

## 检测报告

Stormøllen A/S

藻类生长抑制检测

2004年2月

**委托方:** Stormøllen A/S  
Jan Storgaard  
Ringsbjergvej 16  
DK-4682 Tureby

**日期:** 2004年2月11日

**检测方:** Eurofins Danmark A/S  
Smedskovvej 38, DK-8464 Galten

Jane Pors

Inge Bondgaard

MSc

MSc

(备注: 此文件仅为中文翻译文件, 签名请参考英文原文)

检测结果仅与被检测物质相关。  
未经检测实验室书面批准, 本报告不得转载。

## 样品原料

在客户的要求下，试验室于 2003 年 5 月 21 日在当地一家宠物店购买了 25kg 普境安。普境安用于圈舍垫料。

样品在室温下保存，放置于阴暗处，直到试验开始。

试验在 2004 年 1 月 13 日至 16 日期间进行。

## 目的

该试验的目的是为了检测普境安对淡水小球藻生长速率的影响。

## 检测方法

### 普境安：物理/化学性质

描述：	干粉状，浅褐色
pH：	3.6（根据 MSDS）
批号：	未提供
保质期：	未提供
储存：	昏暗的灯光下，室温下，在原始的容器中
溶解性：	25°C 时微溶于水
检测浓度的稳定性：	化学分析没有证实稳定性

## 性能检测

### 小球藻的来源与培养

该试验用来自挪威 NIVA 的小球藻（克隆 NIVA CHL 19）。基础培养基保存条件为 22°C ± 2°C 的温度、16/8 小时的光/暗周期、60–120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  之间的光强。水藻保存在 250mL 锥形烧瓶，橡胶瓶塞封口，并不断充入通过 0.45  $\mu\text{m}$  膜滤器的腐殖化空气。水藻生长在一种淡水介质中，这是根据经合组织的指导方针进行的。

在试验开始前三天，将水藻转移到 250mL 的锥形烧瓶中，用  $10^4$  个细胞/mL 细胞浓度的新鲜培养基培养。用血球计数器计量细胞。预培养基在细菌恒温摇床上的控温室中培养，22°C ± 2°C 的温度和 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  的持续光强，摇动频率为 50–70 rpm。

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测试验室书面批准，本报告不得转载。

## 检测物质的准备

所有检测浓度都是直接准备的。将检测产品加入培养基中搅拌 18 个小时，pH 值调整为 7.9 ± 0.1。在调整后，将检测溶液通过灼烧过的 GF/A 过滤器过滤。使用这个准备的检测产品，并且所有的检测溶液都是清澈的。

由于稀释水的使用，水藻培养基与用于保存小球藻的培养基的类型相同。

## 检测过程

本研究是在静态条件下进行的，有 6 个对照组和 5 个浓度的普境安一式三份。为每一浓度准备空白浓度（不含水藻）一式两份。试验条件类似于小球藻的预培养条件。温度由温度计（Delphi）监测。使用的检测浓度为：

0 mg/L（对照组）；40 mg/L；100 mg/L；250 mg/L；600 mg/L；1600 mg/L。

小球藻的细胞内浓度为 10<sup>3</sup> 细胞/mL。在试验开始时和 72 小时后测量 pH 值。

在试验开始和 24、48 和 72 小时暴露后，细胞的质量由荧光分析决定。

## 计算

生长速率计算如下：

$$\text{生长速率} = \frac{\ln(\text{荧光}_{72 \text{ 小时}} - \text{荧光}_{\text{空白 } 72 \text{ 小时}}) - \ln(\text{荧光}_{0 \text{ 小时}} - \text{荧光}_{\text{空白 } 0 \text{ 小时}})}{72 \text{ 小时}}$$

计算暴露 72 小时后对照组的抑制百分比：

$$\% \text{ 抑制} = \left( \frac{\text{生长速率}_{\text{对照组}} - \text{生长速率}_{\text{样品}}}{\text{生长速率}_{\text{对照组}}} \right) \times 100\%$$

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。

## 结果

从图 1 中可以看出，对照组的荧光信号已经减去了空白数值作为曝光时间的反映。检测系统应给对照组最优条件。因此，对照组必须具有指数增长，如图 1 所示。指数的增长是有统计学意义的。

