



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18420.2—2009  
代替 GB/T 18420.2—2001

---

## 海洋石油勘探开发污染物生物毒性 第 2 部分：检验方法

Biological toxicity for pollutants from marine petroleum exploration  
and exploitation—Part 2: Test method

2009-03-11 发布

2009-11-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

# 目 次

前言 .....	I
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 采样、送样和样品保存 .....	2
6 实验生物 .....	2
7 设施和设备 .....	3
8 试验程序 .....	4
9 试验结果分析和判断 .....	6
10 质量控制 .....	6
11 检验报告 .....	6
附录 A (资料性附录) 生物毒性试验结果原始记录表 .....	7
附录 B (规范性附录) 生物毒性试验结果判定流程图 .....	11
附录 C (资料性附录) $LC_{50}$ 和 $EC_{50}$ 的计算方法 .....	13
附录 D (资料性附录) Spearman-Kärber 计算法和 Trimmed Spearman-Kärber 计算法 .....	17
附录 E (资料性附录) 正态性检验和方差齐性检验 .....	19
附录 F (资料性附录) Dunnett's 检验和 Steel's 多对一秩检验 .....	22
附录 G (资料性附录) 生物毒性检验报告表 .....	26
参考文献 .....	27



## 前 言

《海洋石油勘探开发污染物生物毒性》分为两个部分：

——第1部分：分级；

——第2部分：检验方法。

本部分为第2部分。

本部分代替 GB/T 18420.2—2001《海洋石油勘探开发污染物生物毒性检验方法》。

本部分与 GB/T 18420.2—2001 相比主要变化如下：

——将“96 h 换水式生物毒性试验”的术语和定义修改为“静水式生物毒性试验”的术语和定义（2001年版的3.2，本版的3.1），增加了“半数有效浓度”的术语和定义（本版的3.4）；

——在“采样、送样和样品保存”一条中增加了关于“基液”的内容（本版的5.1.1和5.1.2.2）；

——在“实验生物”一章增加了4种实验生物及其相关内容（本版的6.1~6.4）；

——增加了“基液”和“合成基钻井液”的贮备液配制方法（本版的8.1.2.1.3和8.1.2.2）；

——增加了以生长作为观测指标的生物毒性试验方法的相关操作（本版的8.4.6.2.2）；

——修订了“结果的有效性”的部分内容（2001年版的10.1，本版的9.1）；

——在附录中增加了部分数据处理和结果计算的方法示例，以及生长毒性试验的原始记录表（本版的附录A~附录F）。

本部分的附录B为规范性附录，附录A、附录C、附录D、附录E、附录F、附录G为资料性附录。

本部分由国家海洋局提出。

本部分由全国海洋标准化技术委员会(SAC/TC 283)归口。

本部分起草单位：广东省实验动物监测所、国家海洋局南海分局。

本部分起草人：黄韧、魏社林、吴进孝、郑琰晶、王颖、王国栋、周锦。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 18420.2—2001。

# 海洋石油勘探开发污染物生物毒性

## 第2部分:检验方法

### 1 范围

本部分规定了海洋石油勘探开发作业中使用或生成后并排入海洋的部分污染物在生物毒性检验中采用的试验方法,以及试验方法中有关样品的处理、实验生物、试验程序、结果判定、质量控制等要求。

本部分适用于海洋石油勘探开发作业中使用或生成后并排入海洋的钻井液、基液、钻屑和生产水的生物毒性检验,本部分限定外的污染物的生物毒性检验可参照使用。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB 17378.3 海洋监测规范 第3部分:样品采集、贮存与运输

GB 17378.4—2007 海洋监测规范 第4部分:海水分析

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本部分。

#### 3.1

**静水式生物毒性试验 static biological toxicity test**

试验期间内不更换试验溶液,进行观察、测定生物异常或死亡效应的试验。

#### 3.2

**无可见影响浓度 no observed effect concentration(NOEC)**

实验生物暴露在一组不同浓度的试验溶液一定时间后,通过观察实验生物的不良影响,并比较试验组与对照组统计分析结果,判定出对实验生物无显著影响的最大浓度。

#### 3.3

**半数致死浓度 half lethal concentration**

LC<sub>50</sub>

在一定观察期内,造成50%的受试生物死亡的毒物浓度。

[GB 17378.7—2007,定义3.10]

#### 3.4

**半数有效浓度 half effective concentration**

EC<sub>50</sub>

在一定观察期内,引起50%受试生物产生某一特定效应,或者是实验生物的某效应指标被抑制一半时的毒物浓度,以EC<sub>50</sub>表示。

### 4 原理

海洋生物的各种生理活动受海洋环境影响,通过观察测定实验生物在一定试验期间内接触试验物质后的异常或死亡效应,得到海洋石油勘探开发污染物对实验生物有明显影响的具体浓度。

## 5 采样、送样和样品保存

### 5.1 样品的采集

#### 5.1.1 采样数量

采样量:钻井液 5 L,基液 5 L,生产水 5 L;采样量应足够供 3 次重复试验的用量。

#### 5.1.2 采样地点

5.1.2.1 钻井液样品从排放口或泥浆池采集。

5.1.2.2 基液样品采自贮存基液。

5.1.2.3 生产水在排放点的排放口采样。

### 5.2 包装、运输和贮存

#### 5.2.1 包装

采送样品应用惰性材料制成的容器密封包装,如聚乙烯塑料桶。

#### 5.2.2 运输

按照 GB 17378.3 的规定贮存和运输样品,受检样品应在 48 h 内送达生物毒性实验室。

#### 5.2.3 标签

所有样品容器上应标明样品名称、钻井代号、油井代号、生产或使用者、采样人、采样时间、采样方式、采样数量等。

样品送达实验室后送样人应填写送样表,样品接受人应检查样品标签和包装是否完整,并对样品进行编号、签字和记录存档。

#### 5.2.4 贮存

生产水样品应贮存于 4 ℃~8 ℃,其他样品应贮存在阴凉处。

## 6 实验生物

### 6.1 实验生物的种类

6.1.1 仔虾:中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)、斑节对虾(*Penaeus monodon*)、长毛明对虾(*Fenneropenaeus penicillatus*)、脊尾白虾(*Palaemon carinicauda*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)五种虾的仔虾。

6.1.2 卤虫(*Artemia*)

6.1.3 蒙古裸腹溞(*Moina mongolica*)

6.1.4 裸项栉虾虎鱼(*Ctenogobius gymnauchen*) 

### 6.2 实验生物来源及品质

#### 6.2.1 仔虾

仔虾宜实验室自繁饲养,也可自货源稳定、信誉好的苗种场购买。仔虾购入后应在实验室驯养 48 h 后用于毒性试验,自繁饲养的仔虾应驯化 24 h 后用于毒性试验。应选活力好,体色透明的仔虾用于试验。

#### 6.2.2 卤虫

可实验室自繁收集卤虫,也可购买商品卵孵化:按 1.0 g/L 的比例取适量卤虫卵加入稀释水中,在 25 ℃、盐度 30~35、光照 2 000 lx~3 000 lx 的环境条件下充氧孵化。应取同一批次孵出的无节幼体用于毒性试验。

#### 6.2.3 蒙古裸腹溞

宜实验室自繁收集。

#### 6.2.4 裸项栉虾虎鱼

宜实验室自繁收集。

### 6.3 实验生物饲养条件

#### 6.3.1 仔虾

仔虾饲养的适宜条件见表 1。

表 1 仔虾实验室饲养条件

饲养条件	中国明对虾仔虾	斑节对虾仔虾	长毛明对虾仔虾	脊尾白虾仔虾	凡纳滨对虾仔虾
水温/℃	22~25	27~29	26~29	24~28	23~30
盐度	25~33	28~33	25~30	22~28	8~28
pH	7.6~8.2	7.6~8.2	7.6~8.2	7.9~8.6	8.0~8.3

