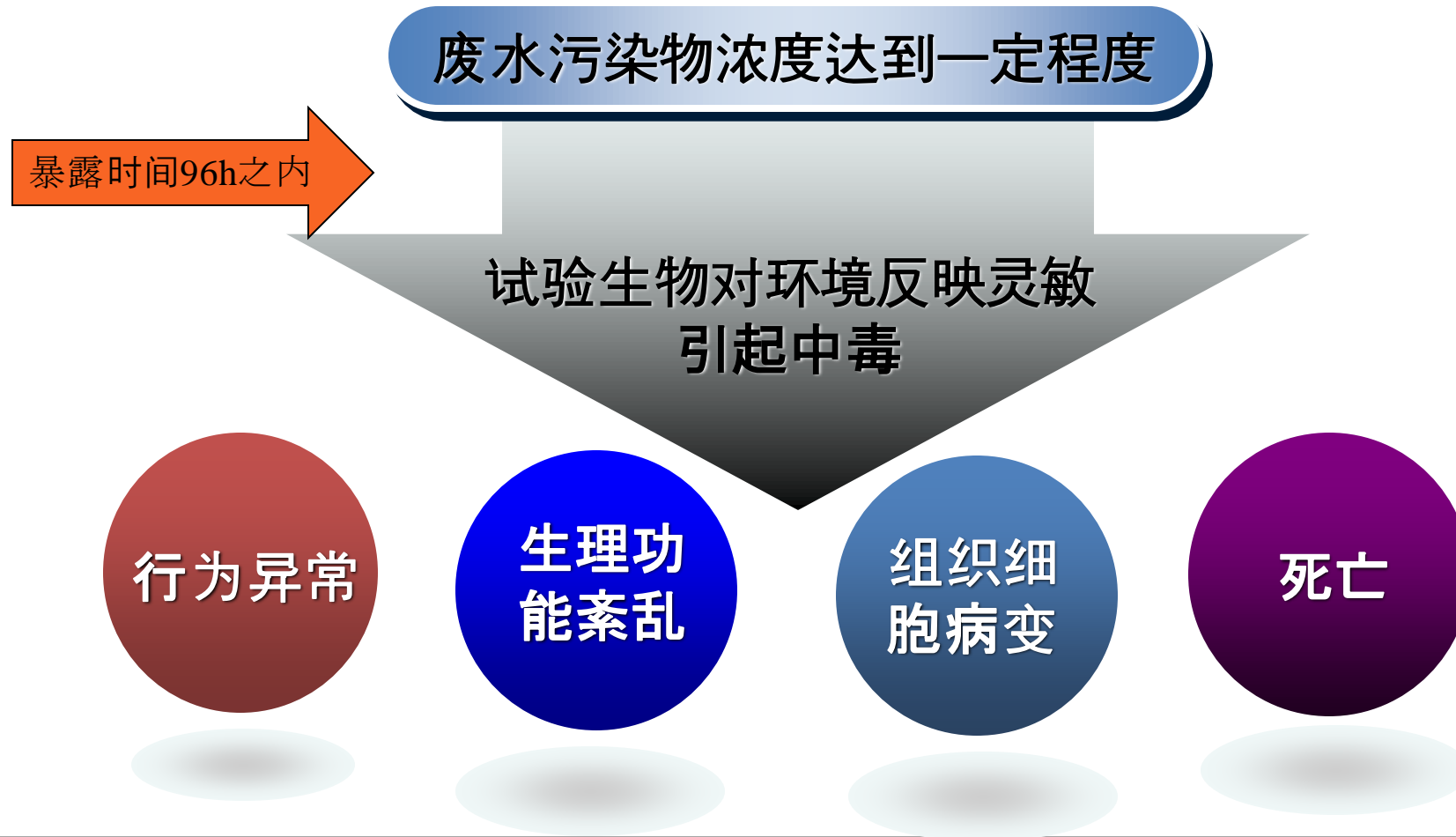
EC₅₀：废水在限定时间内对50%的试验生物生命各项指标有害影响的浓度

NOEC：废水在限定时间内对试验生物生命各项指标最大无效应浓度

LOEC：废水在限定时间内对试验生物生命各项指标最小有效应浓度

测试各项指标：生长情况（体长和体重），存活时间，幼体产生数量，孵化过程，畸变的类型和百分比等

鱼类急性毒性试验实验原理



不同溶液浓度和不同培养时间下鱼类的死亡率

死亡率	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
0h					
24h					
48h					
72h					
96h					