### 水藻生长

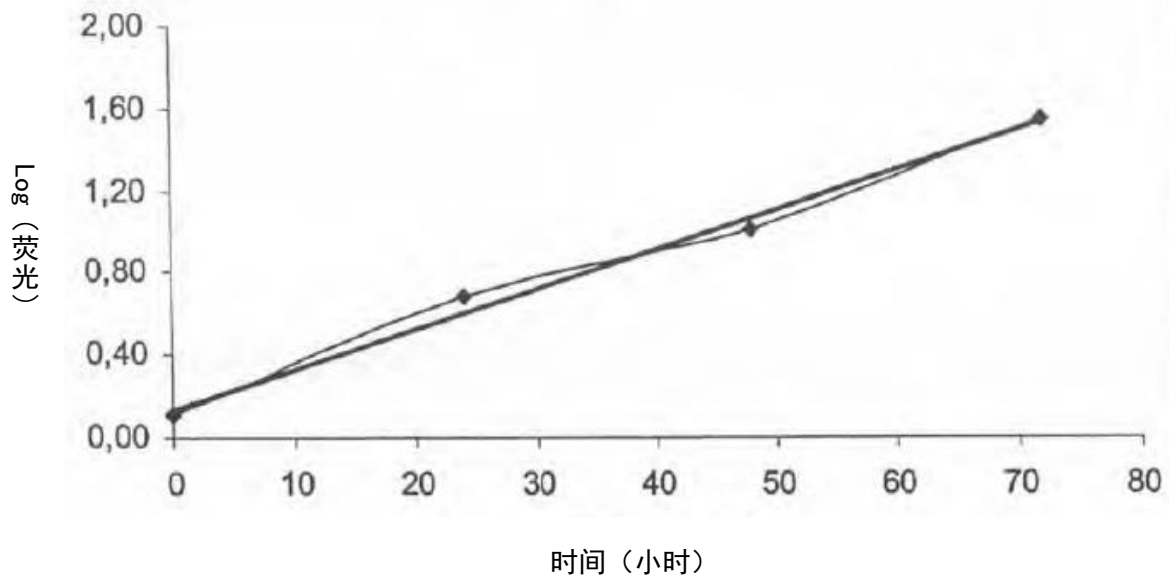


图 1 第 1、2、3 天后对照组小球藻的生长速率。这些值是复制的平均值，并且已经减去了空白数值。增长的结果显示为对荧光的对数。

表 1 列出了所有检测浓度 72 小时暴露后的 pH 值、计算的生长速率和抑制百分比。原始数据在附录中给出。

表 1 检测浓度 96 小时暴露后的 pH 值、生长速率和抑制百分比。

检测浓度 (mg/L)	pH 值*	生长速率 (小时 <sup>-1</sup> )	抑制 (%)
0	8.3 (8.2-8.4)	0.04-0.05	
40	8.4	0.03	25-38
100	8.5 (8.4-8.5)	0.03-0.04	12-24
250	8.4	0.03-0.04	23-40
600	8.4 (8.3-8.5)	0.04-0.05	- 7-14
1,600	8.4	0.04	13-20

\* 括号中给出的值表示三个决定 pH 值的范围。

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。

在每个检测浓度的三重测定中，抑制百分比变化很大，当检测浓度增加时，抑制作用不会增加。与缺乏 pH 值和生长速率的变化相比，数据表明抑制不显著。

由于抑制不会随着浓度的增加而增加，因此不可能使用统计方法计算效果浓度。效果浓度 EC20 无法通过这些测试数据进行评估。然而，效果浓度 EC50，可以评估为：

EC50-72h > 1,600 mg/L

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。

## 结论

藻类生长试验是用一个范围浓度的普境安进行的，其抑制值并没有表明小球藻的生长速率与普境安之间的毒性关系。

不能对 EC20 效果浓度测试数据进行评估，但对 EC50 评估如下：

EC50-72h > 1,600 mg/L

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。

## 附录——原始数据

检测结果仅与被检测物质相关。  
未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。

**生长抑制检测**
**输入图像 2.1 版本**

报告编号	520923-01	项目主管		试验设计人员	
装置	g/L	开始日期	2004.01.13	结束日期	
初始技术		初始试验		初始生物量	
技术日期		试验日期			
库尔特计数器		量粉计	×	显微镜	

**空白样品结果**

T=0		T=1	24	T=2	48	T=3	72
浓度	反应	浓度	反应	浓度	反应	浓度	反应
0	3.1715	0	2.0505	0	2.527	0	2.0895
0.04	2.499	0.04	2.4375	0.04	3.0575	0.04	2.622
0.1	2.5715	0.1	2.4135	0.1	2.6215	0.1	2.609
0.25	2.799	0.25	2.675	0.25	3.0445	0.25	2.6595
0.6	3.1015	0.6	2.5025	0.6	2.5145	0.6	2.553
1.6	2.7805	1.6	2.672	1.6	2.5315	1.6	2.9385
		0		0		0	
		0		0		0	

