

《水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范》

（征求意见稿）

编 制 说 明

《水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范》起草组

二〇二三年

目 次

一、制定标准的背景、目的和意义	1
1.1 背景	1
1.2 理化指标预警技术	3
1.3 生物学法预警技术	4
1.4 意义	12
二、工作简况	13
2.1 任务来源	13
2.2 起草单位及主要起草人情况简介及分工	13
2.3 主要工作过程	14
三、标准编制原则和确定标准主要内容的依据	16
3.1 标准编制原则	16
3.2 标准制订的技术路线	16
3.3 确定标准主要内容的依据	17
四、与现行相关标准的关系	51
五、标准实施建议	51
附件 1 团体标准立项审查会专家意见汇总处理表	53
附件 2 团体标准初稿审查会专家意见汇总处理表	56

一、制定标准的背景、目的和意义

1.1 背景

水是生命的源泉，饮用水安全是人类生存的根本。饮用水水源地保护工作不仅事关人民群众饮水安全和生命健康，也直接关系到区域经济社会发展的和谐与稳定。2000 年起，国家高度重视饮用水水源地生态环境保护，颁布了一系列法律法规，投入了大量的人力、物力和财力；经过多年的努力，我国城镇已基本实现了公共供水全覆盖，市政供水普及率达 98.8%，农村地区饮用水也实现了全覆盖，有些城市还建立了备用饮用水水源地，供水可满足人们生活和社会发展的用水需求。然而，据不完全统计，2014 年至今全国共发生突发环境事件 2000 起左右，其中水污染事件约占 60%；比如松花江污染事件、太湖蓝藻事件、广西龙江河镉污染事件等直接导致居民饮用水停止供应，引起民众恐慌，严重影响了人民的日常生活和社会安定。另外，近年来国际国内反恐应急形势日趋严峻，人口聚集区的饮用水水源极易成为恐怖分子进行投毒破坏的目标，必将引起社会性恐慌和危害，近日公安部已将我国饮用水安全作为反恐应急工作的重点之一。因此对饮用水水源地水质监测和监管显得愈发重要。目前我国重要的饮用水水源地基本建设了水质自动监测设备，考虑到监测的时效性，水质自动监测指标主要为常规的监测水质理化指标，如氨氮、总磷和总氮等。随着化学品的种类、数量不断增加，我国已经生产和使用的化学品数万种，而大量化学品具有明显的生物毒性、环境持久性和生物积累性，在环境中即使浓度较低，也可能具有显著的环境与健康风险，其危害具有潜在性和隐蔽性。很难通过常规的理化指标来监测饮用水水源地水体中有害物质。然而如果检测时效过长，或者根据一些理化指标无法判断其严重程度，特别是关系到群众饮用水安全时，加上污染物往往不确定，给政府管理部门带来了极大的挑战。

近年来，我国相继出台了一系列关于水质监测与预警技术的政策规划，强调

深化国家重大环境风险源动态监测体系，强化重点流域或地表水和水环境加强生物预警监测。《国家中长期科学和技术发展规划纲要（2006-2020 年）》关于环境的发展思路中要求：“开发饮用水安全保障技术以及生态和环境监测与预警技术，大幅度提高改善环境质量的科技支撑能力，重点研究适合我国国情的重大环保装备及仪器设备，加大国产环保产品市场占有率，提高环保装备技术水平”。2015 年国务院办公厅印发《水污染防治行动计划》（国办发〔2015〕17 号），强调地方各级人民政府要制定和完善水污染事故处置应急公告预案，落实责任主体，明确预警预报与响应程序、应急处置及保障措施等内容，依法及时公布预警信息；提升水源水生生物监测，全力保障水生态环境安全。2015 年国务院办公厅以国办发〔2015〕56 号公告《生态环境监测网络建设方案》同时明确规定：在重点流域开展生物毒性监测。2017 年原环保部、发改委、水利部联合印发《重点流域水污染防治规划（2016-2020 年）》（环水体〔2017〕142 号）公告规定了饮用水水源地环境安全保障应完善应急处置技术库提高预警和应急处置能力；加强地表水水生生物监测能力建设、加强水质监测预警工作，提升水质监测信息化水平。中华人民共和国生态环境部 2018 年第 1 号公告《集中式地表水饮用水水源地突发环境事件应急预案编制指南》中，水源地应急防控体系建设的主要内容和要求里明确规定：应急处置启动条件之一为通过监测发现，水源保护区或其上游连接水体生态指标异常，即水面出现大面积死鱼或生物综合毒性异常并经实验室监测后确认的；并在此基础上明确在连接水体和取水口的应急防控里可根据流域污染特征，适当增加监控指标，可采用生物毒性综合预警手段实现对重金属、有机污染物等有毒有害物质进行实时监控。

因此，利用快速水污染事件响应技术，开展饮用水水源地水质情况实时监测，是解决当前饮用水水源地保护困境的基本保障。在饮用水源监测中引入水环境综合毒性生物预警与监测技术，即利用有毒物质污染应激下生物体的死亡、行为响

应和生理生化改变来识别毒物的方法。用“毒性”代替“毒物”监测是一个最佳解决方案，也是代表国际前沿的新技术和新方法。如果能在灾害发生之前预警或是在灾难发生最初采取应急措施，就能极大地控制事态发展，减少损失。基于突发事故和反恐应急的特点，针对整个区域饮用水水源周边环境，建立区域饮用水水质安全多层级生物在线监测预警体系，通过观察、监测，预警预测各种安全指标是否偏离安全阈值，同时辅以一套事先制定的、能迅速应对突发性饮用水水质污染，缓解和减缓饮用水水源不安全对国民经济和社会可持续发展造成的冲击与影响，避免发生由于饮用水不安全引起大的政治、经济和生态灾变，使人民生活质量、国民经济和社会发展、水生态系统不受破坏或受影响最小是十分必要和紧迫的。

1.2 理化指标预警技术

一般来说，理化指标预警系统，通过定性、定量方法，能够直接分析测定水环境中有毒有害物质及其浓度，这一类监测方法有针对性，且较快速，可监测确定水环境中污染物种类及含量，实现在线的量化监测，但是理化分析方法只能检测特定条件下水环境中污染的类别和含量等，而且一个方法不能覆盖所有类别的污染物，通常分析周期较长；一些在线的监测仪器可以快速分析出预定化合物的含量，但结果并不能直接反应水环境中化学物质对水生生物的影响，尤其是多种化合物的联合作用以及外界环境（温度、pH、溶解氧、酸碱度、硬度等）对化学物质的毒性影响等。

为了应对突发的水环境污染事故，各级政府相继建立了突发供水事件应急预案。在一些江河、湖泊重点流域和敏感水域已建立起水质监测网络和预警预报机制。但目前这些系统主要是依靠常规水质五参数（pH、溶解氧、高锰酸盐指数、氨氮、总磷）进行检测和分析，虽然能够准确检出参数的含量，但在应对水环境污染事故预警时作用较小，很难对特定污染物起到预警作用。全国各地的主要饮

用水水源地、交界断面大多建设了地表水水质自动监测站。常规多参数作为预警的辅助参考信息，主要用于对水质基本情况的了解。很多有害物质的变化与常规参数的变化并不完全同步，有些没有变化，有些变化不明显。2007 年，浙江永嘉县黄坦发生钼矿尾矿因暴雨冲击而污染水源事件，环保部工作人员来调查原因时，附近的黄坦地表水自动监测站仪器显示的常规多参数并没有明显异常。另外，我国水系复杂，污染物类型繁多，而很多化学分析必须在已知目标污染物的情况下才能进行测定，因而，对突发性污染事故不能做出快速的判断。只有通过快速、科学、准确的监测手段及时发现水污染事件并启动相应的应急措施，才能最大限度地减少对人民生命财产的损失。因此，建立和完善饮用水水源的水质安全预警监测系统，是保障预警机制有效运作的基础。

1.3 生物学法预警技术

生物学方法是把生物监测技术与环境科学相结合的一种方法，包括生态学方法、毒理学方法等，其不仅可以用来测定和评价单一化学物质对生物的影响，还能直接用来测定工业废水的毒性及多种化学物质的联合毒性。该方法是利用水生生物在一定的水环境条件下，受水体污染物的影响而产生的各种反应来测试水体的污染状况。

生物及其生存环境是统一的整体，环境创造了生物，生物又不断地改变着环境，两者相互依存、相互补偿、协同进化，这一生物学规律对于水生生物及水体环境也不例外。水生生物与其水体环境的这种统一性和协同进化是水体污染生物监测的生物学基础，而水生生物适应的相对性及其对污染物质或毒物的各种反应则是水体污染生物监测的基本原理。其研究结果不仅能直接判断水体中污染物对水生生物的潜在影响、实际毒性，而且还能由此对水环境的质量作出评价。除此之外，在积累大量数据的基础上，还能为各种水体污染物或毒物的排放标准选择、污水处理方法及流程、区域环境容量和环境标准的制订提出依据。目前，生物检

测不仅已成为对水体污染进行监测和评价的重要手段，也可作为水体污染预警预报的重要手段。

与目前常用的水质污染的理化自动监测系统相比，生物在线监测预警系统具有以下特点和优势：

（1）环境质量和其它环境条件改变的强度是随时间而变化的，理化监测只能代表取样期间的污染情况，而生活于一定区域内的生物，却可以将长期的污染状况反映出来。因此，长期连续的生物监测比理化监测的定期取样观测更能反映环境质量变化的全貌，反映长期的污染效果，具有时效性和综合性。

（2）某些受试生物对一些污染物非常敏感，它们能够对一些精密仪器都测不到的微量污染物产生反应，并表现出相应的受害症状。另外，通过食物链可以把环境中的微量有毒物质予以富集，当到达该食物链末梢时，可将污染物浓度提高达数万倍。

（3）生物监测更具多功能性，因为一种生物可以对多种污染物产生反应而表现出不同症状。理化监测只能检测特定条件下水环境中污染的类别和含量等，而生物监测可以反映出多种污染物在自然条件下对生物的综合影响，从而可以更加客观、全面地评价水环境。

（4）数字化反应体系创建：将电子技术和计算机技术应用于生物监测，可以形成数字化、智能化的信息发生系统。同理化分析相比，不需要特殊分析试剂，成本低，而且更易实现连续、实时在线监控，在水环境生物安全预警系统中具有重要的作用。

生物监测预警技术最早运用在欧洲。德国从 1990 年开始就将生物监测预警技术成功运用于多个河流，组建了莱茵河监测网络。目前已实现产品化的有德国 BBE Moldaenke 公司的蚤类毒性仪、藻类毒性仪、鱼类毒性仪，荷兰 MicroLAN 公司的发光细菌毒性仪等。

2002 年以来,美国开展了针对恶意投毒和事故性饮用水污染监测系统的研究,逐步形成了一套完整的三级水质监测系统,综合了毒性测试、酶联免疫等生物效应检测和化学监测技术,能快速鉴别和分析污染物的特性。

我国研究人员利用发光细菌方法研究了工业废水、河流、海水等样品的毒性,1995 年我国将这种方法列为水质急性毒性检测的标准方法。国内已有中国科学院生态环境研究中心、聚光科技、力合科技等公司陆续开发出不同物种的水质综合毒性分析产品,在一些重要水源地获得实地应用。

水质生物毒性预警检测是让指示生物曝露在被测水样中,根据观察到指示生物的反应生理特征改变、行为异常、死亡,而做出的水样对指示生物影响的评价。目前常见的生物毒性监测指示物有发光细菌、鱼类、水蚤、藻类等。

1.3.1 发光细菌急性毒性监测

发光细菌在生物监测方面表现出反应快、成本低、重复性高和灵敏度强等优点,因此发光细菌试验已被列为国际标准(ISO11348)和我国环境毒性监测的标准方法(GB/T15441—1995)。其原理是利用发光细菌的发光特性对水体污染程度的敏感性来设计试验,当水质受到污染时,会对发光细菌的活性产生影响,细菌的呼吸运动减弱后,其发光性能相应减弱,即发光细菌的发光能力与水质的污染程度成负相关性。通过检测发光细菌受影响的程度,来推断水质的污染情况。目前,荷兰、美国、以色列、中国等国家都研制出了发光细菌毒性测试仪器,并得到了广泛的推广应用。

发光细菌急性毒性测定水质污染具有快速、经济、准确、灵敏的特点,同时也存在以下问题:①室内测试需要精确控制测试时间与环境条件,测试的稳定性及重复性稍差;②对部分污染物如有机物的敏感性不够,报警阈值较高。

1.3.2 水蚤在线监测

一般认为,大型无脊椎动物对污染物的敏感性较鱼强,而且它们在多种水体,

尤其在流水中广泛分布，采集方便，同时生活周期足以记录环境质量。群落异质性强，总是存在对污染物发生反应的生物类群，因而较多研究集中在开发无脊椎动物早期警报系统，水蚤(Daphnia)是最常用的无脊椎动物。据仁宗明等研究表明，大型蚤的行为对有机磷农药有很好的敏感性，其行为强度的变化可以指示突发性的有机磷农药污染事件。受污染物刺激，水蚤在初期的运动速率变快，而且旋转角度加大，运动的随机性增强。但随着时间延长受损水蚤的游泳能力下降，根据这种特征反应判断污染事件。污染情况下水蚤的位移能力会改变，有些在线监测系统通过设垂直管，水由上而下流入，将光源和检测器沿管壁相对安装。检测水蚤在水柱内单位时间产生的光斑量。光斑产生量下降表明水蚤的位移能力下降，可以监测水质的污染状况。1991年，比利时学者采用高速摄像系统，测定水蚤的运动速度，形成了“微型无需培养基即时生物测试”的概念，其研究结果投入实用并被称为微型生物即时毒性测试仪，1991年投入商业化使用，现已广泛应用于世界各国。稳定光源下，水蚤产生接近或游离反应，分别定义为正趋光或负趋光行为。

