

团 体 标 准

T/JSES XXXX—XXXX

水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范

Technical specification for online warning and monitoring based on toxicity index of
fishes and bacteria in one for water quality

（征求意见稿）

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

江苏省环境科学学会 发 布

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 总则 2

5 试剂和材料 2

6 仪器和设备 2

7 分析测试方法 2

8 毒性预警阈值 4

9 预警分级 4

10 预警结果上报 4

11 质量保证与质量控制 5

附录 A （规范性） 鱼菌合一生物在线预警监测系统 6

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。

本文件由江苏省环境监测中心提出。

本文件由江苏省环境科学学会归口。

本文件起草单位：江苏省环境监测中心、清华大学、无锡中科水质环境技术有限公司、中国科学院生态环境研究中心。

本文件主要起草人：李娣、单阳、胡冠九、高占啟、毕凤稚、刘勇、饶凯锋、周小红、王荟、姜晟。

水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范

1 范围

本文件规定了地表水饮用水水源地水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术的试剂材料、仪器设备、分析测试方法、预警阈值，预警等级，质量保证与质量控制，生物在线预警系统建设、验收、运行和管理等方面的技术要求。

本文件适用于地表水饮用水水源地水质毒性鱼菌合一在线预警。

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。

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范
HJ 91.2 地表水环境质量监测技术规范
HJ 338 饮用水水源保护区划分技术规范
HJ 493 水质 样品保存和管理技术规定
HJ 494 水质 采样技术指导
HJ 589 突发环境事件应急监测技术规范
HJ 915 地表水自动监测技术规范（试行）
GB 3838 地表水环境质量标准
GB/T 13267 水质 物质对淡水鱼（斑马鱼）急性毒性测定方法
GB/T 14581 水质 湖泊和水库采样技术指导
GB/T 15441 水质 急性毒性的测定 发光细菌法
GB/T 29881 杂项危险物质和物品分类试验方法 水生生物毒性试验
ISO 11348-3 水质 水样对弧菌类光发射抑制影响的测定(发光细菌试验)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

相对发光强度 *relative luminous intensity*

样品的受试发光细菌发光强度与对照发光强度的比值，单位为%。

3.2

水质毒性指数 *water toxicity index*

用来量化表征鱼行为强度变化及发光细菌相对发光强度，反映水质综合毒性变化情况。

3.3

鱼类水质毒性指数 *water toxicity index based on fishes*

表示受试鱼类行为强度与水质毒性之间的关联关系，以反映水质综合毒性。

3.4

发光细菌水质毒性指数 *water toxicity index based on luminescent bacteria*

表示发光细菌相对发光强度与水质毒性之间的关联关系，以反映水质综合毒性。

3.5

鱼菌合一综合水质毒性指数 *water toxicity index based on fishes and luminescent bacteria*

根据鱼类水质毒性指数、发光细菌水质毒性指数及其权重，得到综合水质毒性指数，准确反应综合水质毒性。

3.6

在线生物预警监测技术 on-line biological early warning and monitoring technology

指通过实现水样自动输送、连续实时监测受试生物生理行为变化、远程控制、及时报警及状态显示等功能的技术或设备，达到通过生物响应实时预警监测综合毒性风险的目的，对可能出现水质污染或异常状态情况进行监测和解析并发出报警。

4 总则

4.1 鱼菌合一在线预警监测技术应符合 HJ 915 地表水自动监测技术规范（试行）的要求。

4.2 鱼菌合一在线预警通过水生生物响应实时预警监测综合毒性风险，对可能出现水质污染或异常状态情况进行监测和解析并发出报警，包括进样单元、控制单元、检测单元、分析单元和数据采集传输单元，为实时评估水环境水质安全，应对突发性水污染事件等提供技术支撑。