#### 6.3.2 卤虫

在水温 22℃~27℃、盐度 30~35、自然光照的条件下培养,每天投喂盐藻、扁藻或小球藻等单胞藻。

#### 6.3.3 蒙古裸腹蚤

在水温 22℃~27℃、盐度 26~30、自然光照的条件下培养,每天投喂盐藻、扁藻或小球藻等单胞藻。

#### 6.3.4 裸项栉虾虎鱼

实验前 1 周采收受精卵并置于水温 27℃~28℃、盐度 25~32、pH7.6~8.2 条件下充气孵化,收集初孵仔鱼并记录孵出日期,同一批收集的仔鱼孵出时间间隔不能超过 24 h。仔鱼的饲养条件为水温 25℃~30℃、盐度 20~30,自然光照,2 日龄投喂轮虫,15 日龄后可投喂卤虫幼体或轮虫。

### 6.4 实验生物开始试验的日龄和观测指标

6.4.1 仔虾:小于仔虾期 10 d(P<sub>10</sub>期)的仔虾,以死亡做观测指标。

6.4.2 卤虫:卤虫卵孵化 20 h~24 h 的幼体,以死亡或生长做观测指标。

6.4.3 蒙古裸腹蚤:I 龄幼体,以死亡做观测指标。

6.4.4 裸项栉虾虎鱼:3 日~10 日龄的仔鱼,以死亡做观测指标。

### 6.5 实验生物的质量控制

6.5.1 实验生物应健康正常,驯养阶段的死亡率应小于 10%。

6.5.2 应进行标准毒物对实验生物的 24 h 急性毒性试验,建立各批次实验生物的 24 hLC<sub>50</sub> 范围,本试验所用标准毒物为分析纯的十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)。

## 7 设施和设备

### 7.1 设施

7.1.1 饲养实验生物的水池或水族箱等。

7.1.2 可控照明装置。

7.1.3 饲养实验生物的控温、充氧、循环清洁海水的设备,包括制冷和加热的控温设备、充气设备、循环水设备、水过滤设备等。

### 7.2 试验容器及溶液体积

7.2.1 仔虾试验溶液体积应为 1 000 mL,试验容器可采用玻璃水槽等玻璃容器。

7.2.2 卤虫无节幼体试验溶液体积应为 100 mL,试验容器可采用烧杯等玻璃容器。

7.2.3 蒙古裸腹蚤试验溶液体积应为 100 mL,试验容器可采用烧杯等玻璃容器。

7.2.4 裸项栉虾虎鱼仔鱼试验溶液体积应为 200 mL,试验容器可采用烧杯、水槽等玻璃容器。

### 7.3 环境因子测定的试剂和仪器

溶氧仪、盐度计、pH 计、温度计。也可采用分光光度法测定溶解氧含量,测定的试剂和仪器应符合 GB 17378.4—2007 第 32 章的规定。

## 7.4 其他

高速搅拌器、显微镜、胶头滴管、量筒、手抄网、酶标板或者小离心管等。

## 8 试验程序

### 8.1 检验样品的准备

#### 8.1.1 稀释水的准备

稀释水应清洁、无毒、水质稳定且对实验生物适宜,宜使用取自清洁无污染海区水质稳定的海水作为稀释水。若条件不许可,可使用人工配制海水,配制成与纳污水体相同的盐度后使用。

#### 8.1.2 贮备液的配制

##### 8.1.2.1 钻井液贮备液的配制

###### 8.1.2.1.1 水基钻井液

按体积比取 1 份钻井液加入 9 份稀释水,2 000 r/min~3 000 r/min 搅拌 15 min,然后加水稀释为试验组的最高浓度,继续搅拌 5 min,静置 60 min 后取上层悬浮液作为贮备液。

###### 8.1.2.1.2 油基钻井液

按体积比取 1 份钻井液加入 9 份稀释水,2 000 r/min~3 000 r/min 搅拌 15 h 至絮状,然后加水稀释为试验组的最高浓度,继续搅拌 5 min,静置 60 min 后,避开表面油膜,取水相部分作为贮备液。

###### 8.1.2.1.3 合成基钻井液

按 8.1.2.1.2 的规定配制。

##### 8.1.2.2 基液贮备液的配制

按 8.1.2.1.2 的规定配制。

##### 8.1.2.3 生产水贮备液的配制

取一定体积的生产水加入稀释水中,2 000 r/min 搅拌 15 min,配制成预定浓度的贮备液。

### 8.2 组织固定液的配制

#### 8.2.1 固定液的使用

固定液用于以生长做观测指标的生物毒性试验中生物个体的组织固定。固定液可采用中性甲醛固定液(3%~5%)或鲁哥氏液。

#### 8.2.2 中性甲醛固定液(3%~5%)

以 pH 7.2~7.4 的磷酸缓冲液为溶剂配制,配制后应密封并保存在阴凉处,保存时间不超过一个月。3%中性甲醛固定液配方:蒸馏水 925 mL,加入无水磷酸氢二钠 6.5 g,及磷酸二氢钠 4.0 g,充分溶解后加入甲醛(40%)溶液 75 mL。5%中性甲醛固定液配方:蒸馏水 875 mL,加入无水磷酸氢二钠 6.5 g,及磷酸二氢钠 4.0 g,充分溶解后加入甲醛(40%)溶液 125 mL。

#### 8.2.3 鲁哥氏液

鲁哥氏液又称碘液,配制方法:取 6 g 碘化钾溶于 20 mL 蒸馏水中,搅拌到完全溶解后,加入 4 g 碘,等碘充分溶解后,加入 80 mL 蒸馏水,贮存在棕色试剂瓶内。

### 8.3 预备试验

宜选用 2 种或 2 种以上的实验生物进行试验。以死亡率为观测指标的预试验应尽量确定出全部死亡和无死亡的浓度范围,以生长为观测指标的预试验应确定出能引起 50%以上(低于 100%)作用效果和 50%以下(高于 0%)作用效果的浓度范围。具体操作按照 8.4。

### 8.4 正式试验

#### 8.4.1 试验浓度设置

用贮备液和稀释水配制试验溶液,参考预试验结果设定 5 个等比浓度组和 1 个空白对照组,等比系数不宜大于 2.0,每个试验组应设 4 个重复,每个容器应放 10 个实验生物个体。如果样品毒性较低,则应保证试验死亡数据至少能满足计算  $LC_{50}$  或  $EC_{50}$  的最低要求。

## 8.4.2 实验生物移入

### 8.4.2.1 仔虾

用手抄网在驯养池中随机选择实验生物并及时放入试验容器内。弃用跃出或损伤的生物。在试验操作过程中,应在 30 min 内完成分放实验生物。

### 8.4.2.2 卤虫

用胶头滴管在驯养容器随机吸取卤虫幼体,然后小心移入试验容器。尽量减少分放实验生物的时间,尽量减少生物移入过程中对各浓度组试验溶液的稀释。

### 8.4.2.3 蒙古裸腹蚤

按照 8.4.2.2 规定的方法操作。

### 8.4.2.4 裸项栉虾虎鱼仔鱼

按照 8.4.2.2 规定的方法操作。

## 8.4.3 充气要求

当试验溶液的溶解氧饱和度低于 60% 时,应对试验溶液进行轻微充气,充气气泡为 60 个/min~100 个/min。如浓度组进行充气,同样对照组也应充气。

## 8.4.4 试验的环境因子

试验适宜的环境条件为:水温 23℃~28℃,盐度 20~35,pH 7.6~8.6。试验过程中水温变化范围不应超过 2℃,盐度变化范围不宜超过 2,pH 值变化范围不宜超过 0.4。