水蚤作为毒性测试的指示生物已经被国内外列为标准生物。虽然国内外学者进行了大量研究，但传统的蚤类毒性测试多以半死亡为判断终点，人工判断耗时耗力。随着计算机与软件技术的发展，关于生物运动行为抑制的测量更加精确、快速，利用水蚤的行为变化进行生物综合毒性测试可显著提高测试灵敏度，缩短测试时间。因此，利用水蚤的行为变化作为指标评价有毒有害物质将成为未来研究的热点之一。目前该技术主要存在以下问题：①传统方法以半死亡来判断测试终点，耗时耗力，专业性较强，难以满足野外快速监测预警的需求。②利用行为变化进行监测预警的测试方法容易产生误报，行为解析的准确性有待提高。

1.3.3 鱼类在线监测

鱼类生物监测预警系统的使用始于1929年，Belding根据鱼的呼吸变化指示

有毒环境；后来，鱼的游泳行为、正趋流性、选择行为等相继得到应用。

（1）以鱼类死亡为终点的监测系统

水体受到严重的污染，导致鱼在短期内因氧气缺乏或神经及其他组织损伤等原因死亡，死亡现象的发生表明水质急剧恶化。

（2）以鱼类的正趋流性为监测对象的在线监测系统

很多生活在流水环境中的鱼都表现出一种独特的位移行为，即总是逆水游动，定义为正趋流性。鱼有溯流而上的趋流性，是由于视觉的固有趋性，侧腺器官的转向趋性，鳍或腹部的接触感觉器的转向趋性等三种因素所控制。水体污染物可使鱼的正趋流能力被破坏，通过特定的仪器监测鱼逆流活动的的能力，如果鱼不能维持在上游的位置，则表明污染产生了危害。

（3）通过鳃的运动方式来监测与预警水体污染

鳃的呼吸运动对污染物非常敏感，0.5 小时内可检出接近半致死浓度的污染物，亚致死浓度 (20%—50% LC₅₀) 的污染物也可在 24h 内检出，但对 <10%LC₅₀ 浓度的污染物不发生反应。在有污染物存在的情况下，鳃呼吸运动加快且无规律。将监测电极直接安装在鱼鳃上，监视当前呼吸频率，通过数据分析并与正常的呼吸频率比较，如果出现明显差异则表明发生了污染。

（4）以鱼类的回避行为为监测对象的在线监测系统

鱼类能够凭借其强大的运动能力逃避不利环境，通过设计装置，观察鱼在不同浓度下的停留情况，假若都表现出逃避的行为，大多数鱼集中在洁净水一端，则表明受试水遭受了污染。

（5）弱电脉冲在线监测系统

有许多科的鱼能够周期性地发出弱电脉冲，脉冲频率与种类有关，也与其所在的不同环境相关，当有污染存在时，会影响到其脉冲频率，鱼体运动和弱电脉冲频率就会发生变化，通过监测这种变化可以预警环境的污染情况。

(6) 以游泳活动为对象的在线摄像监测系统

污染物能够提高或降低鱼的游泳能力，利用光电技术连续或半连续确定鱼的位置变化，通过比较鱼的当前运动与历史记录，观察鱼的行为是否发生变化，从而监测环境污染。

随着计算机技术、图形识别技术、自动化控制技术的进步，开始逐渐利用鱼类行为的变化来测试水体的综合毒性，并由此研发了一系列仪器，如新加坡叻克公司研发的鱼类毒性仪、德国 BBE 研发的鱼类毒性仪等等，使测试敏感度明显提高、预警时间明显缩短。但该方法的缺点是行为解析的准确性有待提高，容易误报，目前在国外已有一定程度的推广应用，在国内尚处于起步阶段，存在广阔的应用和改进空间。

1.3.4 藻类在线监测

藻类是水生生态系统的主要初级生产者，藻类的种类、群落组成及生物量与水环境密切相关，目前已成为评价水体的重要指标，在水环境的监测、化合物的毒性评价中得到了广泛的应用。藻类用于水质监测评价已有几十年的发展历程。1967 年美国最早提出“暂行藻类测试程序”，而后修改成为藻类测试玻璃瓶法。1981 年经济合作与发展组织(OECD)提出“藻类生长抑制实验方法”(AGIT, Alga Growth Inhibition Test)，建议采用单细胞藻类作为受试藻种进行毒性测试，目前已成为最常用的一种评价方法。1993 年，中国国家环境保护总局编写了《水生生物检测手册》，2004 年欧盟公布了国际标准《水质—用单细胞藻进行淡水藻类生长抑制性实验(ISO8692: 2004)》，2008 年我国发布了藻类毒性测试的国家标准《化学品藻类生长抑制试验》(GB/T21805—2008)。这些标准和规范在推动藻类用于有毒有害物质评价方面发挥了重要作用。传统的藻类毒性测试是利用藻种在毒物的胁迫下，其光合色素含量、细胞密度、吸光度、酶活性、蛋白质含量、重金属积累量等指标的变化，或以半数效应浓度(EC50)和半致死浓度(LC50)来表示藻

种的敏感程度。上述方法存在测量周期较长、结果可靠性低，并且实验无法区分死活藻细胞的缺陷。国外学者尝试用叶绿素荧光技术来检测污染物，以测试藻类的 PSII 最大光能转化效率 (F_v/F_m)、PSII 实际光能转化效率 (Yield)、NPQ(非光化学猝灭)、PSII 潜在活性 (F_v/F_o)、 qP (光化学猝灭)等指标的变化表示污染物毒性的大小，具有快速、准确等优点。国外自 1990 年以来，就陆续有人采用叶绿素荧光技术对水中的农药残留进行检测，并取得了较大进展。如 Frense 等以栅藻 (*Scenedesmus subspicatus*) 作为指示生物，采用叶绿素荧光技术在 10min 内对阿特拉津的检出限达到 $0.1 \mu\text{g/L}$ 。Nguyen-Ngoc 等将藻细胞包埋在硅胶基质中，用 Spex Fluorolog2 检测叶绿素荧光变化，其对敌草隆、百草枯和莠去津的检出限达到 $0.1 \mu\text{g/L}$ ，满足欧盟饮用水标准要求，而且低于之前采用的悬浮藻液的检出限 $1 \mu\text{g/L}$ 。国内在这方面的研究工作起步较晚，王山杉观察到固氮鱼腥藻 (*Anabaena azotica* Ley) 在 Zn^{2+} 存在时其叶绿素荧光先上升再降低，当 Zn^{2+} 浓度为 1.0mg/L 时， F_v/F_m 值最高，随着 Zn^{2+} 浓度的升高， F_v/F_m 值降低。

藻类用于水质监测与毒性评价也同样存在着不少缺陷。首先，由于藻类本身有较强的适应性及变异性，对外部环境有较强的忍耐力，而且这种忍耐力随着胁迫时间的延长而加强，因而降低了测试的灵敏性和专一性；其次，藻类的生理状态受到诸多因子的综合影响，这给监测结果的解读带来一定困难；再者，传统的藻类监测耗时长，要求实验人员具有较好的专业基础；最后，藻类对除草剂、杀虫剂类物质比较敏感，而对大多数重金属、有机物等污染物的敏感度不高。

1.3.5 生物在线预警技术发展趋势

目前国内的水质预警目前仅限于常规的理化指标，在实际工作中常规理化指标系统对突发水质事件的预警成功率相对较低，遇到如广东北江镉污染事件、太湖藻类爆发等事件，常规指标并没有显著变化。而大部分生物预警设备都是单通道的，不可避免出现误报漏报问题；利用单一指示生物进行生物综合毒性测试，

在预警时间、预警范围及阈值方面各有优劣，难以高效、客观、全面地检测各类污染物，依赖传统的实验室分析技术，往往耗时数日甚至数周。我国仍不具备统一的生物毒性预警在线分析仪技术标准及配套的预警系统技术规范。在未来，开发具有多通道多物种的综合毒性预警技术，同步利用特征污染物监测信息，对环境毒性进行实时、全面的预警是目前的技术发展方向，是本项目的核心研究方向，对于水环境保护和污染事件预警溯源具有重要意义。因此，有必要构建饮用水水源地生物预警技术规范，不仅能够及时、全面地掌握集中式饮用水源地水质污染状况，快速启动预警机制，更能有效降低居民饮用水安全风险，后续可作为普适性标准在全省乃至全国范围推广。

近年来，国内外学者通过采用发光细菌、大型溞、鱼类和藻类等各种毒性测试研究发现发光细菌急性作为受试生物对水质健康风险防控具有一定的普适性，结合目前地表水饮用水水源地水质污染物以重金属和有机污染物为主的特征，利用青鳉鱼对有机农药敏感，发光细菌对重金属敏感的特点，加上青鳉鱼在食物链中处于重要的地位，是一种重要的生物种群，分布广泛，遗传稳定。青鳉鱼作为受试生物已被多数世界组织认可，20 世纪 80 年代国际标准化组织（ISO）将其列为毒性实验受试物种。利用多层级生物（鱼、菌）对有毒污染物敏感的特点，基于标准模式生物生理响应与水体中的有机污染物、重金属等有毒物质具有剂量效应关系的毒理学机制，将模式鱼与发光菌作为多层级模式生物，通过生物传感器监测生物生理变化（行为变化、发光量变化），实现水质综合毒性的在线生物预警监测，能够拓展生物预警的监测范围，进一步全面有效的预警监测水质突发污染事故）。

目前国际上没有一个统一评价标准，综合《水质 水样对弧菌类光发射抑制影响的测定(发光细菌试验)》（ISO 11348-3-2007）和鱼法行为学水质指数算法，研究典型污染物（有机物和重金属）对费歇尔弧菌和鱼的毒性响应关系曲线；考

察地表水饮用水水源地本底基质对毒性综合响应规律及预警结果判定模型；实现地表水饮用水水源地水质综合毒性的在线预警监测；结合地表水饮用水水源地实际水质状况，得出地表水饮用水水源地鱼菌合一多层级生物预警阈值；进一步全面有效的预警监测水质突发污染事故。

1.4 意义

随着我国经济和人口的快速发展，生活污水、工农业废水大量排放水体，进入环境中污染物呈现种类多样，数量频发急剧增加的趋势，尽管相关水质标准规定了水质常规理化指标的达标限值和排放标准，但水体中物质种类繁多，加上新型化合物不断出现，都可能对水生生物乃至人类健康具有潜在的威胁，这些物质在水环境中通过生物作用，使得水体的综合毒性表现越来越明显，从生物多样性的下降到物种的灭绝，无不对生态系统功能和人类健康构成威胁。

近年来，国内外学者通过采用发光菌、大型溞、鱼类和藻类等各种毒性测试研究发现发光菌急性作为受试生物对水质健康风险防控具有一定的普适性。因此，有必要强化饮用水源地水质急性综合监控和健康风险评估，对保证饮用水源地的生态环境安全具有重要的意义，也是未来水质目标采样毒性指标管控和生物风险评估的重要依据。

如果能在灾害发生之前预警或是在灾难发生最初采取应急措施，就能极大地控制事态发展，减少损失。基于突发事件和反恐应急的特点，针对整个区域饮用水水源周边环境，建立区域饮用水水质安全多层级生物在线监测预警体系，通过观察、监测，预警预测各种安全指标是否偏离安全阈值，同时辅以一套事先制定的、能迅速应对突发性饮用水水质污染，缓解和减缓饮用水水源不安全对国民经济和社会可持续发展造成的冲击与影响，避免发生由于饮用水安全问题引起大的政治、经济和生态灾变，使人民生活质量、国民经济和社会发展、水生态系统不受破坏或受影响最小是十分必要和紧迫的。

因此，有必要构建地表水饮用水水源地生物在线预警技术规范，填补了我国目前地表水饮用水水源地生物毒性测试、评价与实时预警体系无标准方法的空白，不仅能够及时、全面地掌握集中式饮用水水源地水质污染状况，快速启动预警机制，更能有效降低居民饮用水安全风险，后续可作为普适性标准在全省乃至全国范围推广。

二、工作简况

2.1 任务来源

2018年12月，江苏省环境监测中心承担了江苏省环保科研课题项目“集中式饮用水源地环境安全监测评估及预警技术研究（2018002）”，根据课题合同要求制定并发布饮用水水源地生物预警技术规范。

2.2 起草单位及主要起草人情况简介及分工

本规范的承担单位为江苏省环境监测中心，参加单位为清华大学、无锡中科水质有限公司、中国科学院生态环境研究中心（表1和表2）。

表1 本标准起草单位

序号	单位名称	分工
1	江苏省环境监测中心	总体负责，主持方案设计论证，总体关键技术研发及标准起草
2	清华大学	参与实验方案设计、条件实验论证和标准起草
3	无锡中科水质环境技术有限公司	参与条件实验和标准起草
4	中国科学院生态环境研究中心	参与条件实验和标准起草

表2 本标准起草人员分工

序号	姓名	单位	职务/职称	研究方向
1	李娣	江苏省环境监测中心	正高级工程师	水环境监测与评价
2	单阳	江苏省环境监测中心	中心主任	环境管理

3	胡冠九	江苏省太湖水质监测中心站/江苏省 环境监测中心	站长/中心党委副书记、正高级工程师	水环境监测与评价
4	高占啟	江苏省环境监测中心	高级工程师	水环境监测与评价
5	毕凤稚	江苏省环境监测中心	工程师	水环境监测与评价
6	王荟	江苏省环境监测中心	正高级工程师	水环境监测与评价
7	姜晟	江苏省环境监测中心	高级工程师	生态学
8	周小红	清华大学	副教授	环境毒理
9	刘勇	无锡中科水质环境技术有限公司	总经理	生物毒理学研发与集成
10	饶凯锋	中国科学院生态环境研究中心	教授	生态学