5 试剂和材料

5.1 青鳉鱼 (*Oryzias latipes*)：基于毒理学规范驯化养殖的三月龄标准模式青鳉鱼作为受试鱼类。

5.2 发光细菌：明亮发光杆菌冻干粉。

5.3 纯水：蒸馏水或同等纯度的水。

5.4 锌标准工作液：用毒物标准样品及纯水稀释定容配制。

七水硫酸锌母液 ($\rho=1000\text{ mg/L}$)：用万分之一分析天平准确称取密封保存良好的七水硫酸锌 4.4154 g 移入 1000 ml 容量瓶，定容至刻度，置于 2~5 °C 冰箱备用，保存期 6 个月。

七水硫酸锌使用液 ($\rho=2\text{ mg/L}$)：移取 2 ml 七水硫酸锌母液 (6.4.1) 于 1000 ml 容量瓶，定容至刻度。

5.5 氯化钠溶液：30% (M/V) 的 NaCl 溶液，配制时将 30 g NaCl 固体溶解于 100 mL 的去离子水或由超纯水机制备符合国家标准或行业标准的纯水中。

5.6 三氯酚溶液：使用分析纯级以上的 2,4,6-三氯酚配制标准储备液 (10TU)，用万分之一分析天平准确称取密封保存良好的 2,4,6-三氯酚 29mg 移入 1000 ml 容量瓶定容。

6 仪器和设备

鱼菌合一在线预警监测设备包括进样单元、检测单元、控制单元、分析单元和数据传输单元，按照 HJ 915 的要求集成到地表水自动监测系统中。

进样单元：包括样品、试剂导入部分和样品、试剂计量部分。

检测单元：由发光细菌发光监测模块和鱼类行为监测检测模块组成，通过控制单元完成对水样的自动在线分析，并将水生生物响应信息转换成电信号输出的部分。

控制单元：包括系统控制硬件和软件，实现进样、反应和排水等操作的部分。

分析单元：用于分析水生生物响应数据（发光细菌发光量、鱼类行为强度）

数据传输单元：数据传输可采用有线或无线方式，宜采用 VPN 专网传输。在公共网络上传输时，应采取网络安全保护措施。

7 分析测试方法

7.1 水质毒性鱼类在线监测方法

监测指标：行为强度（用来量化表征传感器法中的鱼类运动行为，取值0-1。正常情况下，生物行为完全表达为1，生物丧失行为能力则为0）、鱼类水质毒性指数（用来量化表征生物行为传感器法中的模式生物行为强度变化，由每个行为传感器及3个以上平行行为传感器中受试鱼行为强度变化和变化趋势组成，以水质毒性指数表征反映水质综合毒性变化情况）；结合行为模式与水质特征之间的关联关系分析，采用鱼类水质毒性指数分析水质综合毒性。

受试生物：青鲮鱼；受试青鲮鱼驯养和选用条件应符合GB/T 13267的规定，监测时应挑选鱼龄3月-4月成鱼，体长3 cm-5 cm。

预运行：设备启动运行10分钟，使各部分功能稳定，保证生物行为传感器无干扰。

零点核查：仪器稳定运行后，生物行为传感器通入被测水样，不放置标准青鲮鱼，启动软件，待设备稳定运行10分钟后，开启设备的零点漂移核查功能。每周进行一次。

标样核查：仪器稳定运行后，导入5.6三氯酚（10TU:29 mg/L）标准溶液进行测试并开始计时，至设备报警时结束，并记录报警时间及水质综合毒性指数，实现设备的标样核查功能，每月进行一次。

响应时间：向生物传感器通入试验溶液，从开始接触试验溶液至系统报警所需要的时间（min）。

受试生物更换频率：受试鱼类正常运行情况下更换的频率。如生物传感器中有青鲮鱼非正常死亡，需及时留样，清洗传感器并消毒，传感器内鱼全部更换。传感器内的青鲮鱼不可再用于水质监测。