## 8.4.5 饲喂

8.4.5.1 仔虾宜饲喂卤虫无节幼体,每个仔虾每天饲喂 10 个卤虫无节幼体。

8.4.5.2 卤虫幼体和蒙古裸腹蚤饲喂扁藻、小球藻等单细胞藻类,藻液离心后饲喂(离心转数 3 000 r/min~4 000 r/min),避免加入藻液引起试验溶液体积的明显改变。

8.4.5.3 裸项栉虾虎鱼仔鱼宜饲喂轮虫,每条仔鱼每天投喂 500 个轮虫,每个试验容器投喂体积不超过 0.2 mL。

## 8.4.6 观察和记录

### 8.4.6.1 仔虾

毒性试验持续时间为 96 h,每 24 h 观察实验生物,移去死亡个体,将死亡个体数记录在原始记录表内,见表 A.1。轻触无反应或在体视显微镜下观测心脏停止跳动均可判定为死亡。

### 8.4.6.2 卤虫

8.4.6.2.1 以死亡为观测指标的毒性试验,持续时间为 96 h,每 24 h 观察实验生物,移去死亡个体,将死亡个体数记录在原始记录表内,见表 A.1。沉到容器底部的幼体在 15 s 内仍不能游动者,即认为已死亡。

8.4.6.2.2 以生长为观测指标的毒性试验,持续时间为 72 h。72 h 时用吸管吸出存活个体置于酶标板或离心管中,加入鲁哥氏液或中性甲醛固定液(3%~5%)固定后,吸出卤虫置载玻片上,在 4 倍物镜下用目镜测微尺观测体长,或使用显微镜摄像系统的软件进行体长测量,卤虫体长为尾凹到头部的最长距离。将体长观测值记录在原始记录表内,见表 A.2。

### 8.4.6.3 蒙古裸腹蚤

毒性试验持续时间为 72 h,每 24 h 观察实验生物,移去死亡个体,将死亡个体数记录在原始记录表内,见表 A.1。沉到容器底部的蒙古裸腹蚤在 15 s 内仍不能游动者,即认为已死亡。

### 8.4.6.4 裸项栉虾虎鱼仔鱼

毒性试验持续时间为 96 h,每 24 h 观察实验生物,移去死亡个体,将死亡个体数记录在原始记录表内,见表 A.1。体色不透明或身体弯曲,且用胶头滴管轻吹无反应的判为死亡个体。

### 8.4.6.5 环境因子的测定和记录

每次试验溶液配制后应测定并记录各项环境因子,如溶解氧、pH 值、水温、盐度等,结束试验时宜

相应地测定并记录这些环境因子。测定值记录在原始记录表上,参见附录 A。

## 9 试验结果分析和判断

### 9.1 结果的有效性

试验溶液的溶解氧饱和度应达到 60%以上。以卤虫作为实验生物的试验,对照组的死亡率不超过 10%;以仔虾及仔鱼作为实验生物的试验,对照组的死亡率不超过 20%。

### 9.2 试验结果的判定

#### 9.2.1 试验结果判定流程

试验结果判定流程见附录 B。

#### 9.2.2 以死亡为观测指标的生物毒性试验

9.2.2.1 在大于或等于生物毒性容许值的试验浓度组未出现实验生物死亡,直接判定为大于生物毒性容许值。

9.2.2.2 当小于生物毒性容许值的试验浓度组出现实验生物死亡,通过概率单位法、图表法等方法计算  $LC_{50}$  值。概率单位法、Spearman-karber 法和 Trimmed Spearman-karber 法计算  $LC_{50}$  值和置信区间,作为受检物的生物毒性结果,计算方法参见附录 C 和附录 D。

9.2.2.3 在小于生物毒性容许值的试验浓度组出现实验生物死亡,通过计算 NOEC 值辅助判定受检物的生物毒性。对试验结果进行正态分布和方差齐次检验,参见附录 E,如符合正态检验和方差齐次检验则采用附录 F 的参数检验方法(Dunnett's 检验)判定 NOEC 值。如不符合正态检验或方差齐次检验则采用附录 F 的非参数秩检验方法(Steel's 多对一检验)判定 NOEC 值。

#### 9.2.3 以生长为观测指标的生物毒性试验

通过线性内插法计算  $EC_{50}$ ,以  $EC_{50}$  值作为受检物的生物毒性结果,计算方法参见附录 C;可以通过计算 NOEC 值来辅助判定受检物的生物毒性,按 9.2.2.3 规定的方法计算。

## 10 质量控制

### 10.1 批间和批内质量控制

10.1.1 每批次试验必须同时进行标准毒物的 24 h 生物毒性试验,通过比较  $LC_{50}$  值评价实验生物质量的稳定性。

10.1.2 保证试验过程试验环境因子的稳定性,即试验期间的水温变化不应超过 2℃,盐度变化不宜超过 2,pH 变化范围不应超过 0.4,溶解氧饱和度应大于 60%。

### 10.2 原始记录

原始记录应完整,包括采样的时间和地点、试验时间、样品的保存方法、采样和试验人员签名、试验所用的方法和技术、质量控制记录、试验的原始资料、仪器校准和维修记录、试验报告等。

## 11 检验报告

检验报告应包括检验报告表和试验报告。

检验报告表包括:送样单位、送样人、送样时间、样品名称、样品编号、样品接受人、检验依据的标准、试验结果、出具检验结果的生物毒性试验室签章等。生物毒性检验报告表的格式参见附录 G。不同试验的检验报告应分别撰写。

试验报告包括:受试样品外观描述;稀释水、贮备液和试验溶液的配制;试验所用仪器设备;实验生物介绍;对照组和各个浓度组死亡数;用浓度反应曲线或方程表示的试验浓度与实验生物反应的关系;检验人签名。







表 A.2 (续)

受试物质：                      样品编号：                      送样单位：  
 实验生物：                      送样日期：                      试验日期：  
 检验依据：                      样品表观性状：

时间	项目	试验组 3:      mg/L				试验组 4:      mg/L				试验组 5:      mg/L				
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	
0 h	水温 ℃													
	盐度													
	pH													
	DO mg/L													
24 h	水温 ℃													
	盐度													
48 h	水温 ℃													
	盐度													
72 h	水温 ℃													
	盐度													
	pH													
	DO mg/L													
	体长 mm	1												
		2												
		3												
		4												
		5												
		6												
		7												
		8												
		9												
10														

