



中华人民共和国消防救援行业标准

XF/T 3021—2023

泡沫灭火剂水生生物急性毒性试验方法

Acute toxicity testing methods for aquatic organism of foam extinguishing agent

2023-07-19 发布

2023-10-19 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试验准备	2
5.1 仪器设备及材料	2
5.2 样品的采集和处理	2
5.3 试验生物	2
5.4 参比物质	3
6 斑马鱼急性毒性试验程序	3
6.1 暴露条件	3
6.2 试验鱼数量	3
6.3 标准稀释液的配制	3
6.4 试验步骤	3
6.5 数据处理	4
6.6 质量控制	4
7 发光细菌急性毒性试验程序	4
7.1 暴露条件	4
7.2 试验溶液的配制	4
7.3 试验步骤	4
7.4 数据处理	5
7.5 质量控制	5
8 试验报告	5
参考文献	7

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。

本文件由中华人民共和国应急管理部提出。

本文件由全国消防标准化技术委员会灭火剂分技术委员会(SAC/TC 113/SC 3)归口。

本文件起草单位：应急管理部天津消防研究所、江苏锁龙消防科技股份有限公司、国安达股份有限公司、江苏江亚消防科技股份有限公司、洛阳市浪潮消防科技股份有限公司、宁波能林消防器材有限公司。

本文件主要起草人：张宪忠、赵婷婷、包志明、靖立帅、张晓颖、赵青松、陈培瑶、王荣基、王钧奇、洪清泉、鲍远才、刘军峰、张琦。

泡沫灭火剂水生生物急性毒性试验方法

1 范围

本文件规定了泡沫灭火剂水生生物毒性试验方法的原理、试验准备、试验程序、数据处理、质量控制、试验报告等内容。

本文件适用于高、中、低倍泡沫灭火剂，A类泡沫灭火剂等。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

急性毒性 Acute toxicity

泡沫灭火剂与水生生物短期接触可对生物体产生危害的固有属性。

3.2

静态试验 Static test

以整个试验过程中试验介质不更换、不流动的方式进行的试验。

3.3

半数致死浓度 Median lethal concentration

LC₅₀

引起受试生物死亡率为50%的水体中泡沫灭火剂的浓度。

注：该浓度为经过统计得出的估计值。其单位是每升水中泡沫灭火剂的量，以毫克每升(mg/L)或克每升(g/L)表示。

3.4

半数效应浓度 Median effective concentration

EC₅₀

能引起50%受试生物某种效应变化的浓度，通常指非死亡效应。

注：其单位是每升水中泡沫灭火剂的量，以毫克每升(mg/L)或克每升(g/L)表示。

4 原理

水体是泡沫灭火剂进入环境后的主要接纳场所，泡沫灭火剂进入水体后会对水体中的生物产生毒害作用。通过斑马鱼急性毒性试验、发光细菌急性毒性试验，得到泡沫灭火剂对水环境中不同类别、不同层次生物的急性毒性试验数据，为综合评价泡沫灭火剂产品的环境影响性能提供依据。

斑马鱼急性毒性试验参照 GB/T 13267 的标准试验方法并进行修改。其试验原理为将斑马鱼暴露于不同浓度的泡沫灭火剂溶液中,以 96 h 为试验周期,在 24 h、48 h、72 h 和 96 h 时记录鱼的死亡率,分别确定 50% 试验鱼死亡时的泡沫灭火剂浓度,用 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 、72 h LC_{50} 及 96 h LC_{50} 表示。

发光细菌急性毒性试验参照 GB/T 15441 的标准试验方法并进行修改。其试验原理为将正常生理条件下能够发出荧光的发光细菌暴露于不同浓度的泡沫灭火剂溶液中,泡沫灭火剂溶液与发光细菌接触一定时间(通常为 15 min)后,通过测定发光细菌的发光强度的减弱程度来判断泡沫灭火剂的毒性强弱,用 EC_{50} 表示。

5 试验准备

5.1 仪器设备及材料

仪器设备至少应包括:

- a) 溶解氧测定仪;
- b) 温度控制仪;
- c) 发光细菌毒性测定仪;
- d) 电子天平;
- e) 涡旋混合器;
- f) 化学惰性材料制成的水槽或烧杯,规格应一致,体积适宜;
- g) pH 计;
- h) 容量瓶(100 mL、500 mL、1 000 mL);
- i) 移液器(50 μ L、1 mL、5 mL);
- j) 2 L 烧杯;
- k) 2.5 mL 玻璃管;
- l) 三级水(符合 GB/T 6682 要求)。