2.3 主要工作过程

（1）成立标准修订编制组

2018 年 12 月，江苏省环境监测中心根据合同要求，成立技术规范编制组（以下简称“编制组”），成员以多年从事环境监测及环境科研工作的高级工程师为主。

（2）资料收集和国内外文献/标准研究

2018 年 12 月-2019 年 2 月，标准编制组成员开展相关资料和标准的调查工作，包括国内外相关标准的调研，查阅环境因子对常见的生物急性毒性的效应关系及国内外对生物毒性阈值的设定。在广泛阅读、认真研究相关资料的基础上，结合实际工作中遇到的问题和总结的相关经验，确定以发光细菌和鱼作物受试生物，制订了工作方案。

（3）方法研究、编写标准征求意见稿和编制说明

2019 年 3 月-2020 年 2 月，开展饮用水水源地发光细菌法毒性监测试验条件优化，进行鱼法在线生物预警监测技术和设备的研究与验证试验，研究鱼法行为模式与水质特征分析。

2020 年 3 月-2020 年 5 月，开展在线发光细菌和鱼法设备集成和水质指标预警阈值研究。

2020 年 6 月-2020 年 12 月，在典型地表水饮用水水源地开展鱼菌合一多层级生物预警系统设备安装和试运行。

2021 年 1 月-2022 年 5 月，编写《水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范》初稿和编制说明，并提交了江苏省环境科学学会团体标准立项申请。

2022 年 6 月 30 日江苏省环境科学学会组织召开了团体标准《地表水饮用水水源地鱼菌合一多层级生物在线预警技术规范》立项审查会。专家组审查了相关材料，听取了起草单位的汇报，经质询和讨论，专家组一致认为本文件提供的地表水综合毒性鱼菌生物预警在线监测技术规范，符合当前地表水环境生物预警监测的实际需求，同时也顺应了国家关于水质预警、生物毒性监测等政策要求。专家组一致同意立项。江苏省环境科学学会于 2022 年 7 月 8 日批准立项（苏环学[2022]31 号）。2022 年 7 月-2023 年 4 月，根据立项审查会专家意见，修改标准题目，增加相关标准信息，以技术优先，系统辅助的框架，形成标准初稿。

2023 年 4 月 18 日，江苏省环境科学学会组织召开了团体标准初审会。

2023 年 4 月 18 日-2023 年 5 月，根据初审会专家意见修改形成《水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范》（征求意见稿）。

三、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

3.1 标准编制原则

本标准依据《国家环境保护标准制修订工作管理办法》（国环规科技〔2017〕1号）、《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）和《国家环
境污染物监测方法标准制修订工作暂行要求》（环科函〔2009〕10号）要求，以
国内外最新的标准方法和相关文献研究成果为编制基础。同时考虑到国内现有自
动监测机构的运行水平、管理水平、经济条件等实际情况，确保所编制标准能够
在骆马湖饮用水源地应用，逐步向江苏省乃至全国推广应用。标准制订过程中主
要遵循以下原则：

（1）本标准力求与我国现行颁布现行相关监测标准相匹配，满足骆马湖饮用
水源地相关生态环境保护管理标准和工作要求。

（2）方法准确可靠，以 ISO 11348-3-2007 标准为主要编制依据，同时参照
《水质 发光菌急性毒性测试》（GB/15441-1995）方法对试验条件参数进行研究
验证，相关方法性能满足生态环境监测预警技术及管理要求。

（3）方法具有普遍适用性，易于推广使用。

3.2 标准制订的技术路线

本标准编制的技术路线，结合标准的各程序步骤，从资料到标准建立，综合
评价方法要素选择和建立，按照图 1，进行具体项目和标准限值及评价方法的确定。

标准制订以后预计在国内具有较好的推广前景，所使用的仪器设备及器具均
为成熟的在线监测设备，本试验中专用的发光菌在线监测设备或鱼在线监测设备
可以根据具体要求直接购买或定制，在试验操作等技术环节方面，只要进行针对
性的培训便可以开展饮用水源地水质急性毒性的监测预警工作。

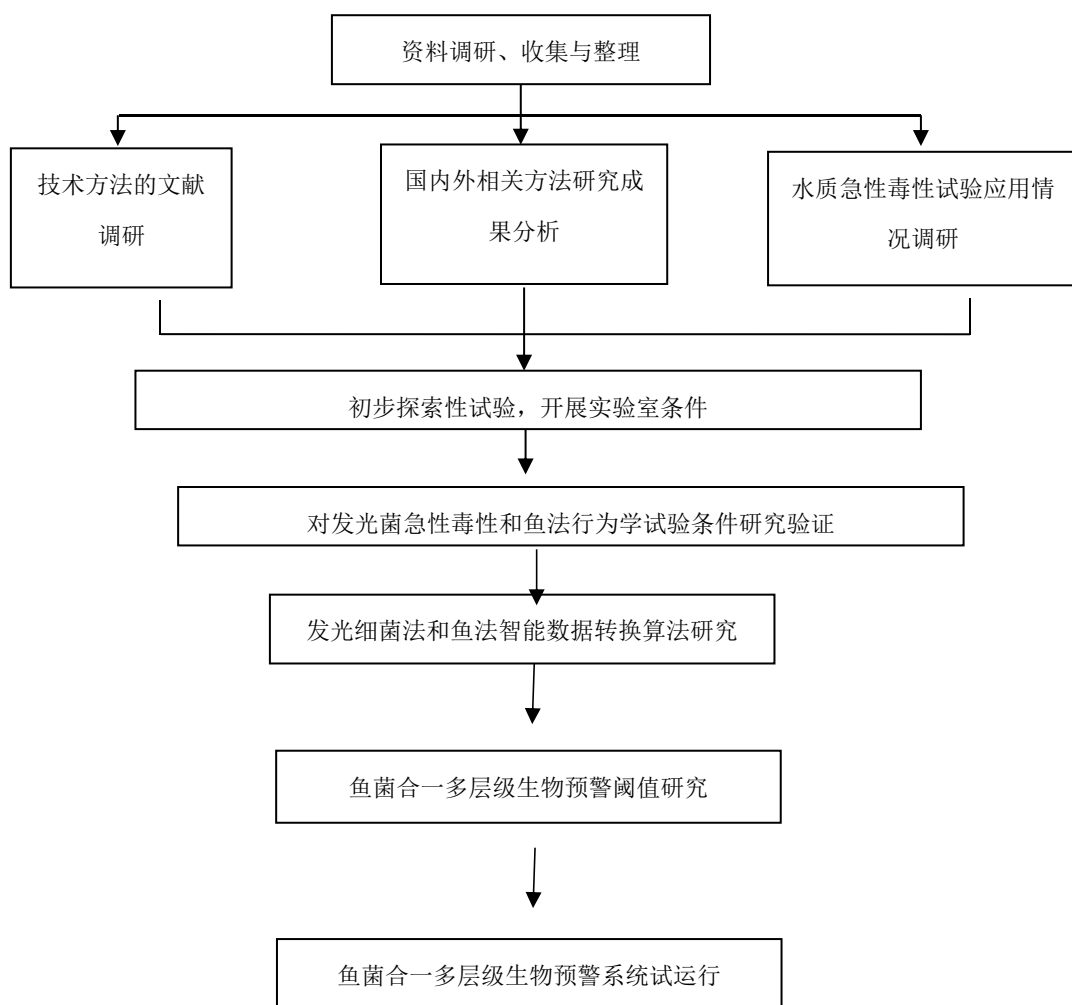


图 1 标准编制技术路线图

3.3 确定标准主要内容的依据

3.3.1 方法研究的目标

3.3.1.1 本方法适用范围

本文件规定了地表水饮用水水源地生物在线预警阈值，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生物预警。

3.3.1.2 本方法标准拟解决的重要问题

本方法测定的是水质的毒性综合效应，测试目标为非单一物质，测定结果以鱼和发光细菌的综合水质指数来表征受试水样的毒性。

本方法的性能也适宜用有效性来衡量，以阴性对照水样和阳性对照水样进行质量控制，对照阴性水样水质综合指数（<75，>0），阳性对照水样水质综合指数≥75。

3.3.2 术语和定义

3.3.2.1 鱼法水质指数 water quality index based on fishes

鱼法水质指数用来量化表征青鳉鱼行为变化，并反映水质毒性变化情况。

本标准通过模型算法综合表征青鳉鱼行为传感器中受试鱼行为强度变化，以期反映水质综合毒性变化情况。鱼法单元每分钟对传感器中受试鱼行为强度进行判断一次，并采集模式鱼传感器行为信号，将行为信号输入到算法模型中（用到的模型有环境胁迫阈值模型、3sigma 准则模型、权重概率模型），分析判断行为信号中异常数据的幅度值和数量，并输出鱼法水质指数。

$$f = \frac{\sum_{i=1}^M (v_i - \mu) > 3\sigma}{\sum_{j=1}^N j} \times 100$$

其中f为水质状态实时量化指数； v_i 为指定计算周期内的信号幅值； μ 为前t分钟内的均值； σ 为前t分钟内的方差；N为计算周期，比如以一分钟为例，则N=1200。

3.3.2.2 发光细菌法水质指数 water quality index based on luminescent bacteria

发光细菌法用来量化表征发光细菌相对发光率，并反映水质毒性变化情况。

本标准基于鱼法水质指数，结合水体基质中仅有溶解氧与发光菌抑制率有弱的相关性，其他基质参数于发光菌抑制率几乎没有相关性，且各位点水样大部分发光菌抑制率在30%以下，考虑到《水质 水样对费氏弧菌发光抑制作用的测定（发光细菌试验）》（ISO 11348-3-2007）中明确急性毒性最低无观察效应相对抑光率为20%，将相对发光率为80%–140%之间的值对应量化到0–75之间。

$$f = \frac{|RLI-100|}{40} \times 75$$

将相对发光度 0-80 或 140-220 之间的值对应量化到 75-100 之间：

$$f = \frac{|RLI-80|}{80} \times 25 + 75$$

水质安全的情况下，量化水质指数会较小，水质污染状态的时候会超出水质指数预警阈值 75，但不会超过 100。

3.3.2.3 鱼菌合一综合水质指数 water quality index based on fishes and luminescent bacteria

根据综合水质指数=鱼法水质指数×weight1+菌法水质指数×weight2 计算公式，得到综合水质指数。

本标准依据常规应用场景下，水体并无明显的污染特征，故weight1和weight2默认为 0.5，但在有特征污染物的风险下，可适时调整相应权重。如有机物风险较大时，可将 weight1 的权重调高。如重金属风险较大时，可将 weight2 的权重调高。使多层级系统更符合实际风险的有效预警和防控。

3.3.2.5 生物预警系统 biological early warning system

指完成地表水水质生物预警监测，一般由站房、采配水、控制、数据传输等全部或数个单元组成的自动生物预警系统。

本标准依据《地表水自动监测技术规范（试行）》（HJ 915—2017）中地表水水质自动监测系统的定义“由水站和数据平台组成的自动监测系统”——本标准中，生物预警系统指鱼法和菌法两种方法集成后的采水、控制、数据传输等组成的自动预警系统。

3.3.3 总则

水质毒性鱼菌合一在线预警是水质评价自动化系统的一个应用，其系统架构、采配水单元、控制单元、检测单元、数据采集和传输单元和相关技术符合地表水

自动监测系统要求。鱼菌合一多层级生物在线预警能为实时评估饮用水水源地水质安全、应对突发性水污染事件等提供技术支撑。

依据《地表水自动监测技术规范（试行）》（HJ 915—2017）中“地表水水质自动监测系统建设”的总体要求“主要包括：站址选择、站房建设、水站各单元和数据平台的建设。”——本标准中，总则指水质毒性鱼菌合一在线系统的总体要求。

3.3.4 试剂和材料

3.3.4.1 青鳉鱼（*Oryzias latipes*）：采用基于毒理学规范驯化养殖的标准模式青鳉鱼（真骨鱼总目，青鳉科）作为受试鱼类，但应用不同标准模式鱼试验和运行条件需做相应的改变。

对受试鱼的质量和体积进行记录。整个测试及运行期间一般不喂食，如有需要可采取间歇式定期喂食方式。

青鳉鱼隶属鳉科，个体小，全长 2.5~5.0cm，可以耐受低溶氧和较宽的水温和盐度范围。由于其生物学背景研究非常充分，自从 Denny 对青鳉饲养管理与实验操作进行了规范化后（Denny J. S., Guidelines for the culture of fathead minnows for use in toxicity tests. Environmental Research Laboratory, Duluth Minn., 1987, Epa/600/3-87/001），青鳉作为实验动物被多数世界组织认可，并于 20 世纪 80 年代被国际标准化组织列为毒性实验受试种之一。21 世纪初期美国环境保护局列为内分泌干扰效应受试鱼类实验动物之一。由于其生物学背景研究非常充分，因此近几十年来全世界大约有 200 多家研究机构使用青鳉作为实验动物进行研究。目前，青鳉鱼的行为变化已经作为一个重要指标已经被广泛地应用到水质监测中。

3.3.4.3 发光细菌：费歇尔弧菌冻干粉或者明亮发光杆菌冻干粉。

依据《水质 急性毒性的测定 发光细菌法》（GB/T 15441-1995）。

3.3.4.4 纯水：蒸馏水或同等纯度的水。

3.3.4.5 锌标准工作液：用毒物标准样品及纯水稀释定容配制。本标准使用分析纯级以上的溴氰菊酯配制标准储备液，配制方法按 GB/T 13267 中的规定。

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。

3.3.4.6 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。

3.3.5 仪器和设备

鱼菌合一多层级生物在线预警监测仪应包括信号采集单元、信号分析单元、控制单元、水质生物综合毒性预警单元和远程通信传输等单元。

依据《地表水自动监测技术规范（试行）》（HJ 15-2017）系统建设单元，本标准分信号采集单元、信号分析单元、控制单元、水质生物综合毒性预警单元和远程通信传输等 5 个主要单元。