检测人：

复核人：

附录 B  
(规范性附录)  
生物毒性试验结果判定流程图

图 B.1、图 B.2、图 B.3 为生物毒性试验结果判定流程图。

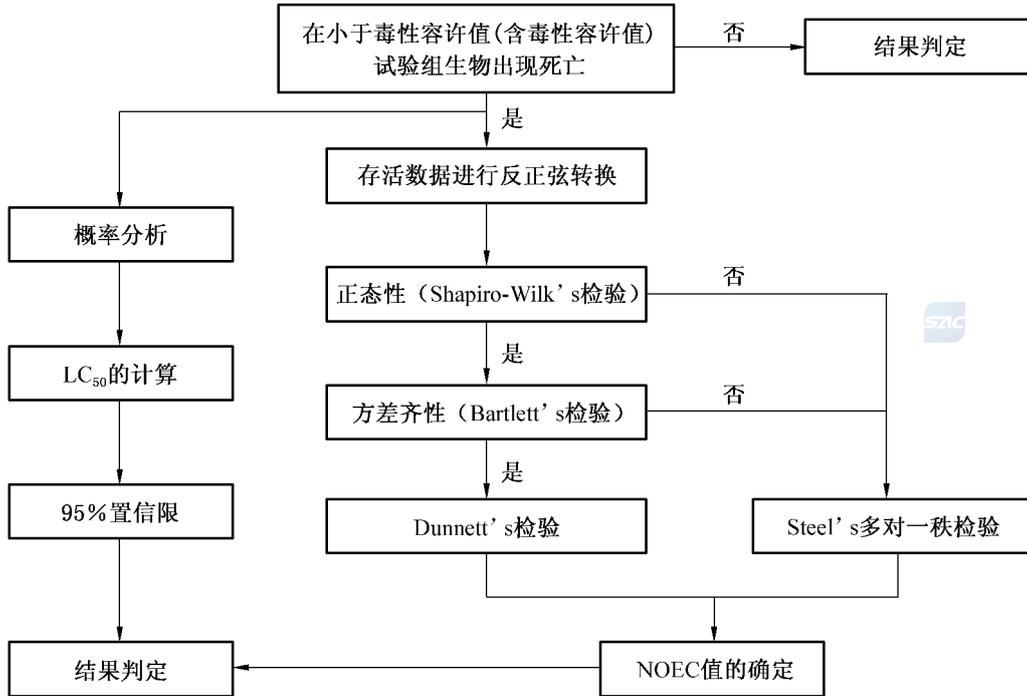


图 B.1 以死亡为观测指标的生物毒性试验结果判定流程

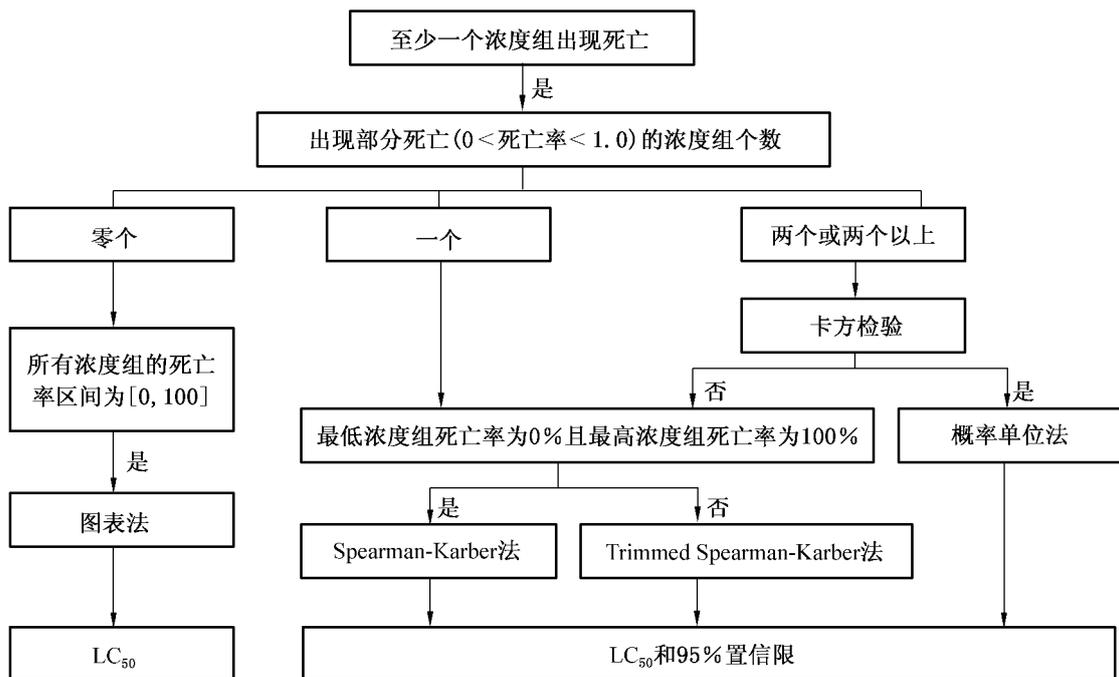


图 B.2 LC<sub>50</sub>的计算流程

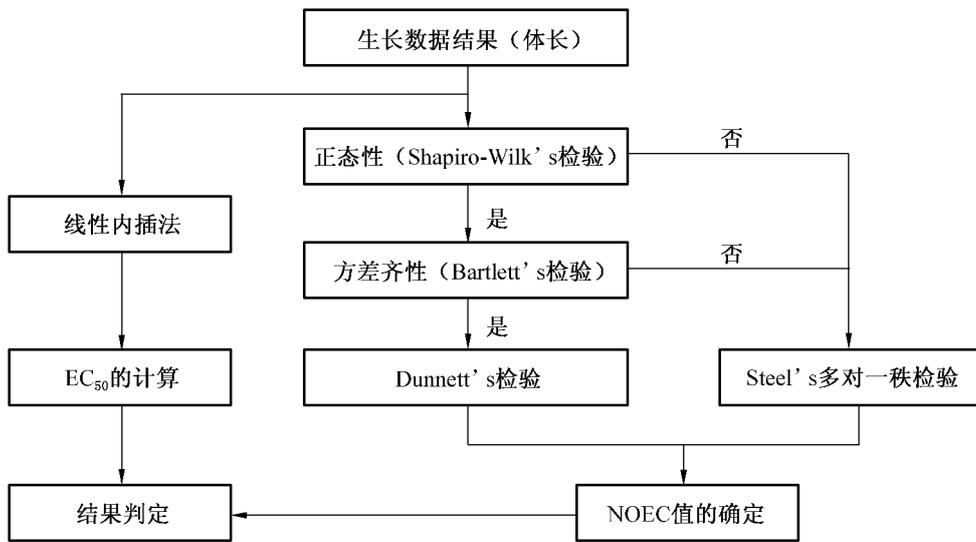


图 B.3 以生长为观测指标的生物毒性试验结果判定流程



附 录 C  
(资料性附录)  
LC<sub>50</sub>和 EC<sub>50</sub>的计算方法

C.1 LC<sub>50</sub>的概率单位计算法

C.1.1 一组生物毒性试验的数据如下,将试验的原始数据进行浓度对数转换、死亡率查表转换为概率单位,列表见表 C.1 计算表。

表 C.1 计算表

浓度 %	浓度对数 X	实验生物数 n ind	死亡数 r ind	死亡率 %	概率单位
1.35	0.130 3	40	12	30	4.48
1.80	0.255 3	40	24	60	5.25
2.40	0.380 2	40	28	70	5.52
3.20	0.505 1	40	36	90	6.28
4.20	0.623 2	40	40	100	—
对照	—	40	0	0	—

若对照组出现死亡时还要对各个试验组的数据进行校正,按式(C.1)进行(本例中无需进行此步骤):

$$p_i^a = (p_i - p_o^s) / (1 - p_o^s) \quad \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

$p_i^a$ ——经过校正的第  $i$  组的死亡率;

$p_i$ ——观察的第  $i$  组的死亡率;

$p_o^s$ ——对照组的死亡率。

C.1.2 以表 C.1 中的浓度对数  $X$  为横轴,概率单位为纵轴做散点图,按照最小二乘法划出拟合直线(图 C.1),标出概率单位为 5 时的浓度对数  $\lg LC_{50}$ ,本例中  $\lg LC_{50} = 0.24$ ,求反对数得  $LC_{50}$  为 1.74%。

