

中国质量检验协会团体标准

T/CAQI 6—2020

**发光菌法水质生物综合毒性在线监测仪技
术要求和应用指南**

Technical Requirements and Application Guide for On Line Monitoring Instrument
for Biological Comprehensive Toxicity of Water Quality by Luminescent Bacteria
Method

2020 - -发布

2020- -实施

目 次

目 次.....	I
前 言.....	II
1 范围.....	3
2 规范性引用文件.....	4
3 术语和定义.....	5
4 技术要求.....	6
5 安装与验收.....	10
6 运行维护及管理.....	12
附 录 A（资料性附录） 发光抑制率及相对发光度计算方法.....	15
附 录 B（资料性附录） EC50 建议表.....	17
附 录 C（资料性附录） 水质生物综合毒性在线监测仪性能指标检验方法.....	23
附 录 D（资料性附录） 水质生物综合毒性在线监测仪检测记录表.....	25

前 言

为规范发光菌法水质生物综合毒性在线监测仪在城镇给水中的使用，编制组在认真总结应用经验，并在广泛征求意见的基础上，制定本规程。

本标准按照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》起草。

本标准由杭州绿洁环境科技股份有限公司提出。

本标准由中国质量检验协会水环境工程技术与装备专业委员会归口。

本标准主要起草单位：杭州绿洁环境科技股份有限公司、山东省城市供排水水质监测中心、浙江省环境监测中心、宁波市水务集团、杭州市水务集团有限公司。

本标准主要起草人：

发光菌法水质生物综合毒性在线监测仪技术要求和应用指南

1 范围

本标准规定了发光菌法水质生物综合毒性在线监测仪（以下简称监测仪）的技术要求、安装与验收、运行维护及管理等内容。

本标准适用于采用费氏弧菌、明亮发光杆菌或青海弧菌作为受试生物的水质生物综合毒性在线监测仪在饮用水、地表水、地下水等水质的监测及预警，以及突发性水污染事故的监测等。

发光菌法水质生物综合毒性在线监测仪的技术要求、安装与验收、运行维护及管理除应符合本规程外，尚应符合国家现行有关标准的规定。

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 4793.1 测量、控制和实验室用电气设备安全通用要求 第1部分：通用要求

GB/T 6587 电子测量仪器通用规范

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 15441 水质 急性毒性的测定 发光细菌法

GB/T 17626.2 电磁兼容 试验和测量技术 静电放电抗扰度试验

GB/T 17626.4 电磁兼容 试验和测量技术 电快速瞬变脉冲群抗扰度试验

GB/T 17626.5 电磁兼容 试验和测量技术 浪涌（冲击）抗扰度试验

CJJ/T 271 城镇供水水质在线监测技术标准

ISO 11348 Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri*(Luminescent bacteria test) - Part 3: Method using freeze-dried bacteria

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 水质生物综合毒性在线监测仪 on-line monitoring equipment for complex toxicity of water quality

能够实时在线监测水质生物综合毒性的设备，可快速检测水中污染物的生物综合毒性指标，且对水质污染事件有快速高效的早期预警作用。

3.2 发光菌法 luminescent bacteria method

一种采用费氏弧菌、明亮发光杆菌或青海弧菌作为受试生物，以待测水样对发光细菌发光强度的影响程度来反映水质综合毒性的方法。

3.3 抑制率 inhibition rate

在规定条件下，待测水样与发光细菌接触一定时间后，细菌发光强度变化的百分比。

3.4 相对发光度 (RLI) relative light index

在规定条件下，待测水样与发光细菌接触一定时间后，细菌发光强度与空白对照发光强度的比值，单位为%。

3.5 标样核查 check with standard solution

仪器中导入特定的标准溶液,根据测量结果判定水样测试结果的准确性。

3.6 运行日志 running record

在运行过程中仪器自动记录测量条件、故障、维护等状态信息及日常校准，参数变更等记录。

4 技术要求

4.1 基本要求

4.1.1 检测原理采用发光菌法应符合 ISO11348-3 或 GB15441 的相关要求。

4.1.2 应具备抗振动、抗电磁干扰能力，抗振动性能应符合 GB/T 6587 的要求，抗电磁干扰能力应符合 GB/T 17626.2、GB/T 17626.4、GB/T 17626.5 的要求。

4.1.3 安全性应符合 GB 4793.1 的要求，电源进线与机壳（接地端）之间的绝缘电阻应不小于 20MΩ，应设漏电保护装置和过载保护装置，应具有良好的接地端口。