确定半数致死浓度（24h LC₅₀、48h LC₅₀、72h LC₅₀和96h LC₅₀），并记录无死亡的最大浓度和导致鱼类全部死亡的最小实验浓度。鱼类急性毒性试验不仅用于测定废水毒性强度、测定水体污染程度、检查废水处理的有效程度，也为制定水质标准、评价环境质量和管理工作提供环境依据。

实验鱼的选择与驯养



原则

对污染物敏感

在生态类群中具有代表性

经济价值比较高

来源丰富、取材方便

遗传稳定、生物学背景资料丰富

体积大小适中

在室内条件下易于饲养和繁殖

斑马鱼是国际上通用的鱼类急性毒性实验鱼种，稀有鮎鲫是国内唯一已经研究成熟的本土鱼种，化学品管理部门唯一认可的本土鱼种。

建议的实验温度21-25℃，建议实验鱼的全长 2.0 ± 1.0 cm。

试验前必须驯养（健康选择）：相同水质水温的水体中至少驯养7d（<2个月）、每天换水、每天喂食1-2次、试验前一天应停止喂食、驯养期间试验鱼死亡率不得超过5%。

实验容器和仪器设备

(1) 实验容器 实验容器一般用玻璃或其他化学惰性材质制成的水族箱或水槽。容器的深度必须超过16cm，水体表面积越大越好。同一实验应采用相同规格和质量的容器。为防止鱼类跳出容器，可在容器上加上网罩。实验容器使用后，必须彻底洗净，以除去所有毒性残留物。

(2) 其他 溶解氧测定仪、溶解氧控制仪、水硬度计、温度控制仪、pH计、分析天平、分光光度计、抄网。

实验溶液的制备

以新鲜采集的废水原液为母液，废水原液36小时内使用，用试验用水配置试验溶液，以等比或等对数间距设置浓度系列，美国环保局推荐使用稀释因子 $a \geq 0.5$ ，通常使用的是6.25%，12.5%，25%，50%和100%。

实验用水 (稀释水)



水质条件

水温	确保试液温度控制在 23°C ± 1°C
周期	以 96h 为宜（至少 24h ）
pH	实验液的pH在 6.7~8.5 为宜
负荷	系统承载量为 1.0g 鱼/L溶液
DO	至少应保持在 4mg/L 以上，不低于空气饱和值的 60%
光照	12-16h/d
硬度	水的总硬度为 10~250 mg/L