**试验结果**

<b>浓度</b>	<b>0</b>	<b>复制</b>	<b>6</b>	<b>浓度</b>	<b>0.04</b>	<b>复制</b>	<b>3</b>
0	24	48	72	0	24	48	72
4.179	6.625	18.93	46.5	4.812	6.906	9.78	24.4
5.215	5.897	13.9	38.05	5.167	8.069	16.01	34.72
4.117	9.288	14.07	41.81	5.246	6.751	10.28	24.3
4.358	6.187	9.071	28.45				
4.641	5.997	8.587	23.21				
4.191	6.994	11.54	46.99				
<b>浓度</b>	<b>0.1</b>	<b>复制</b>	<b>3</b>	<b>浓度</b>	<b>0.25</b>	<b>复制</b>	<b>3</b>
0	24	48	72	0	24	48	72
5.443	8.865	18.27	55.55	6.149	8.056	21.22	45.73
5.374	8.424	15.38	38.93	6.268	7.846	17.8	28.57
5.055	6.088	9.752	33.27	6.119	7.711	13.84	35.13
<b>浓度</b>	<b>0.6</b>	<b>复制</b>	<b>3</b>	<b>浓度</b>	<b>1.6</b>	<b>复制</b>	<b>3</b>
0	24	48	72	0	24	48	72

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。



4. 961	8. 054	23. 35	68. 02	4. 923	7. 701	14. 09	41. 29
5. 565	7. 108	18. 36	45. 68	5. 373	7. 426	17. 74	47. 42
4. 944	7. 101	13. 74	48. 68	5. 906	5. 63	16. 17	47. 78

-----  
**试验结果——空白反应调整**

浓度	0			浓度	0. 04		
0	24	48	72	0	24	48	72
1. 0075	4. 5745	16. 403	44. 4105	2. 313	4. 4685	6. 7225	21. 778
2. 0435	3. 8465	11. 373	35. 9605	2. 668	5. 6315	12. 9525	32. 098
0. 9455	7. 2375	11. 543	39. 7205	2. 747	4. 3135	7. 2225	21. 678
1. 1865	4. 1365	6. 544	26. 3605				
1. 4695	3. 9465	6. 06	21. 1205	2. 576	4. 8045	8. 96583333	25. 18466667
1. 0195	4. 9435	9. 013	44. 9005				
浓度	0. 1			浓度	0. 25		
0	24	48	72	0	24	48	72
2. 8715	6. 4515	15. 6485	52. 941	3. 37	5. 381	18. 1755	43. 0705
2. 8025	6. 0105	12. 7585	36. 321	3. 489	5. 171	14. 7555	25. 9105
2. 4835	3. 6745	7. 1305	30. 661	3. 34	5. 036	10. 7955	32. 4705
2. 71976667	5. 3788333	11. 8458333	39. 974333	3. 39966667	5. 196	14. 5755	33. 81716667
浓度	0. 6			浓度	1. 6		
0	24	48	72	0	24	48	72
1. 8595	5. 5515	20. 8355	65. 467	2. 1425	5. 074	11. 5585	38. 3515
2. 4635	4. 6055	15. 8455	43. 127	2. 5925	4. 799	15. 2085	44. 4815
1. 8425	4. 5985	11. 2255	46. 127	3. 1255	3. 003	13. 6385	44. 8415
2. 05516667	4. 9185	15. 9688333	51. 573667	2. 62016667	4. 292	13. 4685	42. 55816667

**试验结果——空白反应调整**

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。

复制 编号		$\mu$ (对照组)	$\mu$ (K1)	$\mu$ (K2)	$\mu$ (K3)	$\mu$ (K4)	$\mu$ (K5)	$\mu$ (K6)	$\mu$ (K7)
1	0.05	0.04	0.03	0.04	0.04	0.05	0.04		
2	0.04	0.04	0.03	0.04	0.03	0.04	0.04		
3	0.05	0.05	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04		
	平均	0.05							
			L( $\mu$ 1)	L( $\mu$ 2)	L( $\mu$ 3)	L( $\mu$ 4)	L( $\mu$ 5)	L( $\mu$ 6)	L( $\mu$ 7)
1			32.48	12.25	23.28	-7.23	13.14		
2			25.10	22.86	39.63	13.81	14.42		
3			37.80	24.33	31.52	3.04	19.80		
		平均	31.80	19.81	31.48	3.21	15.79		

检测结果仅与被检测物质相关。

未经检测实验室书面批准，本报告不得转载。