3.3.5.1 信号采集单元

应包括生物传感器域和信号采集设备，信号采集内容应包括检测时间、检测结果等，可根据需要增加电源故障、设备维护记录、仪器运行状态、常规水质参数等数据采集。

本标准中根据受试物质信号传输特征，设置检测时间和检测结果，并在此基础上可增加相应的功能信号集成采集。

3.3.5.2 信号分析单元

具有对采集到的信号进行实时分析的功能。

本标准根据项目研究检测结果的输出频率进行实时的信号分析。

3.3.5.3控制单元

具有对仪器的执行机构进行控制的功能。

3.3.5.4水质生物综合毒性预警单元

具有比较测定值与阈值或识别波动值的功能及预警功能。

本标准根据研究的阈值与测定值比对与识别，构建水质毒性鱼法和菌法预警单元。针对水质预警现场情况下鱼类行为信号采集的特殊性，研发生物行为预警传感器，使其水环境条件下能检测鱼类微弱行为的连续信号，并结合生物空白对照排除水环境物理干扰，精准提取到的鱼类行为实时信号，为算法模型解析的准确度提供实时数据。研究特征污染物暴露时采集频率对特征反应的影响，优化信号检测频率以适应不同频率鱼类行为信号的采集、显示和分析。为避免鱼类个体特征差异可能引起的误判，设计4个鱼类行为预警传感器通道，同时采集各通道的鱼类行为信号进行平行和对照检测。开展鱼类行为预警传感器信号采集和行为信号处理电路低功耗抗干扰设计研究，实现即插即用，易于更换和维护。研制鱼类行为信号采集获取模块的自保护装置，以抑制自然环境或人为因素而产生的信号干扰。

3.3.5.5远程通信传输单元

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。

本标准中远程通信传输根据目前通用的有线或无线方式设置。

3.3.6 分析测试

3.3.6.1水质毒性鱼法在线监测方法

技术原理：以受试鱼类作为指示生物，利用电信号传感和模式识别技术，通过水生生物在传感器电场中游动改变传感器电流信号，结合信号处理技术，连续实时获得生物行为变化情况。

监测指标：行为强度（用来量化表征生物行为传感器法中的生物行为，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）、水质指数（用来量化表征生物行为传感器法中的模式生物行为，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，以水质指数表征反映水质综合毒性变化情况）、综合毒性浓度；结合行为模式与水质特征之间的关联关系分析，采用鱼法水质指数分析水质综合毒性。

连接电源，按照水质毒性鱼法在线监测仪说明书规定的预热时间运行，使各部分功能及显示记录单元稳定。

零点核查：仪器稳定运行后，生物行为传感器通入被测水样，不放置标准青鳉鱼，启动软件，待设备稳定运行10分钟后，开启设备对鱼类行为采集模块的零点漂移核查功能。

标样核查：仪器稳定运行后，导入10 TU 三氯酚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，水质状态为水质污染。水质指数 ≥ 75 ，报警响应时间 < 0.2 h。

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）。

受试鱼更换频率：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鳉鱼非正常死亡，需及时留样，清洗传感器并消毒，传感器内鱼全部更换。传感器内的青鳉鱼不可再用于水质监测。

平均无故障连续运行时间（MTBF）：采用实际水样连续运行2个月，记录总运行时间（h）和故障次数（次），计算平均无故障连续运行时间（h）。

上述方法根据鱼法在线生物预警监测技术和设备研究，将受试鱼的行为学变化转换为电信号输出，结合受试鱼应每 1 个月进行更换一次，如遇鱼死亡，则即可更换。

3.3.6.2 水质毒性发光细菌在线监测方法

检测原理：发光细菌毒性测试方法的原理：基于发光细菌相对发光度与水样毒性组分总浓度呈显著负相关（ $P \leq 0.05$ ），因而可通过仪器待测样品的相对发光度，以此表示其毒性水平。上述步骤由在线监测仪自动控制完成从水样导入至结果计算全过程，从而实现生物毒性监测的自动化。

连接电源，按照水质毒性发光细菌法在线监测仪说明书规定的预热时间运行，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

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+} ）溶液测试结果作为标样核查结果。

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；

X_i—— 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。

依据 ISO 11348-3-2007《水质 水样对费氏弧菌发光抑制作用的测定(发光细菌试验)》(国际标准)、《水质 急性毒性的测定 发光细菌法》(GB/T 15441-1995)、

《污水生物毒性监测技术规程发光细菌急性毒性测试-费歇尔弧菌法》（海环字〔2015〕29号）、《生物毒性水质自动在线监测仪技术要求》（DB44/T1946-2016），本标准对发光菌设备的零点核查、标样核查、重复性等性能指标进行了规定。

3.3.7 毒性预警阈值

3.3.7.1 水质毒性鱼法预警阈值

通过研究农药、重金属、工业化学品、新型污染物等不同类型有毒污染物的暴露下模式青鳉鱼变化规律，探索各类型风险有毒污染物在不同浓度暴露下毒性浓度与青鳉鱼的量效关系，在此基础上构建一整套阈值模型和数据库作为水质综合毒性检测数据库。对采集到的青鳉鱼信号进行实时分析，分别研究不同类型污染物与受试生物行为变化之间的关系，得出青鳉鱼对不同污染物暴露下的行为响应的变化规律和环境胁迫域模型、不同浓度下青鳉鱼行为响应时间以及不同暴露时间青鳉鱼行为响应的水质综合毒性大小。

在生物行为在线监测和分析基础上，构建青鳉鱼行为变化的逐级胁迫阈模型，为结合行为变化对水质状况提供分析依据。

以污染物对青鳉鱼的急性毒性48小时半数致死剂量(48h-LC50)作为实验中污染物的毒性单位(TU)。TU可作为不同浓度污染物导致环境胁迫的基本毒性评估标准，用于综合毒性生物检测分析。实验采用污染物的48小时流水暴露，设置4-5组暴露浓度梯度(0.1TU-10TU)。青鳉鱼放入4小时后，加入有毒污染物提取青鳉鱼在有毒污染物暴露过程中的行为响应数据。

（1）空白情况下青鳉鱼行为变化规律

对照组受试生物(青鳉鱼)的行为强度变化曲线，如下所示。结果表明受试生物(青鳉鱼)的行为强度变化与光照周期相关：暴露时间15h和40h为黑暗阶段，青鳉鱼行为强度较低；暴露时间5 h和25 h行为强度变化的产生原因可能源于受试生物行为变化的内在节律，即生物钟现象(biological clock)。

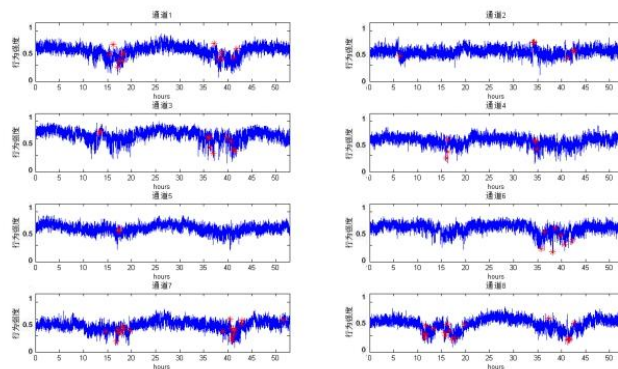


图2 对照组受试生物在 48 h 内的综合行为强度曲线

(2) 三氯酚暴露下青鳉鱼行为变化规律

三氯酚是化工生产中的重要原料，可用作杀菌剂、防腐剂、脱叶剂，在有机合成、造纸和印染行业中得到使用广泛，酚类化合物为细胞原浆毒物，是环境中主要的有机污染物之一，属高毒物质。

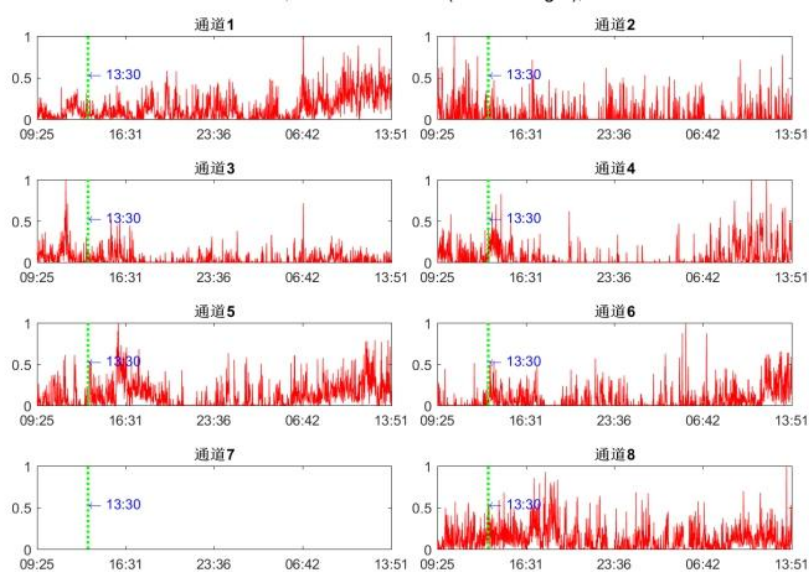


图3 0.05TU 三氯酚暴露下青鳉鱼行为反应

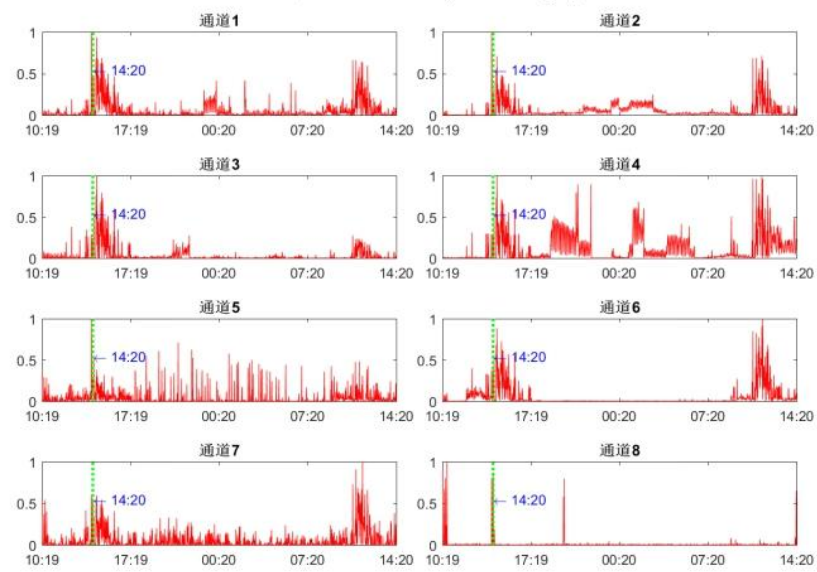


图 4 0.5TU 三氯酚暴露下青鳉鱼行为反应

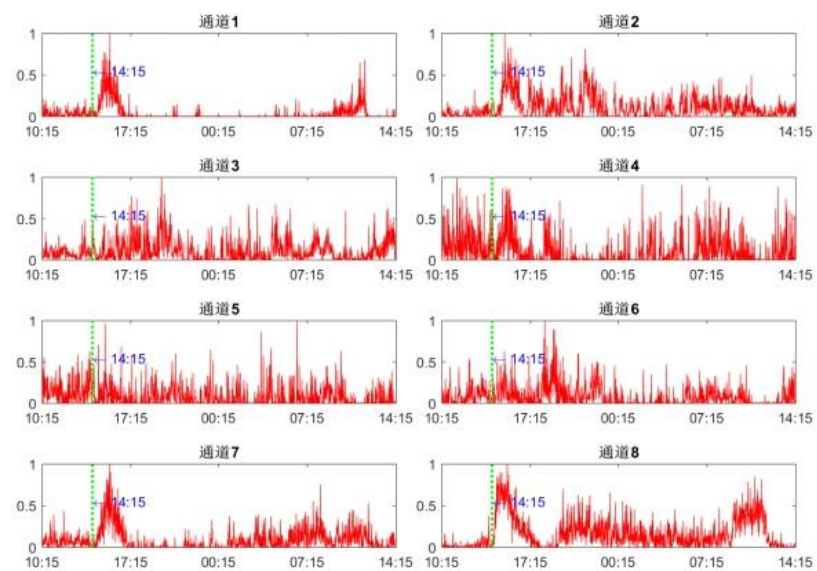


图 5 1TU 三氯酚暴露下青鳉鱼行为反应

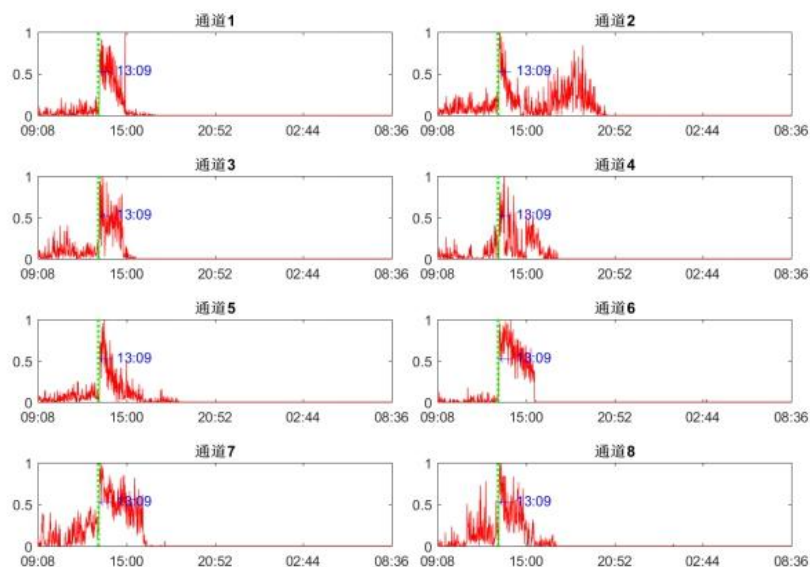


图6 10TU 三氯酚暴露下青鳉鱼行为反应

如图3-图6所示，青鳉鱼行为强度变化与三氯酚之间表现出明显剂量—效应关系（绿线为加药点）。设备在无毒状态下运行4小时加入有毒污染物后，青鳉鱼行为在加药之后出现明显的行为刺激，高浓度组暴露实验尤为明显。