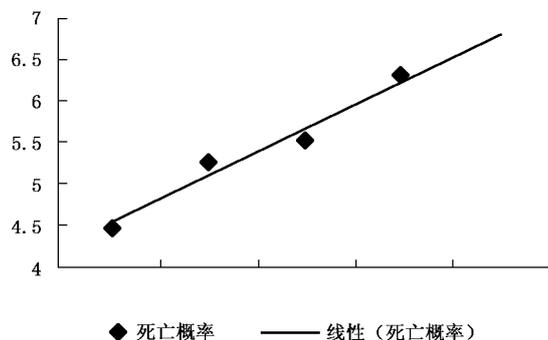


图 C.1 浓度对数和死亡概率单位关系图

C.1.3 求浓度-反应的回归方程。

C.1.3.1 在直线上取距离较远的两个点,如取概率单位 4( $y_1$ )和 6( $y_2$ ),然后在图中读出相应的  $x_1 = 0.035$  和  $x_2 = 0.445$ ,按式(C.2)计算斜率  $b$ ,为 4.878。

$$b = (y_2 - y_1) / (x_2 - x_1) \quad \dots\dots\dots (C.2)$$

C. 1.3.2 将  $b$  值和  $\lg LC_{50}$  值代入式 (C. 3), 计算得浓度-反应的回归方程。

$$y = Y + b(x - X) \quad \dots\dots\dots (C. 3)$$

式中:

$y$ ——任一浓度组的期望概率单位;

$Y$ ——概率单位 5;

$x$ ——概率单位为  $y$  时的浓度对数;

$X$ ——概率单位为 5 时的浓度对数。

本例中:

$$b = 4.878, X = 0.24$$

$$y = 5 + 4.878(x - 0.24)$$

$$= 4.878x + 3.829$$

C. 1.4  $\chi^2$  检验

$\chi^2$  检验的公式:

$$\chi^2 = \sum (r - np)^2 / np(1 - p) \quad \dots\dots\dots (C. 4)$$

式中:

$n$ ——实验生物数;

$r$ ——死亡数;

$p$ ——期望死亡率;

$np$ ——期望死亡数。

列出回归线  $\chi^2$  检验表, 见表 C. 2。

本例中自由度为 2, 查表得  $\chi_{0.05}^2 = 5.99$ , 而回归线的  $\chi^2 = 1.3396$ ,  $\chi_{0.05}^2 > \chi^2$ , 所以回归线符合检验。

表 C. 2 回归线的  $\chi^2$  检验表

$x$	$n$	$r$	$y$	$P$ %	$np$	$r - np$	$(r - np)^2$	$np(1 - p)$	$\frac{(r - np)^2}{np(1 - p)}$
0.130 3	40	12	4.464 9	29	11.6	0.4	0.16	8.236	0.019 4
0.255 3	40	24	5.074 2	53	21.2	2.8	7.84	9.964	0.786 8
0.380 2	40	28	5.683 9	75	30.0	-2.0	4.00	7.500	0.533 3
0.505 1	40	36	6.293 2	90	36.0	0	0	3.600	0
$\chi^2$									1.339 6

C. 1.5 求  $\lg LC_{50}$  的均数的标准误

C. 1.5.1 按式 (C. 5) 求标准差  $S$ , 为 0.205。

$$S = 1/b \quad \dots\dots\dots (C. 5)$$

C. 1.5.2 按式 (C. 6) 求均数的标准误  $S_m$ , 为 0.026 5。

$$S_m = S / \sqrt{n'/2} \quad \dots\dots\dots (C. 6)$$

式中:

$n'$ ——死亡概率单位在 4~6 范围内所用的动物数。

C. 1.6 求  $LC_{50}$  的置信限: 按式 (C. 7) 求出  $\lg LC_{50}$  的 95% 置信限的对数值, 为 0.188 1~0.291 9, 然后取反对数得  $LC_{50}$  的 95% 置信限为 1.542 1%~1.958 4%。

$$95\% \text{ 置信限} = \lg LC_{50} \pm 1.96 \times S_m \quad \dots\dots\dots (C. 7)$$

C. 2  $EC_{50}$  的线性内插算法

C. 2.1 以某个生产水样品对卤虫生长的毒性试验为例, 说明  $EC_{50}$  的计算方法, 试验结果见表 C. 3。该

试验共设五个浓度组和一个对照组,每个浓度组设六个重复处理,每个重复下 10 只卤虫,将一个重复下的 10 只卤虫体长取平均值,即得该重复下的平均体长。如果某个重复下出现死亡个体,则将存活个体的体长总和除以 10,即为该重复下的平均体长。

### C.2.2 平均值平滑处理

C.2.2.1 以线性内插法计算  $EC_{50}$  需满足的前提是,随浓度增加,各浓度组观测值(体长)递减。因此在计算  $EC_{50}$  之前,需对各浓度组的平均值进行平滑处理。处理前的平均值以  $\bar{Y}_i$  表示,处理后的平均值以  $M_i$  表示。

C.2.2.2 本例中,  $\bar{Y}_1 > \bar{Y}_2$ , 则  $M_1 = \bar{Y}_1$ , 接着比较  $\bar{Y}_2$  和  $\bar{Y}_3$ ,  $\bar{Y}_2 < \bar{Y}_3$ 。

表 C.3 生产水样品对卤虫生长的毒性试验结果

单位为毫米

重 复	各试验组浓度 g/L					
	对照	50	100	200	400	800
1	1.313	1.125	1.263	1.163	1.125	0.108
2	1.288	1.188	1.269	1.288	0.775	0.219
3	1.225	1.188	1.153	1.275	1.225	0.154
4	1.225	1.375	1.288	1.238	1.238	0.345
5	1.313	1.300	1.325	1.188	1.288	0.332
6	1.188	1.275	1.167	1.250	1.213	0.411
平均值 $\bar{Y}_i$	1.259	1.242	1.244	1.234	1.144	0.262
$i$	1	2	3	4	5	6

C.2.2.3 平均值平滑处理:

$$M_2 = M_3 = (\bar{Y}_2 + \bar{Y}_3) / 2 = 1.243$$

C.2.2.4 因为  $\bar{Y}_6 = 0.262 < \bar{Y}_5 = 1.144 < \bar{Y}_4 = 1.233 < \bar{Y}_3 = 1.243$ , 设  $M_3 = 1.243$ ,  $M_4 = 1.233$ ,  $M_5 = 1.144$ ,  $M_6 = 0.262$ , 见表 C.4。

C.2.2.5 如果浓度组的平均值大于对照组,则将浓度组和对照组取平均值做为平滑平均值。

表 C.4 各浓度组平均值和平滑处理后结果

各试验组浓度 $C_i$ g/L	$i$	平均值 $\bar{Y}_i$ mm	平滑处理后的平均值 $M_i$ mm
对照	1	1.259	1.259
50	2	1.242	1.243
100	3	1.244	1.243
200	4	1.234	1.234
400	5	1.144	1.144
800	6	0.262	0.262

C.2.3 由  $M_1 = 1.259$ , 计算出样品对卤虫生长起到 50% 抑制效果时的体长值为 0.630 mm, 由表 C.4 查出, 该值落在  $M_5$  和  $M_6$  之间。

C.2.4 将  $M_5$ 、 $M_6$  和这两个组的浓度值  $C_5$ 、 $C_6$  代入下面的式(C.8), 计算  $EC_{50}$ 。

$$EC_p = C_j + [M_1 \times (1 - p/100) - M_j] \times (C_{j+1} - C_j) / (M_{j+1} - M_j) \dots\dots\dots (C.8)$$