实验液更换方式

静态

试验期间不需更换试验液。

更新

每隔一定时间更换一次试验溶液。

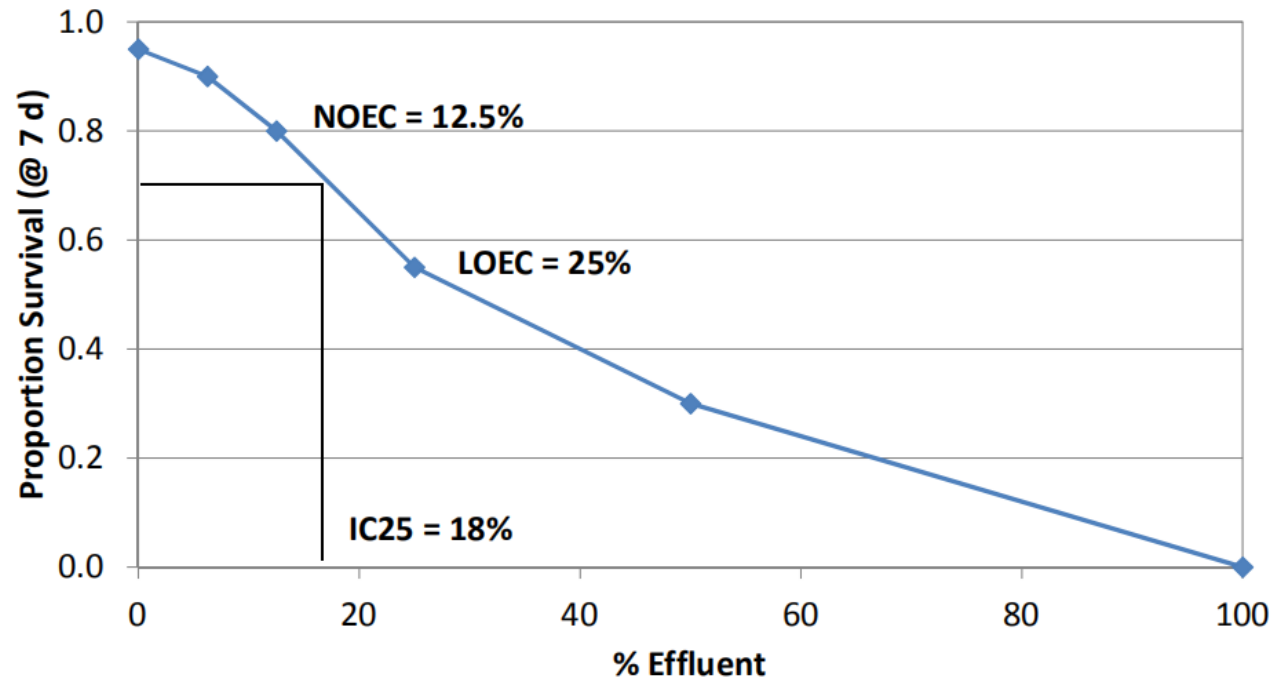
流水

试验溶液连续更新。

实验步骤



数据处理



NB: Test concentrations: 0%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, and 100%

用线性回归统计方法计算出
24h、48h、72h、96h的IC/LC₂₅,
IC/LC₅₀, NOEC和LOEC值, 并计
算95%的置信限。

实验报告拟写

在实验报告中应包括：试验名称、目的、试验原理、试验的准确起止日期，还有如下几项：

试验鱼：种名、来源、体重、体长、健康和驯化状况

受试物质：名称、来源物化性质和保存方法

试验方法及标准稀释水、储备液、试验液的配制方法及性质

条件：水温、光照、**DO**、**pH**、水质、容器形式、负荷率等

实验开始后**24h**、**48h**、**72h**、**96h**时的**LC₂₅**、**LC₅₀**、**NOEC**和**LOEC**值和**95%**置信限

异常现象、所采用的计算方法及毒性单位以及是否符合排放许可的试验报告

试验有效性

1

试验期间，对照组鱼死亡率不得超过10%。

2

试验期间，空白对照组溶氧、温度、水质条件满足质控要求。

3

试验期间，尽可能维持恒定条件。



4 结果应用

鱼类急性毒性试验结果的应用

(一) 毒性单位 (TUs) 的推导

毒性数据的表示方法采用毒性单位，TUs算法由USEPA提出，全废水的TU值是用全废水值(即含原废水浓度，按100%计)除以 LC_{50} 、 IC_{50} 或 $NOEC$ 的所得值;确定化合物的TU值则是用化合物浓度除以化合物的效应水平。

$$TUs = \frac{100\%}{LC_{50} / IC_{50} / NOEC}$$

毒性分级 (结果评价)

表 1 受试物毒性等级

Table 1 Toxicity ranking of test sample

EC ₅₀	<25%	25% ~ 50%	50% ~ 75%	75% ~ 99%	≥100%
毒性级别	极强	中等	有毒	轻微	无毒

表 2 工业废水生物毒性分级

Table 2 Toxicity ranking of industrial effluent

TUa	<1.0	1.0 ~ 2.0	2.0 ~ 10.0	10.0 ~ 100.0	>100.0
毒性级别	微毒或无毒	低毒	中毒	高毒	剧毒

一些研究用急性毒性单位 TUa 表示废水的毒性大小，并规定 TUa < 0.3 时，排放废水对受纳水体的水生生物无急性影响；TUa > 0.3，表示对环境有影响。