（3）除草剂暴露下青鳉鱼行为变化规律

阿特拉津会使鱼体内的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等无机离子浓度显著下降，从而导致其重要的生理功能发生紊乱。

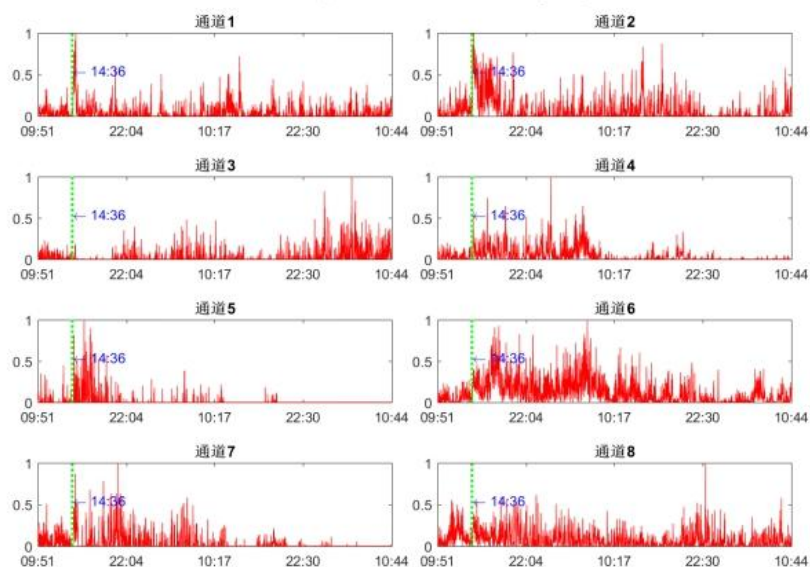


图7 1TU 阿特拉津暴露下青鳉鱼的行为响应曲线

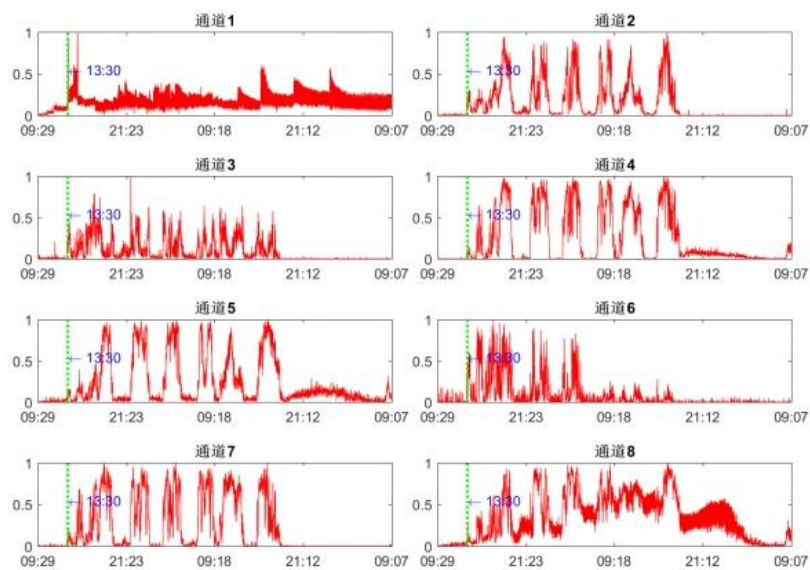


图 8 2TU 阿特拉津暴露下青鳉鱼的行为响应曲线

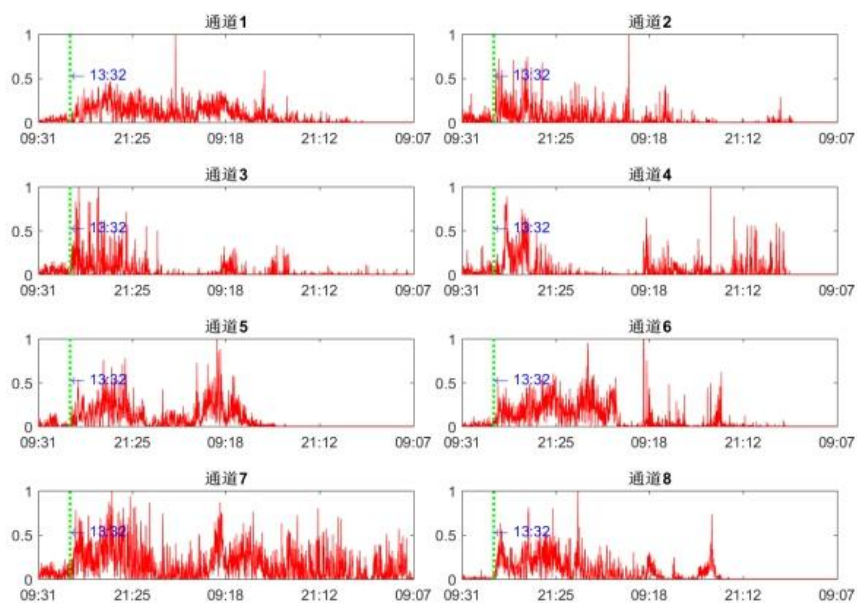


图 9 3TU 阿特拉津暴露下青鳉鱼的行为响应曲线

如图 6-图 9 所示，青鳉鱼行为强度变化与除草剂之间表现出明显的剂量—效应关系（绿线为加药点）。青鳉鱼行为变化主要以调整为主，并且其调整过程基本符合对照组内青鳉鱼的行为过程，具有明显内在节律性。这个浓度组出现行为调解过程的原因可能是低浓度的环境污染物导致细胞和器官损伤形成环境胁迫并未超过受试生物启动行为调节机制的阈值，以通过行为调解对抗环境胁迫对自

己的损伤。

水质毒性鱼法预警单元采用青鲮鱼作为指示生物。采用生物体遭遇有毒物质时会产生主动回避行为来进行水质综合毒性的检测。

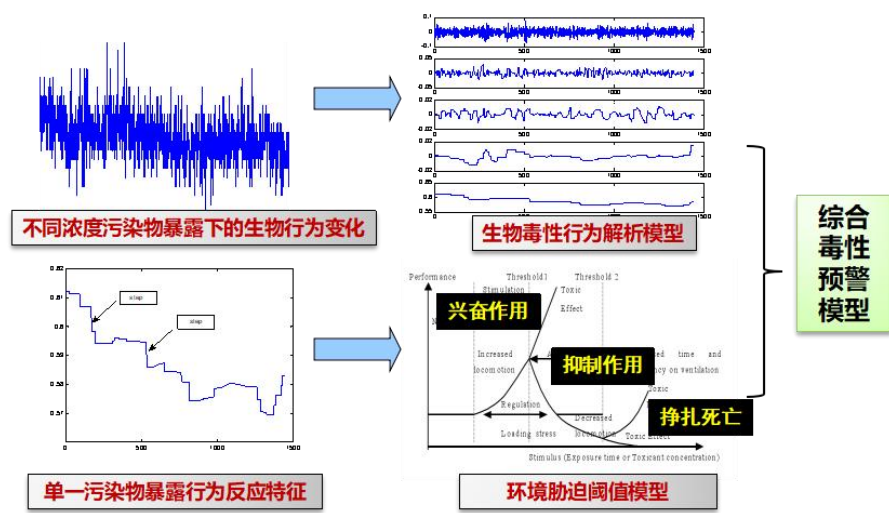


图 10 构建综合毒性预警算法技术路线

通过连续的低压高频电信号和敏感的生物行为传感器能够连续监测到青鲮鱼在遭遇水污染时自发产生的回避行为响应。大量的实验研究表明，不管是低浓度或高浓度污染物，还是单一抑或混合污染物，都符合环境胁迫阈值模型。主要表现在受毒后，水生生物产生短暂的兴奋作用，达到一个行为变化临界点后产生抑制作用，低浓度污染物可能还会出现挣扎死亡的情况。也就是说水生生物的行为变化与水体污染物之间存在良好地剂量-反应关系，从获取生物行为信号至最终毒性大小的判断计算，需要构建专属的算法模型来完成，模型算法构建的技术路线如图 10 所示。该模型及模型中的特征算法主要检测异常行为信号的变化和响应，当发现异常行为信号后能够准确及时的解析判断，并及时有效发出报警。

在指示生物选择驯化、行为信号采集提取和不同类型有毒污染物浓度与生物行为的量效关系研究的基础上，深入开展生物综合毒性基础模型算法的优化和专属游程算法的研发，从 EMD 信号处理、行为小波分析、传统统计学模型、平均模型算法的优化到游程算法的研发，构建与优化了水质毒性鱼法预警单元基础模型算法。

为了构建水质毒性鱼法预警单元基础模型算法，在实验过程中选择行为变化明显的高浓度三氯酚为观测目标，对多通道行为进行提取的同时，目测生物在受

毒后的行为变化，如图 123 所示。通过观察发现，在受毒后很短的时间内生物较平时的正常行为有较为明显的变化，这个变化符合如图 122 中提出的环境胁迫阈值模型。

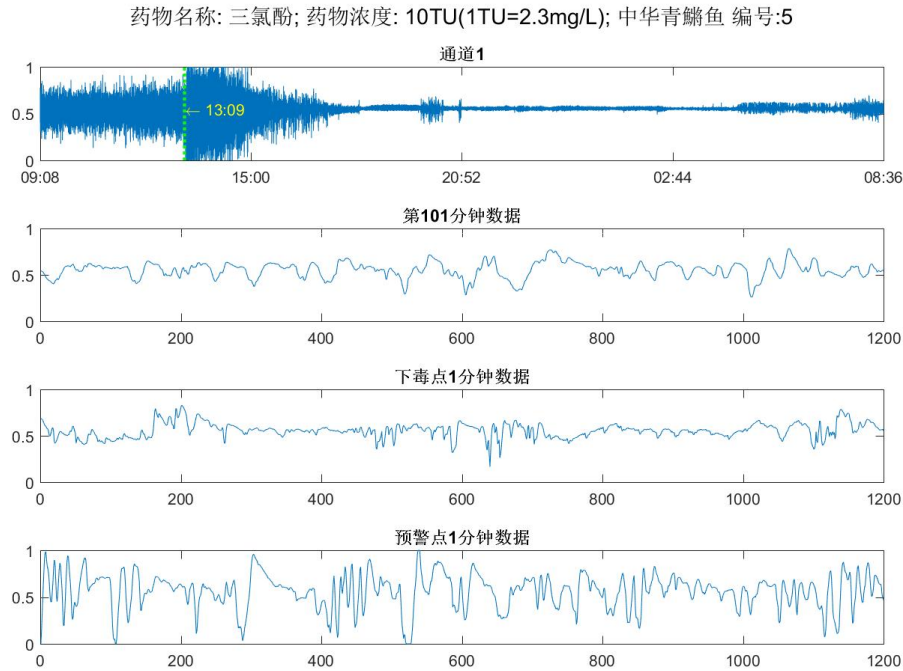


图 11 受毒前后生物行为的变化（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

根据图 11，使用 10TU 的三氯酚作为有毒物污染物，其中第 101 分钟为随机选择的一个时间段（实际采集数据为 1 分钟 1200 个点），下毒点为 13:09，该时间段内生物行为变化如图 9 中的第三个子图所示，第四个子图是我们认为报警的最佳点（通常认为是异常行为发生后，上升沿并且行为变化超过正常统计量的 3σ ）所对应的生物行为曲线。从图中可以清晰地看出报警点的行为曲线中不管是振幅还是频率与正常行为都有显著的差别。基于该模型采用了游程算法，并对其进行优化完善，以适应不同污染物及同种污染物不同浓度的情况。游程算法对生物的行为进行有效解析，可以甄别生物钟行为及降低误报的可能性。算法主要包括：同化不同生物体造成的行为信号的差异；剔除设备或环境造成的异常信号；游程特征的提取；特征信号的建模处理；报警点的选择及毒性浓度的计算，具体的算法流程如图 12 所示。

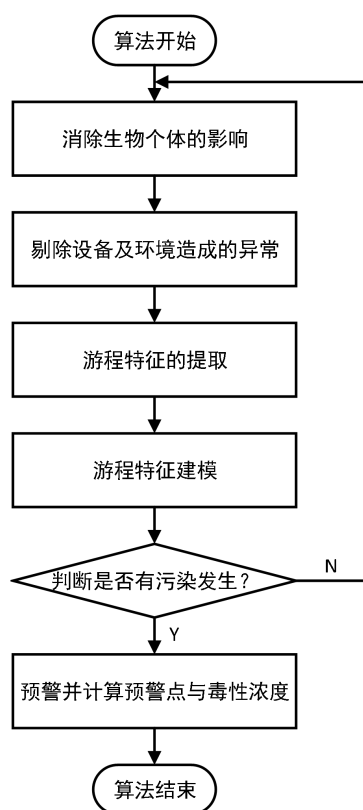


图 12 鱼法综合毒性检测游程算法流程

① 同化不同生物体造成的行为信号的差异

生物个性的差异性会导致采集到的行为强度相差很大，甚至完全不同。这会
给算法分析带来极大的困难，因此，在建立模型之前需要消除个体差异的影响。
一台设备在进行信号采集时，至少使用了 9 个生物个体，按照一分钟来计数，平
行通道中的信号个数为 1200，在短时间轴上，将每分钟数据加和（等价于每个通
道中 3 个生物体的行为曲线融合）然后进行归一化，按照此方法可以消除个体差
异而引起的行为突变。