5.2 样品的采集和处理

5.2.1 样品采集

泡沫灭火剂样品在取样时应注意取样的均匀性。取样前应颠倒、晃动容器,使样品混合均匀后取样,如容器不便移动,可在容器内高、中、低三个不同位置取样混合后作为试验样品。

取样时所用的容器应仔细清洗干净,用三级水润洗并彻底烘干。样品应盛装到玻璃瓶或塑料瓶中,静置,待产生的泡沫消失后进行试验。

5.2.2 样品处理

用电子天平称取一定质量的泡沫灭火剂样品,加入定量三级水,用玻璃棒缓慢搅拌均匀,避免搅拌过程中表面出现大量气泡,再转移到 500 mL 容量瓶中,用三级水定容,混合均匀,静置后用作待测的储备溶液。

5.3 试验生物

5.3.1 斑马鱼

试验鱼种应是斑马担尼鱼,平均体长 $3.0\text{ cm}\pm 0.5\text{ cm}$,体重 $0.3\text{ g}\pm 0.1\text{ g}$,应选自同一驯养池中规格大小一致的幼鱼。试验用鱼在试验前应在 $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下饲养 7 d 以上,每天投喂饵料,并及时清除粪便和食物残渣,饲养期内斑马鱼的死亡率小于 5%。试验前 24 h 停止喂食,试验期间也不喂食。挑

选体型大小一致且身体健康的斑马鱼用于急性毒性试验。

5.3.2 发光细菌

发光细菌选用青海弧菌 Q67 或其他能满足试验要求的淡水型发光细菌菌种。商业化的发光细菌菌种为一次性安瓿瓶包装冻干粉,在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。按 7.3.1 将冻干粉复苏后 5 min 即可恢复发光,在暗室中肉眼应可见其发出的绿光,经适当稀释后,可用于检测。

5.4 参比物质

为验证方法的有效性,分别选用分析纯重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)和苯酚($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$)作为斑马鱼急性毒性试验和发光细菌急性毒性试验的参比物质。

重铬酸钾储备液:用分析天平称取 1 g 重铬酸钾,加入三级水溶解,转移到 100 mL 容量瓶中,定容。

苯酚储备液:用分析天平称取 100 mg 苯酚,加入三级水溶解,转移到 100 mL 容量瓶中,定容。

6 斑马鱼急性毒性试验程序

6.1 暴露条件

斑马鱼急性毒性试验程序暴露条件为:

- 持续时间:96 h;
- 光照:每天 12 h~16 h;
- 温度: $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 溶解氧:不小于 60%空气饱和值。

6.2 试验鱼数量

设置空白对照组、重铬酸钾毒性参比组及各试验浓度组,每组至少设置 2 个平行样品,每个样品中加入 10 尾鱼。

6.3 标准稀释液的配制

用三级水由以下 4 种溶液制备标准稀释液:

- a) 氯化钙溶液:将 11.76 g 氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于水并稀释至 1 L;
- b) 硫酸镁溶液:将 4.93 g 硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)溶于水并稀释至 1 L;
- c) 碳酸氢钠溶液:将 2.59 g 碳酸氢钠(NaHCO_3)溶于水并稀释至 1 L;
- d) 氯化钾溶液:将 0.23 g 氯化钾(KCl)溶于水并稀释至 1 L。

将上述 4 种溶液各取 25 mL,并用三级水稀释至 1 L。将制备好的稀释水曝气至溶解氧浓度达到空气饱和值,并将 pH 稳定在 7.8 ± 0.2 。

6.4 试验步骤

6.4.1 预备试验

预备试验用于确定试验浓度的大致范围。这一范围可以选取较大的浓度间隔,例如 1 000 mg/L、100 mg/L、10 mg/L、1 mg/L 和 0.1 mg/L。

向 6 个 2 L 烧杯中加入标准稀释液,并按照上述浓度系列加入定量的泡沫灭火剂储备溶液,其中 1 个烧杯中不加入灭火剂储备溶液作为空白对照。

将溶液在 $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持恒温,向每个烧杯中加入 5 尾鱼开始预备试验,试验时间为 24 h。每天

2次记录烧杯中死鱼数目,并及时将死鱼取出。

6.4.2 正式试验

从24 h预备试验中全部鱼死亡的最低浓度和未死鱼的最高浓度之间,以几何级数作为间距,至少选择5个浓度作为正式试验浓度。

取若干个2 L烧杯,采用静态试验方法,空白试验组仅加入2 L标准稀释液,其他烧杯中分别加入不同量的泡沫灭火剂储备溶液,以得到所要求的浓度值,并用标准稀释液补充至2 L。

将试验烧杯温度恒定在 $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,用尼龙小孔抄网从驯养鱼池中随机选取鱼放入试验烧杯中,每个烧杯中加入10尾鱼。所有的鱼需在30 min内转移完毕,转移后清除掉各烧杯液面表层的泡沫。

试验开始后,随时观察并记录试验鱼的平衡、游动、呼吸、体色变化等中毒症状。如果试验鱼没有任何肉眼可见的运动,如鳃的扇动,以及用玻璃棒碰触尾部后无反应,即可判断该鱼已死亡。每天记录各容器中的死鱼数目,并及时清出死鱼。记录可见的试验鱼异常情况(如平衡能力丧失,游泳能力和呼吸功能减弱,颜色变浅等)。