结果判定：零点漂移行为数据误差≤10%，且设备显示水质安全，综合水质毒性指数<75。

7.2 水质毒性发光细菌在线监测方法

监测指标：发光细菌发光量、发光细菌水质毒性指数。

受试生物：明亮发光杆菌，明亮发光杆菌冻干粉可在-20℃储存。细菌在复活以后立即开始生长，并且可以用于测试，使用时需用复苏液将菌种冻干粉复苏活化，置于2-5℃环境中保存。

预运行：连接电源，设备开始运行，使各部分功能及显示记录单元稳定。

零点核查：将反应时间设定为15 min；导入去离子水或者蒸馏水，所测得结果为零点核查结果。每周进行一次。

标样核查：将反应时间设定为15 min；导入锌离子标准储备液，使反应溶液中锌离子（ Zn^{2+} ）最终浓度达到2.2 mg/L，该浓度下的锌离子（ Zn^{2+} ）溶液测试结果为标样核查结果。每周进行一次。

重复性：生物毒性在线监测仪运行稳定后，通入质控标准溶液，记录测量值，使用同一浓度标准物质重复上述操作至少6次，按公式计算生物毒性在线监测仪的定量测量重复性。

$$RSD = \frac{1}{\bar{C}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}{n-1}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：RSD——生物毒性在线监测仪重复性，%；

C_i ——量程校正液第*i*次测量值，%；

$\bar{C}$ ——量程校正液测量平均值，%；

i——记录数据的序号（*i*=1-*n*）；

n——测量次数（*n*≥6）。

温度控制误差：用温度测量装置分别测量仪器发光细菌贮存温度和测量温度。待仪器运行稳定后，每隔10 min测量其温度1次，共测量6次，依次记录读数T1，T2……，T6，分别计算读数相对设定值的偏差值，取绝对值最大的偏差作为温度控制误差ΔT。

最小维护周期：待仪器稳定运行后，仪器以4 h为周期，对1 mg/L锌标准工作液进行连续测量，从测量开始计时，测量过程中不对仪器进行任何形式的人工维护，直到仪器连续3次检测数据平均值超过允许灵敏度范围，记录总运行时间（小时）为最小维护周期。

实际水样比对实验：采集实际水样样品，待仪器稳定运行后，使用仪器进行测量，测量6次，记录检测结果。用实验室GB/T 15441测量3次，计算实际水样测量值与实验室国标方法测量值的平均值之间误差绝对值的平均值，作为仪器实际水样比对试验误差的判定值，计算方法如公式（2）所示：

$$\bar{A} = \frac{\sum_{i=1}^n |X_i - \bar{B}|}{n\bar{B}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：A—— 水样相对误差绝对值的平均值；
Xi—— 水质在线自动监测仪测量水样第i次的测量值；
B—— 手工方法测量水样的平均值，测量次数为3次；
n —— 测量所得数据总数，n=6；
i —— 测量次数。

8 毒性预警阈值

8.1 鱼类水质毒性预警阈值

鱼类水质毒性指数为0-75（不包含75），表征水质安全；鱼类水质毒性指数为75-100，表征水质异常。即青鳉鱼类水质安全预警阈值为75，水质指数达到或超过75时将发出预警提醒，实现青鳉鱼类在线监测预警功能。

表 1 饮用水水源地鱼类水质毒性指数评价分级

预警级别	鱼类水质毒性指数	预警风险等级
I（红色）	≥ 75	水质异常
II（绿色）	$0 \leq \text{鱼类水质毒性指数} < 75$	水质安全

8.2 发光细菌法水质毒性预警阈值

发光细菌水质毒性指数为0-75（不包含75），表征水质安全；发光细菌水质毒性指数为75-100，表征水质异常。即发光细菌法水质安全预警阈值为75，水质指数达到或超过75时将发出预警提醒，实现发光细菌法在线监测预警功能。