② 剔除设备或环境造成的异常信号

采集设备会受到 50Hz 工频信号的影响，同时环境对信号的采集也有很大的影
响，主要表现在正常行为下，突然产生比方差大很多的数据。因为信号具有叠加
性，所以算法收集到的信号中往往混有噪声信号，去除这些噪声信号是必要的。
为此，在算法构建的时候，加入了先验知识，由 3 个平行通道的经验数据，计算
出正常行为下的数据参数，根据该参数判定是否有异常信号产生，如果有异常信
号，则利用信号的加性原理给予去除，为后续的特征提取提供有效地保障。

③游程特征的提取

在以 1 分钟为判断单元（游程算法可以调整报警间隔，默认值为 1 分钟）的时候，用一个参数来代表 1200 个数据点所表达的信息，即将数据从 1200 维降到 1 维，并且这 1 维数据不丢失行为变化的重要特征，这就是对游程特征的提取。具体的方法为：指定前 n 分钟的数据为某个具体平行通道的经验值，然后利用模式识别的方法对 1 分钟的 1200 个数据进行解析获得其综合行为信号，在该综合行为信号的基础上减去经验值，根据高斯分布的假设，计算高斯分布的最大值点，保留该值作为游程的特征。

④ 特征信号的建模处理

在连续分析中，使用上述中的方法，对每一个平行通道的每一分钟进行特征提取并保留到计算队列（该队列默认存储 120 个点，对于每分钟计算一次，队列中总共保存了 120 分钟的历史数据，根据长期的实验结果分析，0.1TU 浓度下的污染物可以在 2 个小时内检测到）中，算法按照每分钟进行判断。每个计算时刻到来时，对整个队列中的数据进行 AFD 平滑，然后根据阈值判断规则，超过指定报警阈值的便认为是有污染事件发生，否则认为处于水质安全状态。

⑤ 报警警点的选择及毒性浓度的计算

在模型的正确预测下，判定为水质污染，则将该时刻定为报警警点，并启动毒性浓度计算算法。

为了验证游程算法的有效性，分别对三氯酚、氯化铬、阿特拉津这三种污染物的不同浓度进行了实验验证。为了能够有效说明验证的结果，图 13-图 18 中都给出了一分钟平均的中间结果。

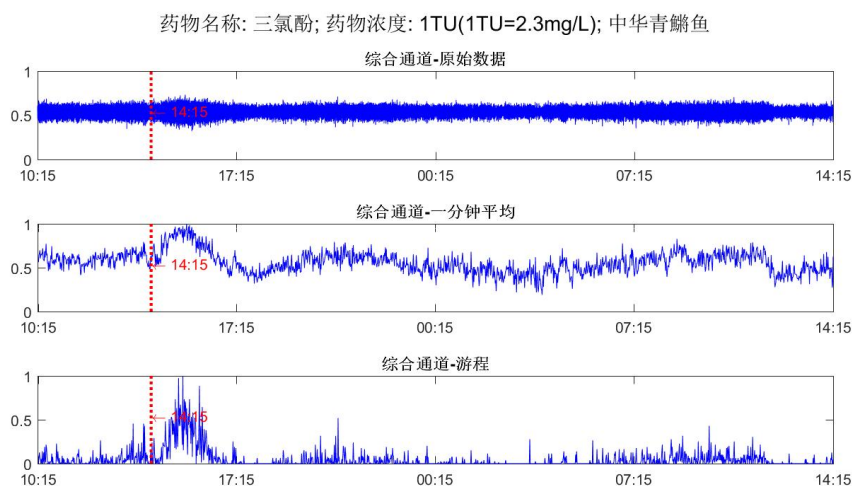


图 13 1TU 三氯酚暴露下青鲮鱼行为反应多通道加和综合分析（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

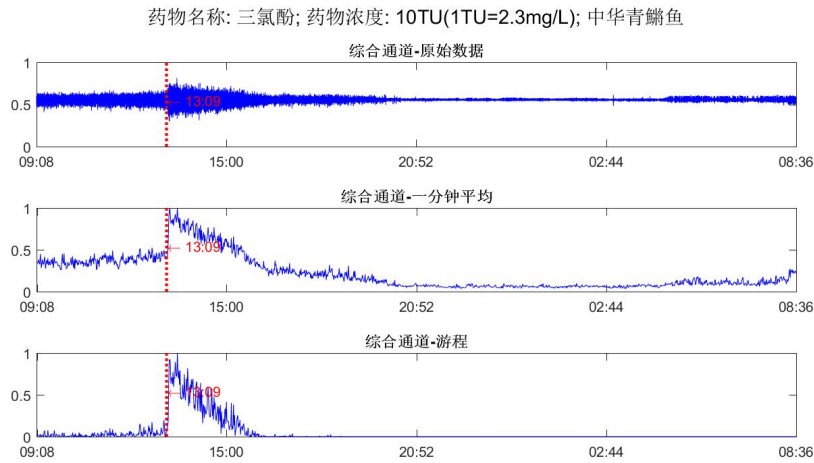


图 14 10TU 三氯酚暴露下青鲮鱼行为反应多通道加和综合分析（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

在阈值为 0.5 时，不管是 1TU 还是 10TU 的三氯酚，受毒点前游程算法都没有产生误报，同时浓度越高，正常行为强度被游程算法处理后会越低，异常信号会被凸显。图 125 在 0.5 阈值的情况下，从受毒开始到报警经历了 20 分钟左右，而图 12 中的 10TU 仅仅 6 分钟即可报警。另外 1TU 的三氯酚，在实验显示的时间轴内，生物并没有死亡，只是符合环境胁迫阈值模型，处于阈值 2 后的挣扎状态。而且，1TU 情况下经历了生物钟，即从 17 点左右开始进入，到早上 7 点多退出生物钟。处在生物钟模式下，生物的行为信号比白天时的要稍微低一些，恢复生物钟后，行为强度会与实验前差不多。按照传统的分析手段，很可能会将退出生物钟的阶段误判为是污染事件。而从图 125 中可以看出，游程的算法在 0.5 阈值的情况下，并不会误报。正常情况下，报警发生，并被确认后，需要及时更换模式生物，否则即使有机污染物中可以避免生物钟误报的问题，但也不能排除超低浓度下，生物恢复后游程波动较大而引起误判的问题。该现象在有机污染物中不明显，但在下面的重金属中就能变现出来了，如图 13 和图 14 所示。

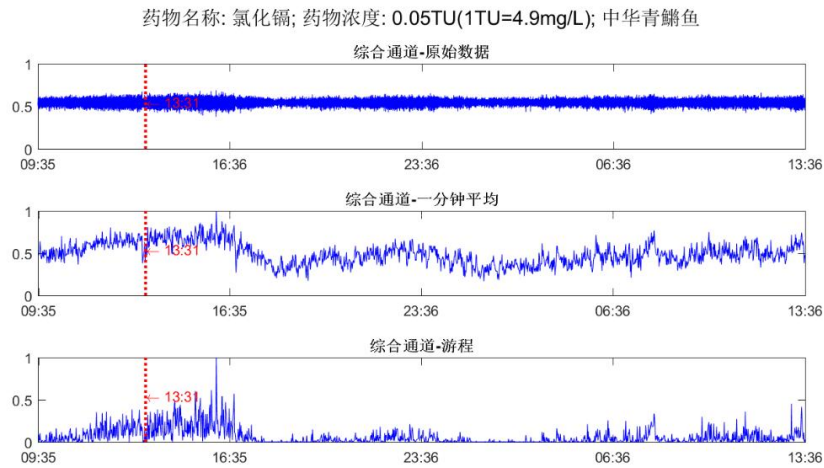


图 15 0.05TU 氯化镉暴露下青鳉鱼行为反应多通道加和综合分析（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

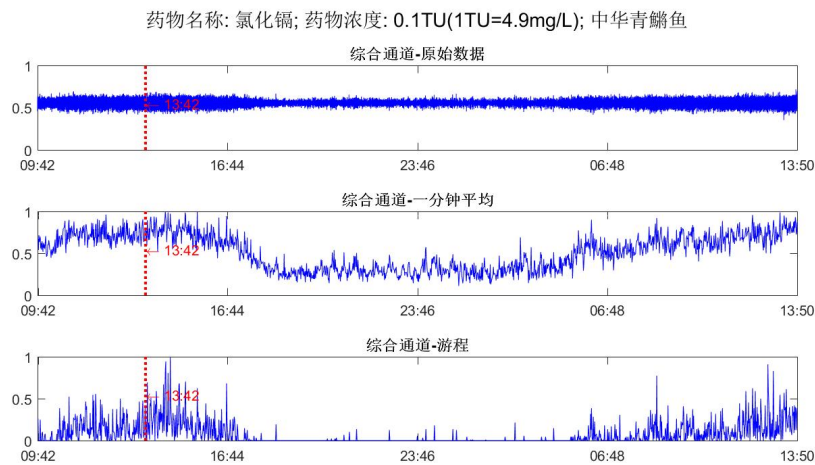


图 16 0.1TU 氯化镉暴露下青鳉鱼行为反应多通道加和综合分析（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

从图 15 和图 16 中能够看出，超低浓度情况下，游程算法也是能够在一定程度上有效工作的。超低浓度已经不能引起受试生物在特定的时间轴内死亡了，图 15 和图 16 中的受试生物都没有死亡，想比较之下图 15 中的受试生物在经历一段时间恢复后生物行为比未受毒前还明显，这一点可以从图 16 的第一个子图上看出来。这种情况下，游程算法会在第二天的时候产生报警，该报警和退出生物钟混到一起，很难区分出具体的原因，因此在第一次确认报警后，需及时更换受试生物。

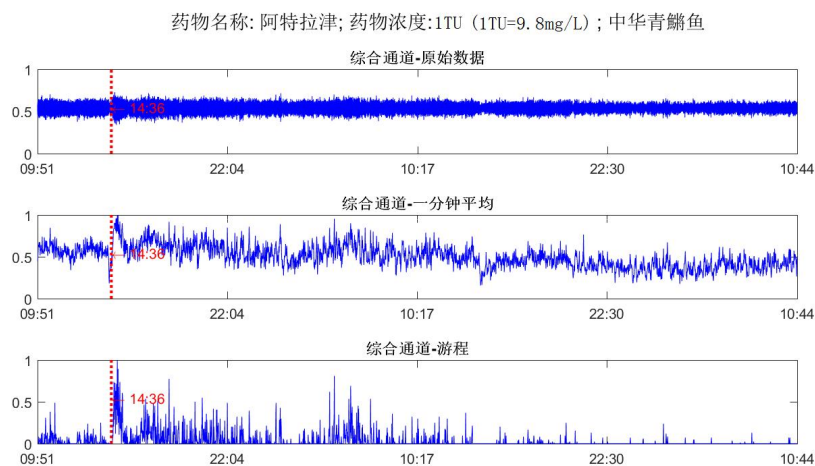


图 17 1TU 阿特拉津暴露下青鳉鱼行为反应多通道加和综合分析（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

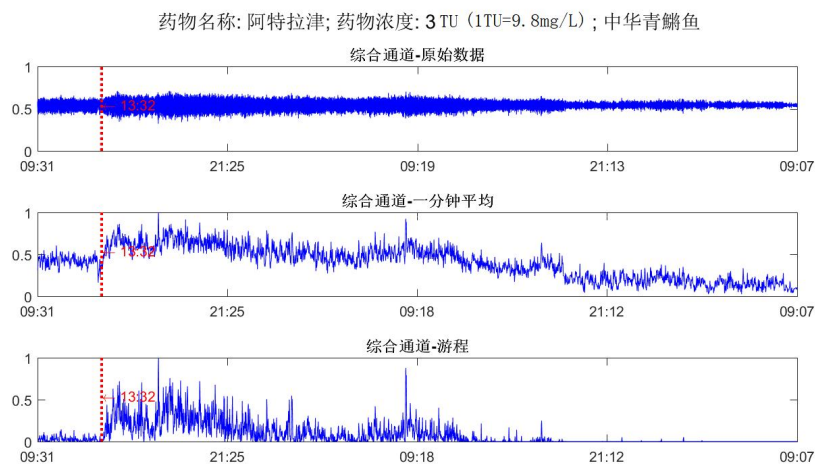


图 18 3TU 阿特拉津暴露下青鳉鱼行为反应多通道加和综合分析（纵坐标：行为强度；横坐标：暴露时间）

图 17 和图 18 显示，阿特拉津的两个不同浓度污染物进一步证实游程方法的有效性和时效性。从上述的对比实验看，游程算法都能在 2 个小时内对各种不同浓度的污染物进行有效报警。而传统的方法，比如类似发光菌的方法，在下降沿判断的话，可能对于低浓度或者超低浓度，报警时间会在受毒后 4 个小时左右，甚至可能不会报警。

基于水质毒性鱼法预警单元基础模型算法，结合生物行为专属游程算法，极大地提高了本技术对水质综合毒性检测的灵敏度，有效降低水质检测评估中出现

的假阳性、误报警概率，提高了设备运行的可靠性、稳定性。

针对水体发光细菌生物毒性检测，主要采用具有快速监测优势的发光微生物进行测定，并采用模块化的分析技术，样品制备单元、冷冻菌存贮单元、菌液复苏培养单元、清洗单元、恒温反应单元、光子检测单元等多模块独立设计，并结合全自动化的机械臂式取样针装置，实现多样品多稀释度的连续检测，特别设计菌体和试剂保存的两个冷冻/冷藏模块，设计空白基底扣除的双通道检测技术。