式中：

$p$ ——样品对卤虫生长的抑制百分数；

$j$ ——试验组中样品抑制百分数小于 50 的最高浓度组的编号；

$C_j$ ——第  $j$  组的浓度；

$C_{j+1}$ ——第  $(j+1)$  组的浓度；

$M_j$ ——第  $j$  组的平滑平均值；

$M_{j+1}$ ——第  $(j+1)$  组的平滑平均值。

$$\begin{aligned} EC_{50} &= C_5 + [M_1 \times (1 - 50/100) - M_5] \times (C_6 - C_5) / (M_6 - M_5) \\ &= 400 + [1.259 \times (1 - 50/100) - 1.144] \times (800 - 400) / (0.262 - 1.144) \\ &= 633.56 \end{aligned}$$

同样方法还可计算出样品产生 25%抑制效果时的浓度  $EC_{25}$ ：

$$\begin{aligned} EC_{25} &= C_5 + [M_1 \times (1 - 25/100) - M_5] \times (C_6 - C_5) / (M_6 - M_5) \\ &= 400 + [1.258 \times (1 - 25/100) - 1.144] \times (800 - 400) / (0.262 - 1.144) \\ &= 490.93 \end{aligned}$$



附 录 D  
(资料性附录)

Spearman-Karber 算法和 Trimmed Spearman-Karber 算法

### D.1 Spearman-Karber 算法

#### D.1.1 原理和适用范围

Spearman-Karber 算法属于非参数分析法,用于估计容许值分布的均值,当分布对称时相当于估计其中值。当处理和校正过的试验数据满足最低浓度组(除去对照组之外)的死亡比例为 0、最高浓度组的死亡比例为 1.0,并且至少有一组在 0~1.0 之间时,适用本方法计算  $LC_{50}$  及其 95% 置信限。

#### D.1.2 数据平滑处理和校正

首先观察试验数据是否满足:死亡率随着受试物浓度的升高而升高,即  $p_0 \leq \dots \leq p_k$  ( $p_0$  指对照组的死亡率,  $p_k$  指最高浓度组的死亡率)。如果不是就要按式(D.1)对数据进行平滑处理,当  $p_i < p_{i-1}$  时:

$$p_{i-1}^s = p_i^s = (p_i + p_{i-1})/2 \quad \dots\dots\dots (D.1)$$

式中:

$p_i^s$ ——经过处理的第  $i$  组的死亡率。

其次,若对照组出现死亡时还要按式(D.2)对平滑处理后的数据进行校正:

$$p_i^a = (p_i^s - p_0^s)/(1 - p_0^s) \quad \dots\dots\dots (D.2)$$

式中:

$p_i^a$ ——经过校正的第  $i$  组的死亡率;

$p_i^s$ ——经过平滑处理的第  $i$  组的死亡率;

$p_0^s$ ——经过平滑处理的对照组的死亡率。

#### D.1.3 计算 $m$ 及 $m$ 的估计方差 $V(m)$

依据式(D.3)计算  $m$  值,即  $\lg LC_{50}$ ;依据式(D.4)计算  $m$  的估计方差  $V(m)$ :

$$m = \sum_{i=1}^{k-1} [(p_{i+1}^a - p_i^a)(X_i + X_{i+1})]/2 \quad \dots\dots\dots (D.3)$$

$$V(m) = \sum_{i=2}^{k-1} [p_i^a(1 - p_i^a)(X_{i+1} - X_{i-1})^2]/4(n_i - 1) \quad \dots\dots\dots (D.4)$$

式中:

$X_i$ ——第  $i$  组浓度的以 10 为底的对数值;

$k$ ——除去对照组外的试验组数;

$n_i$ ——第  $i$  组的受试动物数;

$p_i^a$ ——经过平滑处理和校正后的第  $i$  组的死亡率。

$m$  的 95% 置信限为:  $m \pm 2.0 \times \sqrt{V(m)}$ ,取  $m$  值及其置信限的反对数即可求出  $LC_{50}$  及  $LC_{50}$  的置信限。

#### D.1.4 示例

表 D.1 为一组 96 h 毒性试验结果的原始数据以及平滑处理、校正后的数据结果,所有试验组的受试动物总数均为 20 只。

表 D.1 96 h 毒性试验结果数据表

试验组 %	浓度对数	Spearman-Karber 法			Trimmed Spearman-Karber 法		
		死亡数 ind	平滑处理	校正	死亡数 ind	平滑处理	校正
对照组	—	1	0.025	0.000	1	0.05	0.000
6.25	0.795 9	1	0.025	0.000	0	0.05	0.000
12.50	1.096 9	0	0.025	0.000	2	0.067	0.013
25.00	1.397 9	0	0.025	0.000	0	0.067	0.013
50.00	1.699 0	13	0.65	0.641	0	0.067	0.013
100.00	2.000 0	20	1.00	1.000	16	0.08	0.032

依据数据求  $\lg LC_{50}$  即  $m$ , 以及  $V(m)$ :

$$m = [(0.000\ 0 - 0.000\ 0) \times (0.795\ 9 + 1.096\ 9)]/2 + [(0.000\ 0 - 0.000\ 0) \times (1.096\ 9 + 1.397\ 9)]/2 + [(0.641\ 0 - 0.000\ 0) \times (1.397\ 9 + 1.699\ 0)]/2 + [(1.000\ 0 - 0.641\ 0) \times (1.699\ 0 + 2.000\ 0)]/2$$

$$= 1.656\ 5$$

$$V(m) = 0.000\ 0 \times (1 - 0.000\ 0) \times (1.397\ 9 - 0.795\ 9)^2/4 \times 19 + 0.000\ 0 \times (1 - 0.000\ 0) \times (1.699\ 0 - 1.096\ 9)^2/4 \times 19 + 0.641\ 0 \times (1 - 0.641\ 0) \times (2.000\ 0 - 1.397\ 9)^2/4 \times 19$$

$$= 0.001\ 098$$

依据值  $m$  和  $V(m)$  确定 95% 置信限为:  $1.656\ 5 \pm 2.0 \times \sqrt{0.001\ 097} = (1.590\ 3, 1.722\ 8)$

对所得值取反对数,  $LC_{50} = 10^{1.656\ 5} = 45.3$

$LC_{50}$  的 95% 置信区间下限为  $10^{1.590\ 3} = 38.9$ , 上限为  $10^{1.722\ 8} = 52.8$ 。

## D.2 Trimmed Spearman-Karber 计算法

### D.2.1 适用范围

当试验数据不满足概率单位计算法及 Spearman-Karber 计算法时, 方可采用 Trimmed Spearman-Karber 计算法。要求浓度组数据在经过平滑处理及校正后, 至少有一组数据的死亡率在 0~1.0 之间, 并且所有浓度组的死亡率数据区间包括 0.5。由于本方法比较繁杂, 建议适用电脑分析。

D.2.2 对试验数据的要求及处理方法同 D.1.2。

D.2.3 在求  $LC_{50}$  及其 95% 置信限时, 还需要计算  $Trim$ :

$$Trim = \max(p_1^a, 1 - p_k^a) \dots \dots \dots (D.5)$$

式中:

$p_1^a$ ——经过处理和校正后的最低浓度组(除去对照组之外)的死亡比例;

$k$ ——除去对照组外的试验组数;

$p_k^a$ ——经过处理和校正后的最高浓度组的死亡比例。

## 附录 E

(资料性附录)