表 2 饮用水水源地发光细菌水质毒性指数评价分级

预警级别	发光细菌水质毒性指数	预警风险等级
I（红色）	≥ 75	水质异常
II（绿色）	$0 \leq \text{发光细菌水质毒性指数} < 75$	水质安全

8.3 水质毒性鱼菌合一预警阈值

综合水质指数为0-75（不包含75），表征水质安全；综合水质指数为75-100，表征水质异常。即综合水质毒性指数安全预警阈值为75，综合水质毒性指数达到或超过75时将发出预警提醒，实现鱼菌合一在线预警功能。

9 预警分级

根据水样综合毒性水平的表征方法采用综合水质毒性指数进行评价分级，将预警等级划分为2级，相应风险等级分别为水质异常和水质安全，分级方法见表3。

表 3 饮用水水源地综合水质毒性指数评价分级

预警级别	综合水质毒性指数	预警风险等级
I（红色）	≥ 75	水质异常
II（绿色）	$0 \leq \text{综合水质毒性指数} < 75$	水质安全

10 预警结果上报

当连续三组综合水质毒性指数达到或超过75，则启动相应的预警程序。此外，根据实际应用环境建立预警审核机制，避免假阳性情况。

11 质量保证与质量控制

发光细菌急性毒性测试的质量控制和质量保证要求如下：

——更换冻干粉的条件：为保证发光细菌冻干粉活性，除初始发光强度应满足生物发光光度计要求外，对照样的反应 15min 校正因子 f 应为 0.6-1.8，否则需要更换冻干粉；

——精密度：样品 3 次重复测定结果的变异系数小于 15%；

——参比毒物 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 的半数抑制浓度 IC50 范围应为 0.6 mg/L-6 mg/L。

青鲮鱼综合毒性监测的质量控制和质量保证要求如下：

——受试青鲮鱼驯养和选用条件应符合 GB/T 13267 的规定，监测时应挑选鱼龄 3-4 个月成鱼，体长 3cm-5cm；

——恒温恒流控制，满足测试鱼的正常生活条件；恒流控制保证传感器水流流速为 3L/h；温控系统能保证监测水体为 20℃左右；过滤系统不改变水质性质，需具备预处理设备的反冲洗功能；

——以已知浓度的标准样品作为标准毒物，采用 29 mg/L 的 2、4、6-三氯酚作为标准物质进行现场手工标样核查。生物预警设备按照运维规范运维清洗之后，生物行为传感器通入被测水样，将标准模式青鲮鱼置入预警设备的行为传感器中并稳定运行 10 min，通入上述标准溶液进行测试并开始计时，至设备报警时结束，并记录报警时间及综合水质指数，水质状态为水质污染，水质综合指数 ≥ 75 ，报警响应时间 $\leq 10min$ 。

11.1 水质毒性鱼类在线监测性能指标

鱼类在线监测应满足以下性能指标（表4）。

表 4 鱼类在线监测方法性能指标

序号	具体指标	性能要求
1	测量参数	行为强度、水质指数、综合毒性浓度
2	采集频率	≥ 255 次/s
3	零点漂移	$\pm 10\%$
4	标样核查	综合水质指数 ≥ 75 、响应时间 $< 0.2h$
5	受试生物更换频率	30d
6	平均无故障连续运行时间（MTBF）	≥ 720 h

11.2 水质毒性发光细菌在线监测性能指标

发光细菌在线监测应满足以下性能指标（表5）。

表 5 发光细菌在线监测方法性能指标

序号	项目	性能指标
1	受试生物	费氏弧菌
2	测量范围	-100%~+100%（抑制率）、0~200%（相对发光度）
3	空白对照通道数量	≥ 1
4	发光细菌贮存单元温控误差	$\leq \pm 1^\circ C$
5	反应模块温控误差	$\leq \pm 1^\circ C$
6	零点核查	-5%~+5%（抑制率）、95%~105%（相对发光度）
7	标样核查（2.2mg/L Zn^{2+} ）	50% $\pm$ 15%
8	重复性	$\leq 10\%$
9	最小维护周期	168h
10	实际水样比对实验	$\leq 20\%$