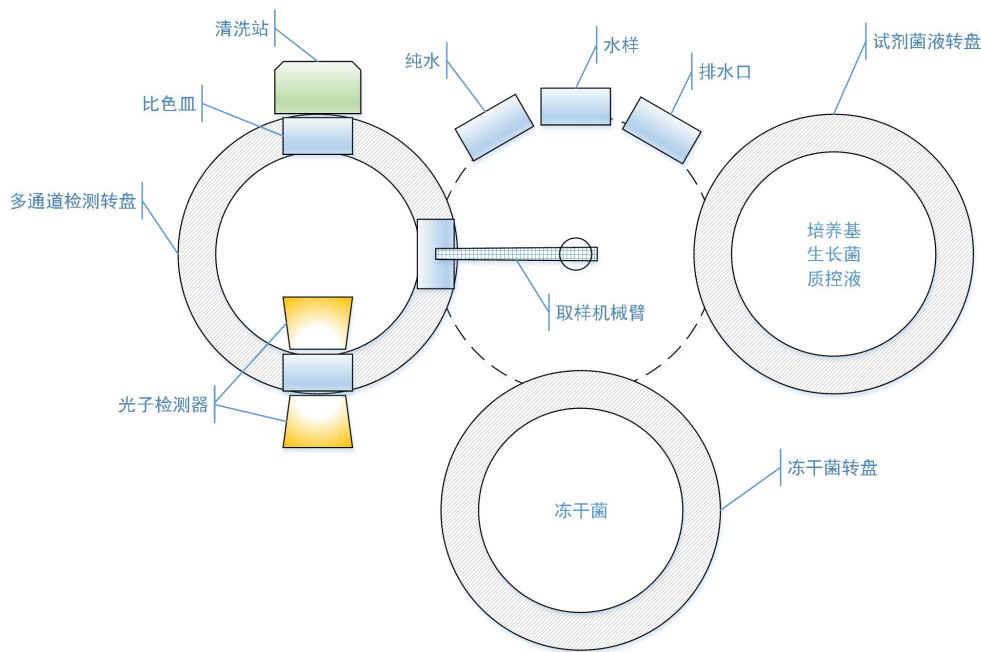


图 19 多通道自动检测装置

基于毒理学规范和取样机械臂技术结合开发的多通道水质分析平台，实现 2 个平行对照检测通道，可进行 2 个稀释度的平行样及参比样同步测量。其试剂菌转盘、多通道检测转盘等具有控温功能，控温范围依次为 4℃、23℃ 区间，控温精度达到 ±1℃ 以内。冻干菌转盘可容纳不低于 2 瓶菌粉。光子检测器单次检测时间小于 5 秒，信号检测频率 ≥ 1 次/分钟。

现有发光细菌法综合毒性分析仪只能保存复苏后菌液，菌液活性只能维持 5-7 天，试剂维护周期短。针对这一问题，本课题重点研究发光细菌冷藏保存与自动复苏技术，设计自动化流程。

冻干菌转盘可容纳不低于 2 瓶菌粉。将仪器试剂维护周期间隔延长至 10 天以上。

采用高性能光电倍增管，研制高精度微弱信号处理硬件方法，解决测量噪声大、动态范围窄的不足；应用高速的数字信号处理技术，提高荧光检测方法速度，以达到 5 秒/次的检测速率；设计多路检测器并行处理方法，实现 2 个样品的快速检测，控制总体检测时间（含通道切换）在 1 分钟以内。

基于运动控制、温度控制、荧光信号检测、多稀释度样品参比算法等关键技术成果，结合机械电子、自动化控制、光学检测、软件、微生物化学等工程技术，开发自动化控制流程，设计友好的数据交互界面、直观的数据评价展示形式，研制多通道发光细菌法水质生物毒性检测模块。

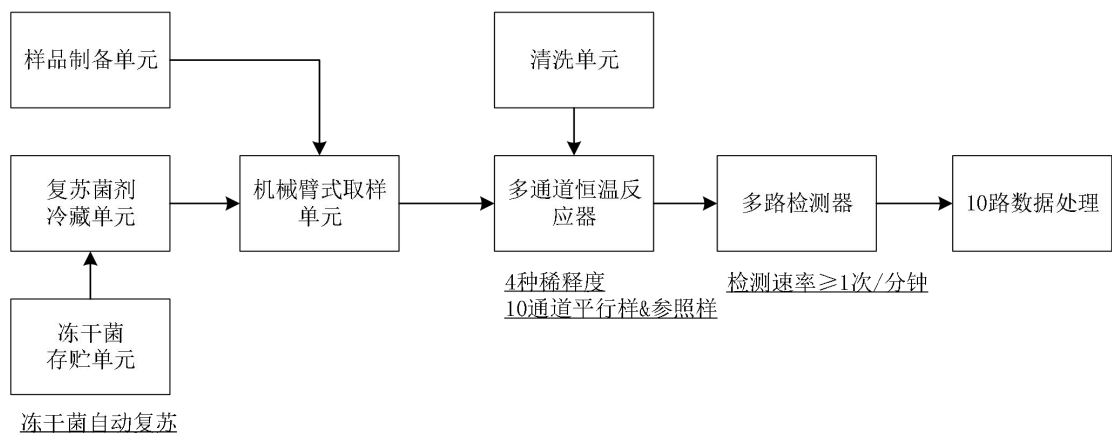


图 20 发光细菌法生物毒性检测模块集成开发路线

（1）暗计数

暗计数利用设备光电检测器在纯黑条件下直接测值，能体现设备计数器本底的稳定性，各验证实验室将设备设备打开预热 10 分钟后，利用设备单次测试模式，直接测试计数器在纯黑条件下重复 10 次。测量数据均 $<300\text{s}^{-1}$ ，表明设备光电计数器本底稳定，受外界干扰小。

表 3 暗计数测试数据表

设备暗计数										
重复数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
暗计数	0	0	0	53	0	0	0	0	68	0

(2) 阴性质控

采用农夫山泉作为阴性质控样，同时利用农夫山泉做参比，采用设备单次测试模式测试阴性质控样毒性值，共测试 6 组。阴性质控样测试数据在-2.22%~-1.41%，阴性质控样测试数据均 $\leq \pm 5\%$ 。

表 4 阴性质控样测试数据表

测试类型	阴性质控样测试数据表 (%)					
	1	2	3	4	5	6
阴性质控样	-1.94	-1.45	-1.77	-1.41	-2.22	-1.91

(3) 阳性质控和重复性

采用 2mg/L 七水硫酸锌作为阳性质控样，同时利用农夫山泉做参比，采用设备单次测试模式测试阳性质控样毒性，总共测试 6 组。计算相对标准偏差即为重复性。表 5 为国标模式阳性质控测试数据，阳性质控样测试数据均 $>60\%$ ，阳性质控相对标准偏差即重复性不超过 10%。

表 5 阳性质控样测试数据表

测试类型	阳性质控样测试数据表 (%)					
	1	2	3	4	5	6
阳性质控样	76.80	77.20	81.70	81.30	79.70	78.10
相对标准偏差	2.60					

(4) 水样测试

采用地表水，生活污水，工业废水，地下水样品，采用单次模式测试水样毒性值，每种样品平行测试 6 次，有毒水样分别计算不同样品的相对标准偏差，无毒水样计算极差。对于洁净无毒的地下水和地表水测试数据极差均 $\leq 15\%$ 。对于有毒的生活污水和工业废水测试数据相对偏差不超过 $\pm 15\%$ 。

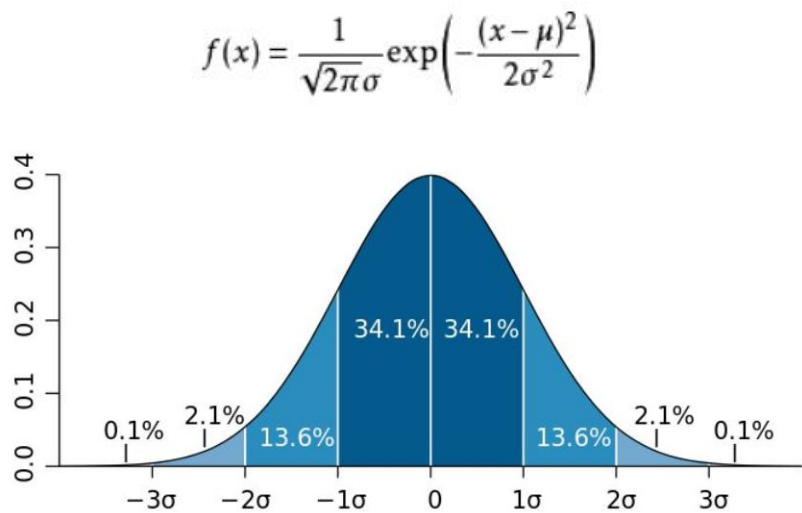
表 6 水样测试数据表

序号	水样测试	水样测试数据表 (%)					
		1	2	3	4	5	6
1	地表水样品	6.80	7.30	8.10	6.20	7.40	6.30
	极差	1.90					
2	生活废水样品	19.80	21.10	21.90	21.50	23.10	22.30
	相对偏差	$-8.40 \sim 6.90$					
3	工业废水样品	86.60	82.30	82.40	84.60	88.10	84.40
	相对偏差	$-2.90 \sim 4.00$					
4	地下水样品	2.40	3.10	2.50	2.50	2.80	2.90
	极差	0.60					

在水质安全的情况下，鱼法水质指数为 0-75（不包含 75）；在水质出现污染的情况下，鱼法水质指数为 75-100。即青鳉鱼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，实现青鳉鱼在线监测预警功能。

本标准依据实际研究，即当模式鱼在生物行为传感器中正常游动时，传感器实时采集的行为信号连续数据近似符合高斯分布，即符合正态分布，如下公式和

图。在正态分布中 σ 代表标准差， μ 代表均值。 $x = \mu$ 即为图像的对称轴。



3 σ 准则模型:

数值分布在 $(\mu - \sigma, \mu + \sigma)$ 中的概率为 0.6826;

数值分布在 $(\mu - 2\sigma, \mu + 2\sigma)$ 中的概率为 0.9544;

数值分布在 $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$ 中的概率为 0.9974;

在水质安全情况下，传感器行为信号数据的取值几乎全部集中在 $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$ 区间内，超出该范围的可能性仅占不到 0.3%；在水质污染情况下，依据环境胁迫阈值模型，模式鱼会出现运动强度逐渐增强的过程，传感器行为信号数据的值也会变大，超过 3 σ 阈值。

根据 3 σ 准则模型，水质指数的计算方法为:

$$f = \frac{\sum_{i=1}^N (v_i - \mu) > 3\sigma}{\sum_{j=1}^N j} \times 100$$

其中 f 为鱼法水质指数

v_i 为指定计算周期内的信号幅值

μ 为前 10 分钟内的均值

σ 为前 10 分钟内的方差

N 为计算周期，比如以一分钟为例，则 N=1200

依据 3σ 准则模型，水质安全情况下计算得到的水质指数在 $[0, 75)$ 之间，水质指数越小，水质越安全；水质污染情况下计算得到的水质指数在 $[75, 100]$ 之间，水质指数越大，水质污染越严重，毒性越大。

3.3.7.2 水质毒性发光细菌法预警阈值

在水质安全的情况下，发光细菌法水质指数为 0-75（不包含 75）；在水质出现污染的情况下，发光细菌法水质指数为 75-100。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。

目前国内外对采用费氏弧菌为标准菌株的水源地急性毒性响应阈值标准尚无定论，结合《水质 水样对费氏弧菌发光抑制作用的测定（发光细菌试验）》（ISO 11348-3-2007）中明确急性毒性最低无观察效应相对抑光率为 20%，以及鱼法预警阈值，将发光将相对发光率为 80%-140% 之间的值对应量化到 0-75 之间：

$$f = \frac{|RLI-100|}{40} \times 75$$

将相对发光度 0-80 或 140-220 之间的值对应量化到 75-100 之间：

$$f = \frac{|RLI-80|}{80} \times 25 + 75$$

水质安全的情况下，量化水质指数会较小，水质污染状态的时候会超出水质指数预警阈值 75，但不会超过 100。

3.3.7.3 水质毒性鱼菌合一预警阈值

在水质安全的情况下，综合水质指数为 0-75（不包含 75）；在水质出现重金属或有机物污染的情况下，综合水质指数为 75-100。即综合水质指数安全预警阈值为 75，综合水质指数达到或超过 75 时将发出预警提醒，实现鱼菌合一多层级在线生物预警功能。

基于以上鱼法和菌法的生物预警监测技术研究证明，不同种类的水生生物对不同种类的有毒物质的响应差别明显，这与不同化学物质在生物体内的毒理学作用位点和作用方式、生物体对有毒物质的耐受能力以及生物体对有毒物质的识别能力有关。

依据鱼法、菌法预警响应（表 7），可以看出针对低浓度污染物，发光细菌对不同作用机制的污染物相对发光度响应是不同的，而鱼法可以做到连续实时监测，对低浓度有毒污染物响应时间较长。两种方法对中高浓度有毒污染物均具有良好的响应。

表 7 鱼-菌多层次生物预警技术响应

药品	浓度	毒性浓度-青 鳉鱼（TU）	菌法单元 相对发光度	鱼法单元响应时间
Cu ²⁺	2.75mg/L	0.5	46.56%	5 h
	5.5mg/L	1.0	33.20%	60 min-120 min
	11.0mg/L	2.0	7.56%	10 min
Cd ²⁺	1.95mg/L	0.5	93.16%	5-8 h
	3.9mg/L	1.0	76.98%	60 min-120 min
	7.8mg/L	2.0	55.46%	30-60 min
2,4,6-三氯 酚	1.55mg/L	0.5	86.88%	3 h
	3.1mg/L	1.0	78.72%	30-60 min
	6.2mg/L	2.0	73.18%	10 min-30 min
对硫磷	1.45mg/L	0.5	88.28%	3 h
	2.9mg/L	1.0	64.38%	30-60 min
	5.8mg/L	2.0	66.66%	10 min-30 min