每天至少测定一次pH、溶解氧和温度。

6.5 数据处理

绘制试验浓度对斑马鱼的累计死亡率曲线,用Excel、SPSS等常用统计程序对曲线进行拟合。计算死亡率为50%时的泡沫灭火剂浓度值,该浓度即为灭火剂样品对斑马鱼的 LC_{50} 值,并用标准方法计算95%的置信限,同时计算参比物质重铬酸钾的24 h LC_{50} 值。

6.6 质量控制

斑马鱼急性毒性试验程序的质量控制要求应同时满足以下3点:

- 试验结束时,空白对照组鱼死亡率不超过1尾;
- 参比物重铬酸钾的24 h LC_{50} 值应处于 $200\text{ mg/L}\sim 400\text{ mg/L}$ 之间;
- 试验期间,试验溶液的溶解氧浓度不小于60%空气饱和值。

7 发光细菌急性毒性试验程序

7.1 暴露条件

发光细菌急性毒性试验程序暴露条件为:

- 室温 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,试验过程中温度波动在 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内;
- 持续时间:15 min。

7.2 试验溶液的配制

复苏稀释液(0.85%氯化钠溶液):取0.85 g分析纯氯化钠,用三级水溶解并转移到100 mL容量瓶中,定容。

渗透压调节液(17%氯化钠溶液):取17 g分析纯氯化钠,用三级水溶解并转移到100 mL容量瓶中,定容。

7.3 试验步骤

7.3.1 发光细菌菌体复苏

从低温冰箱中取出装有青海弧菌Q67冻干粉的安瓿瓶置于室温15 min平衡。用移液器吸取0.5 mL

复苏稀释液加入冻干粉安瓿瓶中,置于涡旋混合器上使之充分混匀、溶化,使青海弧菌 Q67 冻干粉完全溶解,形成乳白色均一液体。数分钟后在暗室观察应见绿色荧光。若无绿色荧光则不能使用,静置 10 min 使其恢复发光性能备用。

7.3.2 预备实验

以 10 为公比做间隔开展预备试验,预备实验操作方法见 7.3.3。根据预备试验结果选择正式试验合适的浓度范围,预备实验至少应设置 5 个浓度组,并以几何级数排布,公比应不大于 2.2。

7.3.3 样品的发光值检测

按照预备试验结果,设定 3~4 个稀释度,最高和最低稀释度之间应包含预测所得的稀释浓度。每个浓度应设置 3 个平行样,同时设置空白对照的 3 个平行样。

取若干支 2.5 mL 玻璃样品管,首先加入 0.1 mL 渗透压调节液,之后分别向其中添加 1.9 mL 不同浓度梯度的待测样品,另外吸取 2 mL 复苏稀释液加入干净的样品管中作为空白对照。

向各样品管中依次加入 50 μ L 已复苏的冻干粉溶液,轻轻振荡,使之与试验样品充分混匀,轻敲玻璃管去除表层及样品管内壁附着的气泡。

放置 15 min 后用发光细菌毒性检测仪测定样品和空白样品的发光值。

7.3.4 参比物苯酚溶液标准曲线的制作

每次检测样品时,用相同的发光细菌菌液同时制作苯酚标准曲线(如样品数量较多,可以用几支安瓿瓶打开后混合使用),试验操作方法与样品检测相同。

7.4 数据处理

按照公式(1)计算不同浓度下样品的相对发光强度值。

$$E = \frac{I}{I_0} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

E ——相对发光强度值(%);

I ——样品的发光值;

I_0 ——空白样品的发光值。

绘制不同试验浓度对发光细菌相对发光强度值 E 的曲线,用 Excel、SPSS 等常用统计程序对曲线进行拟合。将 $E=50\%$ 代入拟合公式,计算相对发光强度值为 50% 时的样品浓度,该浓度即为灭火剂样品对发光细菌的 EC_{50} 值,并用标准方法计算 95% 的置信限,同时计算参比物质苯酚的 EC_{50} 值。

7.5 质量控制

发光细菌急性毒性试验程序的质量控制要求应同时满足以下 3 点:

- 空白对照组的发光值 I_0 应大于 10^6 ;
- 平行样品之间的发光值偏差应小于 20%;
- 参比物质苯酚的 EC_{50} 值应在 100 mg/L~200 mg/L 之间。

8 试验报告

试验报告应包括以下内容:

- 受试泡沫灭火剂相关信息(产品型号、外观、气味、pH 等);

- 受试生物(名称、来源、使用数量等)；
- 试验条件(温度、pH、溶解氧、试验浓度等)；
- 结果(所选择的试验方法,对斑马鱼的 LC_{50} 值,对发光细菌的 EC_{50} 值,参比物的 LC_{50} 值或 EC_{50} 值,质量控制情况等)。



参 考 文 献

- [1] GB/T 13267 水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法
[2] GB/T 15441 水质 急性毒性的测定 发光细菌法
-