## 正态性检验和方差齐性检验

## E.1 Shapiro-Wilk's 检验

## E.1.1 原理和适用范围

Shapiro-Wilk's 检验通过用一个指标对分布的偏度、峰度进行综合检验,该方法适用于小样本资料的正态性检验,尤其是  $n \leq 50$  时。在本试验中,一个样本指试验组中的一个重复,样本观测值指经过反正弦方根变换的数值。

E.1.2 把一组 96 h 毒性试验结果的原始数据、反正弦方根变换值、平均值和方差列表(表 E.1)。

表 E.1 96 h 毒性试验存活数据表

	重复	对照组 mg/L	试验组 mg/L				
			32	64	128	256	512
原始数据	A	1.0	0.8	0.9	0.9	0.7	0.4
	B	1.0	0.8	1.0	0.9	0.9	0.3
	C	0.9	1.0	1.0	0.8	1.0	0.4
	D	0.9	0.8	1.0	1.0	0.5	0.2
反正弦 方根转换	A	1.412	1.107	1.249	1.249	0.991	0.685
	B	1.412	1.107	1.412	1.249	1.249	0.580
	C	1.249	1.412	1.412	1.107	1.412	0.685
	D	1.249	1.107	1.412	1.412	0.785	0.464
平均值 $\bar{Y}_i$		1.331	1.183	1.371	1.254	1.109	0.603
$S_i^2$		0.008 9	0.023 2	0.006 6	0.015 5	0.076 7	0.011 1
$i$		1	2	3	4	5	6

E.1.3 将每个样本观测值减去其所属试验组的平均值,得到集中观测值并列表(表 E.2),根据所得值和式(E.1)计算  $D$ (离均差平方和),  $D=0.426 5$ 。

表 E.2 集中观测值表

重复	对照组 mg/L	浓度组 mg/L				
		32	64	128	256	512
A	0.081	-0.076	-0.122	-0.005	-0.118	0.082
B	0.081	-0.076	0.041	-0.005	0.140	-0.024
C	-0.082	0.229	0.041	-0.147	0.303	0.082
D	-0.082	-0.076	0.041	0.158	-0.324	-0.139

$$D = \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 \dots\dots\dots (E. 1)$$

式中：

$n$ ——样本数；

$X_i$ ——第  $i$  个样本观测值；

$\bar{X}$ ——所有集中观测值的平均值。

**E. 1.4** 将各个集中观测值由小到大排列(表 E. 3)  $X^{(1)} \leq X^{(2)} \leq \dots \leq X^{(i)}$ ,  $X^{(i)}$  为排序后的第  $i$  个集中观测值。根据样本数  $n$  查 Shapiro Wilk's test 系数表得  $a_1, a_2, \dots, a_k$ , 当  $n$  为偶数时,  $k = n/2$ , 当  $n$  为奇数时  $k = (n-1) / 2$ 。然后依据式(E. 2)计算  $W$  值,  $W = (0.644 4)^2 / 0.426 5 = 0.974$ 。

**表 E. 3 集中观测值的秩序表**

$i$	$X^{(i)}$	$i$	$X^{(i)}$
1	-0.324	13	-0.005
2	-0.147	14	0.041
3	-0.139	15	0.041
4	-0.122	16	0.041
5	-0.118	17	0.081
6	-0.082	18	0.081
7	-0.082	19	0.082
8	-0.076	20	0.082
9	-0.076	21	0.140
10	-0.076	22	0.158
11	-0.024	23	0.229
12	-0.005	24	0.303

$$W = \left[ \sum_{i=1}^k a_i (X^{(n-i+1)} - X^{(i)}) \right]^2 / D \dots\dots\dots (E. 2)$$

**E. 1.4.1** 查 Shapiro Wilk's test 分位数表得临界值  $W(n, \alpha)$ , 比较  $W$  和临界值的大小并做出推断结论。若  $W > W(n, \alpha)$  则资料服从正态分布; 若  $W \leq W(n, \alpha)$ , 则资料不服从正态分布。本例中  $\alpha = 0.05$ ,  $n = 24$ , 临界值  $W_{(24, 0.05)} = 0.916 \leq W = 0.974$ , 因此本次毒性试验数据符合正态分布。

**E. 2 Bartlett's 检验**

**E. 2.1 原理和适用范围**

Bartlett's 检验用于多个样本方差的齐性检验, 通过比较各个试验组的总体均数的变异来判定它们之间的差异是否有统计学意义。在本试验中, 一个样本指试验组中的一个重复, 样本观测值指经过反正弦方根变换的数值。该方法所计算的统计量近似服从于  $\chi^2$  分布。

**E. 2.2** 一组 96 h 毒性试验结果(见表 E. 1)经正态检验后证明服从正态分布, 然后依据式(E. 3)、(E. 4)、(E. 5)计算  $B$  值:

$$B = (\ln \bar{S}^2 \sum_{i=1}^k f_i - \sum_{i=1}^k f_i \ln S_i^2) / C \dots\dots\dots (E. 3)$$

$$C = 1 + 1/[3(k-1)] \left[ \sum_{i=1}^k f_i^{-1} - 1 / \left( \sum_{i=1}^k f_i \right) \right] \dots\dots\dots (E. 4)$$

$$\overline{S^2} = \left( \sum_{i=1}^k f_i S_i^2 \right) / \sum_{i=1}^k f_i \quad \dots\dots\dots (E.5)$$

式中：

$f_i$ ——各试验组的自由度， $f_i = (n_i - 1)$ ；

$n_i$ ——每个试验组的重复数；

$i$ ——包括对照组在内的试验组数(1, 2, …,  $k$ )；

$S_i^2$ ——各试验组的方差；

$C$ ——校正系数。

$$\begin{aligned} \text{计算得 } B &= [18 \ln(0.0237) - 3 \sum_{i=1}^k \ln S_i^2] / 1.1296 \\ &= [18 \times (-3.7424) - 3 \times (-24.7378)] / 1.1296 \\ &= 6.064 \end{aligned}$$

**E.2.3** 当多个样本满足方差相齐时， $B$  值近似服从自由度为  $(k-1)$  的  $\chi^2$  分布。当自由度为 5，显著性水平为 0.01 时，查表得临界值为 15.086。由于  $B=6.064$ ，差异不显著，故方差相齐。



附录 F  
(资料性附录)

Dunnett's 检验和 Steel's 多对一秩检验

F.1 Dunnett's 检验

F.1.1 原理和适用范围

Dunnett's 检验通过比较各试验组均数和对照组均数来判定两者之间是否有统计学上的差异。本分析方法适用于毒性试验的原始数据符合正态和方差齐次检验后的数据分析。把一组 96 h 污染物的毒性试验结果的原始数据、反正弦方根变换值、总和和平均值列表,见表 F.1。

表 F.1 96 h 毒性试验存活数据表

	重复	对照组 mg/L	试验组 mg/L				
			32	64	128	256	512
原始数据	A	1.0	0.8	0.9	0.9	0.7	0.4
	B	1.0	0.8	1.0	0.9	0.9	0.3
	C	0.9	1.0	1.0	0.8	1.0	0.4
	D	0.9	0.8	1.0	1.0	0.5	0.2
反正弦 方根转换	A	1.412	1.107	1.249	1.249	0.991	0.685
	B	1.412	1.107	1.412	1.249	1.249	0.580
	C	1.249	1.412	1.412	1.107	1.412	0.685
	D	1.249	1.107	1.412	1.412	0.785	0.464
总和 T		5.322	4.733	5.485	5.017	4.438	2.413
平均值 X		1.331	1.183	1.371	1.254	1.109	0.603
i		1	2	3	4	5	6
G=ΣT		11.319					