本标准利用模式识别智能解析方法，对鱼法和菌法进行分别解析判断，引入加权融合权重概率算法，得到综合水质状态和综合水质指数。

$$\text{综合水质指数} = \text{鱼法水质指数} * \text{weight1} + \text{菌法水质指数} * \text{weight2}$$

其中，权重 weight1 和 weight2 可自适应调节：

根据专家打分，结合实际情况，在常规应用场景下，weight1 和 weight2 默认为 0.5；在明确有有机物或重金属特征污染物的风险指示下，可适时调整相应权重。如有机物风险较大时，可将 weight1 的权重调高。如重金属风险较大时，可将 weight2 的权重调高。使多层级系统更符合实际风险的有效预警和防控。

3.3.8 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污染和水质健康，分级方法见表 8。

表 8 饮用水水源地综合水质指数评价分级

预警级别	综合水质指数	预警风险等级
I（红色）	≥ 75	水质污染
II（绿色）	$0 \leq \text{水质指数} < 75$	水质安全

在上述鱼法和菌法阈值研究的基础上，以阈值 75 为分级线，将预警分两级，便于直观获取饮用水水源地水质健康情况。

3.3.9 预警发布

因水质综合毒性生物预警监测指标作为非常规项目，在《地表水环境质量标准》（GB 3838—2002）各个水质类别中无相应标准，故系统的生物预警监测指标预警通常按照所设定的报警值进行预警，即当连续三组综合水质指数达到或超过 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。

考虑到水质的复杂性和《地表水环境质量标准》（GB 3838—2002）各个水质

类别中无相应标准，系统在综合水质指数达到或超过 75 时，立即调用连续三组综合水质指数数据，如均达到或超过 75，则启动预警程序，同时进行相应的预警审核机制，避免假阳性情况。

3.3.10 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：

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%；

反应 15min，参比毒物 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的半数抑制浓度 IC_{50} 范围应为 0.6 mg/L-6 mg/L。

注：ISO 标准方法中，14 家实验室的参比毒物 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的半数抑制浓度 IC_{50} 变异系数为 33.6%，均值为 2.17 mg/L。

青鳉鱼综合毒性监测的质量控制和质量保证要求如下：

以已知浓度的标准样品作为标准毒物，采用 10TU 浓度（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，将标准模式青鳉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 $\leq 10\text{min}$ 。

3.3.10.1 水质毒性鱼法在线监测性能指标

鱼法在线监测应满足以下性能指标（表 9）。

表9 鱼法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 < 0.2 h
5	受试生物更换频率	30 d
6	平均无故障连续运行时间 (MTBF)	≥ 720 h

3.3.10.2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 10）。

表10 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	$\leq \pm 1^{\circ}\text{C}$
5	反应模块温控误差	$\leq \pm 1^{\circ}\text{C}$
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	168 h

10	实际水样比对实验	≤20%
----	----------	------

依据《水和废水监测分析方法》（第四版）、（水质. 水样对弧菌类光发射抑制影响的测定(发光细菌试验)）（ISO11348-3-2007）、《地表水环境质量标准》（GB3838-2002）、《海洋石油勘探开发污染物生物毒性 第2部分：检验方法》（GB/T 18420.2-2009）、《污水生物毒性监测技术规程 发光细菌急性毒性测试-费歇尔弧菌法》（试行），本标准进行性能指标设置。

3.3.11 方法验证

3.3.11.1 方法验证方案

共有三家单位参加了方法验证工作，验证单位及参与验证人员信息见表11。

表11 方法验证单位及人员相关信息

姓名	职务或职称	从事自动站运维工作年限（年）	单位名称	验证单位序号
朱亚东	运维工程师	4	无锡中科水质环境技术有限公司	1
丘学勇	运维工程师	5	广州鳌达科技有限公司	2
苏闽涛	水室主任	8	广东省梅州市环境监控中心	3

方法验证工作主要内容是方法的有效性和预警阈值的适用性。实施方法验证前，编制组根据初步制订好的标准文本设计了实验作业指导书和验证方案并进行专家论证，联系并分发实验作业指导书及验证方案至参加验证的三家实验室，确定具有自动站运营经验的技术人员，具备检定有效期内的相关仪器设备，提前采购并配置好所需试剂，协调验证试验同步开始的时间。

3.3.11.2 方法验证结果

以已知浓度的标准样品作为标准毒物，标准编制组将采用 3mg/L 和 30mg/L 的 2, 4, 6-三氯酚、3mg/L 和 30mg/L 的硫酸铜分配到各验证单位，同时各验证单位自制纯水，每个验证单位分别利用鱼菌合一多层级生物预警设备对上述水样进行测定。作为标准物质进行现场手阳性质控，水质状态为水质污染，综合水质指数 ≥ 75 ；纯水进行现场阴性质控，水质状况为水质健康，综合水质指数 < 75 。

表 12 验证单位实验结果

韩江流域柚树河平远黄田水库站（无锡中科水质环境技术有限公司）			
浓度梯度测定	测试时间	报警时间	综合水质指数*
2, 4, 6-三氯酚, 3mg/L	9: 44—10: 42	10: 42	76.2
2, 4, 6-三氯酚, 30mg/L	13: 59—15: 05	15: 05	85.1
硫酸铜, 3mg/L	12: 24—13: 15	13: 15	83.6
硫酸铜, 30mg/L	13: 36—14: 33	14: 33	97.1
纯水	6: 28—9: 30	--	1.7—6.8
自来水	15: 38	--	15.8
韩江流域宁江兴宁合水水库站（无锡中科水质环境技术有限公司）			
浓度梯度测定	测试时间	报警时间	综合水质指数*
2, 4, 6-三氯酚, 3mg/L	8: 18—9: 51	9: 51	87.6
2, 4, 6-三氯酚, 30mg/L	10: 48—11: 42	11: 42	79
硫酸铜, 3mg/L	13: 02—13: 53	13: 53	77.9
硫酸铜, 30mg/L	14: 25—15: 18	15: 18	99.9
纯水	5: 13—8: 21	--	2.4-4.4
自来水	15: 42	--	11.5
韩江流域乌土河蕉岭黄竹坪-龙潭水库站（无锡中科水质环境技术有限公司）			
浓度梯度测定	测试时间	报警时间	综合水质指数*

2, 4, 6-三氯酚, 3mg/L	8: 22—9: 40	9: 40	82.9
2, 4, 6-三氯酚, 30mg/L	10: 00—11: 15	11: 15	95.8
硫酸铜, 3mg/L	12: 31—13: 23	13: 23	87.7
硫酸铜, 30mg/L	13: 54—14: 51	14: 51	99.9
纯水	5: 06—8: 12	--	1.3—4.4
自来水	15: 21	--	14.2
韩江流域蕉洲河五华桂田水库站（无锡中科水质环境技术有限公司）			
浓度梯度测定	测试时间	报警时间	综合水质指数*
2, 4, 6-三氯酚, 3mg/L	8: 39—10: 00	10: 00	78.9
2, 4, 6-三氯酚, 30mg/L	10: 21—11: 32	11: 32	90.4
硫酸铜, 3mg/L	12: 09—13: 06	13: 06	89.1
硫酸铜, 30mg/L	13: 27—14: 26	14: 26	98.7
纯水	6: 34—9: 35	--	1.3—6.3
自来水	15: 16	--	13.7
榕江流域榕江北河丰顺虎局水库站（无锡中科水质环境技术有限公司）			
浓度梯度测定	测试时间	报警时间	综合水质指数*
2, 4, 6-三氯酚, 3mg/L	8: 33—9: 46	9: 46	80.8
2, 4, 6-三氯酚, 30mg/L	10: 19—11: 15	11: 15	89.2
硫酸铜, 3mg/L	12: 32—13: 37	13: 37	89.9
硫酸铜, 30mg/L	13: 21—15: 18	15: 18	99.9
纯水	5: 06—8: 12	--	0.2—3.5
自来水	15: 51	--	17.9
韩江流域梅潭河大埔三黎站			
浓度梯度测定	测试时间	报警时间	综合水质指数*

2, 4, 6-三氯酚, 3mg/L	7: 58—9:12	9:12	84.8
2, 4, 6-三氯酚, 30mg/L	9: 37—10:35	10:35	100
硫酸铜, 3mg/L	12: 18—13:09	13:09	83.1
硫酸铜, 30mg/L	13: 48—14:39	14:39	99.2
纯水	4: 50—7: 57	--	2.4—5.9
自来水	15: 20	--	10.7

三家单位对六台多层级生物预警设备进行了阳性质控测试，低浓度与高浓度阳性质控样测试数据（综合水质指数）均 >75 。低浓度三氯酚阳性质控数据均值为81.9，高浓度三氯酚阳性质控数据均值为89.9；高浓度硫酸铜阳性质控数据均值为85.2，高浓度硫酸铜阳性质控数据均值为99.1；对纯水/自来水进行阴性质控测试，综合水质指数均 <75 ，符合质控和预警阈值要求。

六台多层级生物预警设备已分别在梅州六个饮用水水源地连续应用24个月以上，在运维工作到位的前提下，未出现因水质变化而导致的报警情况，综合水质指数均小于75。

四、与现行相关标准的关系

无

五、标准实施建议

本方法标准利用发光细菌和鱼法对饮用水源地水质毒性进行测定，可对饮用水源地水质综合毒性（急性毒性）安全进行预警。标准《骆马湖饮用水源地鱼菌合一多层级生物预警技术规范》的制订是为了满足当前生态环境管理和人民群众健康对饮用水安全的需求，是对《地表水水质标准》（GB 3838-2002）的有效补充，为保证我国饮用水源地水质安全和水生态环境风险具有重要意义。

本标准对监测硬件条件的要求不高，基层环境监测站均可开展此项工作，各级监测站在该项目能力的形成上应更注重人员的培养和管理，积累监测人员的实

际操作经验，不断提高其试验分析能力，控制受试生物的质量，强调阳性、阴性等对照试验的过程控制，确保监测质量，有效服务环境管理。

附件 1 团体标准《地表水饮用水水源地鱼菌合一多层级生物在线预警技术规范》立项审查会专家意见汇总处理表

序号	章条号	意见内容	处理意见	处理原因
1		标准题目太长	采纳	已修改标准名称为“水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范”。
2		生物在线预警系统放到附录中	采纳	已修改
3		编制说明中增加研发的过程	采纳	已修改
4		实验中重金属浓度偏高，低浓度重金属的响应情况如何？		低浓度重金属我们可以响应 0.1TU 的浓度，如铜离子响应浓度 0.1TU (0.5mg/L)，镉离子浓度 0.1TU (0.4mg/L)。对于毒性较低的重金属响应实际浓度相对较高。
5		文章列出的受试鱼类为青鳉鱼，是否一定要用青鳉鱼？		我们用的是中华青鳉鱼，在中国广泛分布的一种鱼（北京市水务局《北京市水生态健康等级指示物种（2021 版）》健康等级指示物种 6 种，即宽鳍鱲、中华青鳉、马口鱼、翘嘴红鲌、鳊鱼、中华新米虾；）。毒理学研究

				背景数据丰富。斑马鱼较青鳉鱼活跃，不耐低氧环境，不适用于设备在线监测环境。
6		标准名称过长，建议三段式简化	部分采纳	已修改标准名称为“水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范”。
7		技术规范名称中受试生物是否要明确？	不采纳	受试生物太过于具体，同时本标准为两种生物，作为规范名称不合适。
8		规范性引用文件中增加《水质 物质对淡水鱼（斑马鱼）急性毒性测定方法》（GB/T 13267）	采纳	已增加
9		两种受试生物使用的科学性		中华青鳉鱼在中国广泛分布的一种鱼（北京市水务局《北京市水生态健康等级指示物种（2021 版）》健康等级指示物种 6 种，即宽鳍鱲、中华青鳉、马口鱼、翘嘴红鲌、鳊鱼、中华新米虾），毒理学研究背景数据丰富。斑马鱼较青鳉鱼活跃，不耐低氧环境，不适用于设备在线监测环境。

				发光细菌和费氏弧菌可以通用，只要发光量符合要求就行。复苏、反应试剂配制不同，需进行设置才行。
10		抑制率 20%的科学性		《水质 水样对费氏弧菌发光抑制作用的测定（发光细菌试验）》（ISO 11348-3-2007）中明确急性毒性最低无观察效应相对抑光率为 20%。

附件 2 团体标准《水质毒性鱼菌合一在线预警监测技术规范（初稿）》审查会专家意见汇总处理表

序号	章条号	意见内容	处理意见	处理原因
1	1 范围	“水质毒性鱼菌合一生物在线”应与标题一致	采纳	已修改为“水质毒性鱼菌合一在线”。
2	2 规范性引用文件	只列出本标准中引用的文件	采纳	已修改
3	3 术语和定义	术语和定义是为了解释术语是什么，而非怎么获取	采纳	已修改
4	4 总则	阐述鱼菌合一在线预警是什么，具体包括哪些内容	采纳	已修改
5	5 试验和材料	明确发光细菌种类，增加三氯酚溶液	采纳	已修改
6	6 仪器和设备	仅保留测试单元	采纳	已修改
7	7 分析测试	建议小标题修改为“分析测试方法”，删除技术原理，增加预处理条件	采纳	已修改
8	8 毒性预	毒性预警阈值增加表格	采纳	已增加

	警阈值			
9	增加 10 结果上报	增加 10 结果上报	采纳	已修改
10	11 质量保证与质量控制	该章节应为测试分析的质量保证与质量控制，要区分仪器设备性能指标与实验的质量保证	采纳	已修改