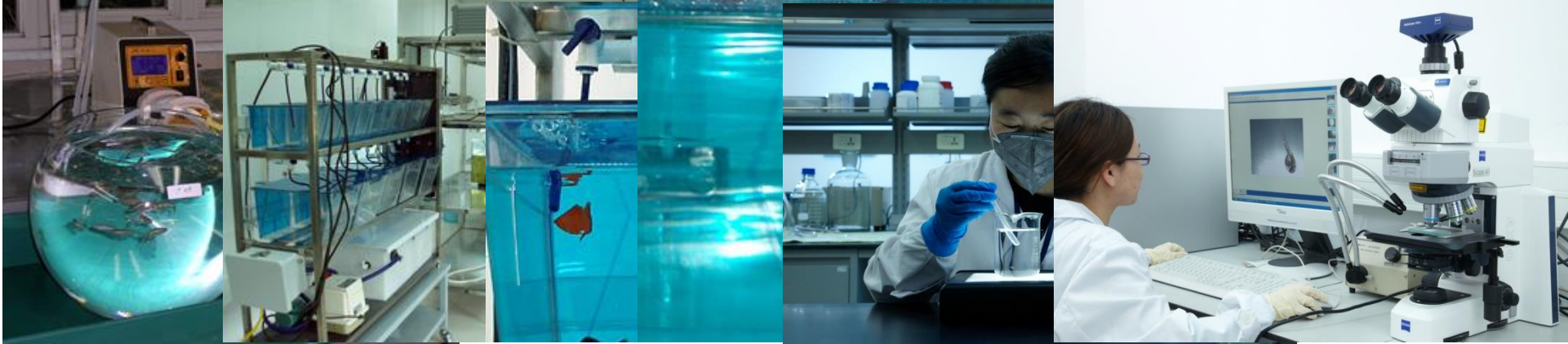
(二) 实际应用

- 推算出废水的允许排放量和排放速率
- 作为废水处理效果的鉴定指标
- 可以利用鱼类毒性试验作为指标，检查地面水源是否已受污染
- 作为判定水质卫生标准的一项指标
- 找出水体污染的主要污染源和主要污染物
- 测定和评价化学物质和工业废水的毒性
- 测定不同类型的水生生物对某一化学物质的相对敏感性
- 测定几种化学物质对某一种所试生物的相对毒性
- 确定环境因子（如DO、pH、水温、硬度等）对水生生物是否适宜，以及他们对化学物质毒性的影响
- 为制定水质基准提供科学依据



5 生物与安全检测 实验室简介

实验室部分典型设备设施



实验室简介-技术能力

国内最早以及最全的新化学品与废水综合毒性-生态毒理学检测实验室，引进并开发多种标准化的测试系统，与全球化工企业和制药行业建立良好的合作关系

可根据化学品的不同特性来选择合适的降解测试系统，为危害分类、评估、以及后续的试验策略提供准确的降解信息

拥有国际上大多数主流高端分析设备和前处理系统，化学分析、特别是POPs分析具备国际水准。

国内最早进行化学品风险评估研究和应用的实验室之一。参与并支持多项化学品风险评估科研项目。



实验室有长期利用QSAR预测结果合理设计试验；为危害评估填补缺失数据的经验

谢谢！



CONTACT



pscinitiative.org



info@pscinitiative.org



Annabel Buchan:
+44 (0) 7794 557524



[PSCI](https://www.linkedin.com/company/psci)



[@PSCInitiative](https://twitter.com/PSCInitiative)

WeChat

[制药供应链组织PSCI](#)

For more information about the PSCI please contact:

PSCI Secretariat
Carnstone Partners Ltd
Durham House
Durham House Street
London
WC2N 6HG

info@pscinitiative.org

+44 (0) 7794 557524

About the Secretariat

Carnstone Partners Ltd is an independent management consultancy, specialising in corporate responsibility and sustainability, with a long track record in running industry groups.