附录 A
(规范性)
鱼菌合一生物在线预警监测系统

A.1 总体要求

饮用水水源地生物在线系统建设主要包括：站址选择、站房建设、生物站各单元和数据平台的建设，其中仪器性能应符合附录A和附录B要求。

A.1.1 站址选择和站房建设

布设在现有的地表水饮用水水源地水质自动监测站，节约成本、便于数据分析和管理工作。

A.1.2 各单元建设

其中进样单元、控制单元、检测单元数据采集和传输单元应符合《地表水自动监测技术规范（试行）》（HJ 915）的相关要求。

检测单元是生物预警站的核心部分，由满足鱼类和发光细菌法的在线监测设备组成。仪器的选择原则为满足生物预警技术相关要求，具有抗腐蚀性，应易于安装、更换和清洗，检测模块的输出信号应稳定，实现对待测样本的自动在线分析，性能稳定，运维成本合理，二次污染小。

A.2 生物在线预警系统验收

A.2.1 总体要求

生物在线预警监测系统验收包括站房及外部保障设施建设验收、仪器设备验收和数据传输及数据平台验收。验收具体内容及相应表格参加表1、表2和合同。

A.2.2 验收程序

- (1) 应符合《地表水自动监测技术规范（试行）》（HJ 915）的相关要求；
- (2) 完成仪器性能测试、比对实验，技术指标满足附录A、附录B以及合同要求。

A.2.3 验收内容

站房及外部保障设施验收、仪器设备验收数据传输及数据平台验收应符合《地表水自动监测技术规范（试行）》（HJ 915）的相关要求，仪器设备性能准满足附录A、附录B以及合同相关指标、有关标准以及要求。

A.3 鱼菌合一生物在线预警监测系统运行维护

(1) 例行维护：包括仪器和系统检查，耗材更换，受试鱼菌定期更换，管路清洗等工作。运行维护单位定期对生物预警站进行巡检，巡检频次不得低于每周一次，并记录巡检情况。数据正常情况下，受试鱼每个月更换一次，发光细菌每两周更换一次。

根据设备运行状态和主要技术参数，判定运行是否正常，其中发光细菌应保证校正因子在0.6-1.8之间。

每次进行备件或材料更换时，更换的备件或材料的品名、规格、数量等应记录并归档。

(2) 保养检修：生物预警系统仪器设备至少每年进行1次保养检修。

(3) 数据质量保障：日常运行质量保证是保障监测仪正常稳定运行、持续提供有质量保证监测数据的必要手段。当监测仪不能满足技术指标而失控时，应及时采取纠正措施，并应缩短下一次核查、维护的间隔时间。

维护人员应做好数据管理和数据审核工作。应每天检查设备运行情况，并进行数据的实时性、有效性分析。数据有效性判别主要包括以下内容：

- a) 当采样异常时，所得的监测值为无效数据，应予以剔除。
- a) 仪器故障、调试或标样核查期间的数据应剔除。

- b) 数据出现急剧升高、急剧下降或恒值不变时，应去现场检查仪器工作状态，仪器工作状态异常则数据应剔除。
- c) 菌种失活或状态异常（CF 值不在 0.6-1.8 范围内或发光强度低于检测所需最低值时）所得的监测值为无效数据。

（4）定期核查：应做到每周（发光细菌法）或每月（鱼法）进行一次零点和标样核查，核查方法见附录A或附录B，并形成定期核查记录，包括核查时间、标样浓度、检测结果、是否合格。

（5）建立保障制度：为确保生物预警系统的正常运行和数据的准确可靠，必须建立相应的保障制度，主要包括（1）运维管理办法（2）运维人员岗位职责（3）质量管理保障制度（4）系统操作说明书（5）培训与考核制度（6）相关档案管理制度。