F.1.2 建立 ANOVA(方差分析)计算表,见表 F.2。

表 F.2 ANOVA 计算表

方差来源	自由度 ν	离均差平方和 SS	均方 MS=SS/ν
组间	p-1=5	SSB	SB <sup>2</sup>
组内	N-p=18	SSW	SW <sup>2</sup>
总数	N-1=23	SST	

表中各项的计算公式为:

$$SSB = \sum_{i=1}^p T_i^2/n_i - G^2/N \quad \dots\dots\dots (F.1)$$

$$SST = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ij}^2 - G^2/N \quad \dots\dots\dots (F.2)$$

$$SSW = SST - SSB \quad \dots\dots\dots (F.3)$$

$$SB^2 = SSB/(p-1) \quad \dots\dots\dots (F.4)$$

$$SW^2 = SSW/(N - p) \quad \dots\dots\dots (F.5)$$

式中：

$p$ ——试验组和对照组的总数；

$N$ ——样本含量；

$n_i$ ——第  $i$  组。

本例中：

$$n_1 = n_2 = n_3 = n_4 = n_5 = n_6 = 4$$

$$N = 24$$

$$G = \sum_{i=1}^p T_i = 27.408$$

$$\begin{aligned} SSB &= \sum_{i=1}^p T_i^2/n_i - G^2/N \\ &= 131.495/4 - 27.408^2/24 \\ &= 1.574 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SST &= \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ij}^2 - G^2/N \\ &= 33.300 - 27.408^2/24 \\ &= 2.000 \end{aligned}$$

$$SSW = SST - SSB = 2.000 - 1.574 = 0.4260$$

$$SB^2 = SSB/(p - 1) = 1.574/(6 - 1) = 0.3150$$

$$SW^2 = SSW/(N - p) = 0.426/(24 - 6) = 0.024$$

F.1.3  $t$  值的计算,按式(F.6)进行。

按式(F.6)计算  $t$  值：

$$t = (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_i) / \sqrt{SW^2 \times (1/n_1 + 1/n_i)} \quad \dots\dots\dots (F.6)$$

式中：

$\bar{Y}_1$ ——对照组的平均存活率；

$\bar{Y}_i$ ——第  $i$  试验组的平均存活率；

$n_1$ ——对照组的重复样；

$n_i$ ——试验组的重复样。

数据代入式(F.6)为：

$$t_2 = (1.331 - 1.183) / \sqrt{0.024 \times (1/4 + 1/4)} = 1.351$$

计算得各浓度组的  $t$  值(表 F.3)。

表 F.3  $t$  值计算表

污染物浓度 mg/L	$i$	$t_i$
32	2	1.351
64	3	-0.365
128	4	0.703
256	5	2.027
512	6	6.646

F.1.4 方差分析  $T$  介值表(见表 F.4)使用举例。当  $\alpha=0.05$  时,查表 F.4 可知  $t_\alpha$  值为 2.41。那么  $t_5 < 2.41$ ,  $t_6 > 2.41$ ,从而判定 NOEC 为 256 mg/L。

表 F.4 方差分析(Dunnett's test) $T$  介值表

$\alpha=0.05$ 单侧检验						
$\nu/n$	3	4	5	6	7	8
15	2.24	2.36	2.44	2.51	2.57	2.62
16	2.23	2.34	2.43	2.50	2.56	2.61
17	2.22	2.33	2.42	2.49	2.54	2.59
18	2.21	2.32	2.41	2.48	2.53	2.58
19	2.20	2.31	2.40	2.47	2.52	2.57
20	2.19	2.30	2.38	2.46	2.51	2.56

F.2 Steel's 多对一秩检验

F.2.1 原理和适用范围

Steel's 检验将各试验组和浓度组编秩后,通过比较各浓度组和对照组的秩和来判定两者之间是否有统计学的差异。本分析方法适用于毒性试验的原始数据不符合正态检验和方差齐次检验后的数据分析。

F.2.2 分析步骤

F.2.2.1 把一组 96 h 污染物的毒性试验结果的原始数据、反正弦方根变换值、平均值和标准离差列表,见表 F.5。

F.2.2.2 把每个对照组和试验组的数据进行合并,然后将对照组和每个试验组的数据从小到大排序,统一编秩(1,2,...)。当数据相同时,秩次取位置序数的平均值;最后把所有排序结果列表,并计算每个试验浓度组的秩和。见表 F.6 秩计算表。

F.2.2.3 本例检验水平  $\alpha$  为 0.05,试验组数(除对照组)为 4,查表 F.7,  $T_\alpha=10$ ,只有 1 个试验组的秩和值等于  $T_\alpha$ ,而其余试验组的秩和值均大于  $T_\alpha$ ,所以本例中 NOEC 为 10%。符合生物毒性容许值。

表 F.5 平均值和标准离差计算表

	重复	对照组 %	试验组 %			
			1.8	3.2	5.6	10
原始数据	A	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8
	B	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8
	C	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7
	D	1.0	0.9	1.0	0.8	0.6
反正弦 方根变换	A	1.412	1.412	1.412	1.412	1.107
	B	1.412	1.412	1.412	1.412	1.107
	C	1.412	1.412	1.412	1.412	0.991
	D	1.412	1.249	1.412	1.107	0.886
平均值		1.412	1.371	1.412	1.336	1.023
离差		0.0	0.006	0.0	0.023	0.011
$i$		1	2	3	4	5

表 F.6 秩计算表

重复	对照组 %	试验组 %			
		1.8	3.2	5.6	10
A	1.412(5,4.5,5,6.5)	1.412(5)	1.412(4.5)	1.412(5)	1.107(3.5)
B	1.412(5,4.5,5,6.5)	1.412(5)	1.412(4.5)	1.412(5)	1.107(3.5)
C	1.412(5,4.5,5,6.5)	1.249(1)	1.412(4.5)	1.412(5)	0.991(2)
D	1.412(5,4.5,5,6.5)	1.412(5)	1.412(4.5)	1.107(1)	0.886(1)
秩和		16	18	16	10

表 F.7 T 介值表

重复样	试验组数(不包括对照组)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
4	11	10	10	10	10	—	—	—
5	18	17	17	16	16	16	16	15
6	27	26	25	25	24	24	24	23
7	37	36	35	35	34	34	33	33
8	49	48	47	46	46	45	45	44
9	63	62	61	60	59	59	58	58
10	79	77	76	75	74	74	73	72
11	97	95	93	92	91	90	90	89
12	116	114	112	111	110	109	108	108

附 录 G  
(资料性附录)  
生物毒性检验报告表

表 G.1 所示为生物毒性检验报告表。

表 G.1 生物毒性检验报告表

No.

样品名称		产品出品日期	
种 类		产品编号或批号	
等 级		抽(送)样表号	
受检单位		检验类别	
委托单位		样品数量	
生产单位		抽(送)样日期	
抽样地点		到样日期	
来样方式		样品编号	
检验依据			
检 验 结 论			
备 注			

签发人：

签发时间：

参 考 文 献

- [1] GB 17378.7—2007 海洋监测规范 第7部分:近海污染生态调查和生物监测.
- [2] ASTM E1463-92 Standard guide for conducting static and flow-through acute toxicity tests with mysids from the west coast of the United States.
- [3] USEPA Test method-method 1007.0 Mysid, *mysdopsis bahia*, survival, growth, and fecundity test.
- [4] United States Environment Protection Agency edited. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. Washington: USEPA Office of Water, 2002.
- [5] United States Environment Protection Agency edited. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Washington: USEPA Office of Water, 2002.
-