4.1.4 报警阈值设定应根据当地水质背景值确定。

4.1.5 操作人员应培训上岗，熟悉仪器原理及相关操作、熟悉发光细菌使用操作。

4.2 性能参数

4.2.1 水质生物综合毒性在线监测仪的性能参数应符合表 1 的要求。

表 1 性能参数要求

项目	性能指标
受试生物	费氏弧菌、明亮发光杆菌、青海弧菌
测量范围	-100%~+100%（抑制率）、0~200%（相对发光度）
反应时间	5min, 15min, 30min 按需设定
空白对照通道数量	≥1
发光细菌贮存单元温控误差	≤±1℃
反应模块温控误差	≤±1℃
零点漂移（24h）	-5%~+5%（抑制率）、95%~105%（相对发光度）
零点核查	-5%~+5%（抑制率）、95%~105%（相对发光度）
标样核查（2.2mg/L Zn ²⁺ ）	50%±15%
重复性	≤10%
水样加标评估	Zn ²⁺ （2.2mg/L）：50%±15%
	3,5-二氯苯酚（3.4mg/L）：50%±15%
	乐果标准溶液（7.76mg/L）：50%±15%
最小维护周期	168h
平均无故障运行时间	≥720h

4.3 结构要求

仪器主要由进样/计量单元、试剂储存单元、反应检测单元、发光细菌贮存单元、控制单元等组成。

4.3.1 进样/计量单元

应采用非接触泵，定时定量采样；采集管路应耐磨、抗腐蚀性、吸附性低和不易变形等，避免因试剂、待测物质的腐蚀或吸附而影响测定结果；应保证水样、标准溶液、试剂等进样的准确性。

4.3.2 试剂储存单元

应设有纯净水储存槽、盐水储存槽及标准溶液储存位。其中纯净水储存槽、盐水储存槽应设有溢流口，防止纯净水、盐水溢出。

4.3.3 反应检测单元

- a) 具有降温和加热功能，保证发光细菌与水样接触反应过程中温度稳定。
- b) 具有排冷凝水功能，防止冷凝水进入反应检测单元。
- c) 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，可实现对待测样本的自动在线分析。

4.3.4 发光菌贮存单元

- a) 具有降温和加热功能，通过温度控制保证发光细菌的生理活性。
- b) 具有排冷凝水功能，防止冷凝水聚集流入发光菌贮存单元。
- c) 具有磁力搅拌功能，通过搅拌防止发光细菌沉淀于贮存单元底部。
- d) 所用材质应耐腐蚀，不受贮存试剂侵蚀。

4.3.5 控制单元

a) 控制单元应具有进样、反应和排液、清洗、数据处理、显示等基本控制功能，还应具有异常信息记录、反馈功能；应具有意外断电且再度通电后自动排出断电前正在测试的待测物质和试剂，自动清洗各通道并复位到重新开始测试状态的功能。

b) 数据处理系统应具有数据和运行日志采集、储存、处理、显示和输出功能，应能储存不少于12个月的原始数据和运行日志。

c) 应提供数据传输通讯接口。

d) 应具备试剂余量、异常信息、仪器故障、测试结果超标等报警功能，并显示当前状态，为正常、警示和报警。

4.3.6 预处理单元

根据需要，监测仪可配置水样预处理单元。高浊水应配备预沉装置，一级过滤器、隔膜泵、二级过滤器等；含氯水样应配备脱氯装置。

4.4 试剂及菌种要求

4.4.1 菌种适用条件

a) 对于费氏弧菌、明亮发光杆菌等海洋发光细菌，测试样品中的盐浓度不应超过相当于 35g/L NaCl (约 25.249bar) 的渗透压。对于海水或微咸水等盐度较高样品，应采用人工海水或人工微咸水作为空白样品，并用人工海水或人工微咸水替代 NaCl 溶液。

b) 淡水发光菌青海弧菌，仅适用于淡水检测。

4.4.2 费氏弧菌

a) 费氏弧菌菌种为 *Vibrio fischeri* NRRL B-11177。

b) 费氏弧菌冻干粉应在-18℃以下条件储存，复苏液 2-4℃保存，保质期为 1 年。

c) 运输过程中应配备保温箱及生物冰袋。

d) 使用时，冻干粉应按照标准进行复苏，复苏时间 5min-30min，复苏后的发光菌菌液应在 2-4℃环境保存或在仪器贮存单元保存，发光菌菌液有效期为 7 天。

e) 发光菌 CF 值在 0.6-1.8 范围内 (ISO11348-3-2007)，发光强度值应满足监测仪检测需求。

f) 渗透压调节液为 200g/L NaCl 溶液，测试体系中 NaCl 溶液浓度为 20g/L。

g) 测试结果对应的毒性等级划分可参考美国发光菌测试仪 (MICROTOX) 发明人 Bulich A.A 毒性等级划分方法^[1]。

4.4.3 明亮发光杆菌

a) 明亮发光杆菌菌种为 *Photobacterium phosphoreum* T₃ spp.。

b) 明亮发光杆菌冻干粉应在-18℃以下条件下储存，复苏液 2-4℃保存，保质期为 1 年。

c) 运输过程中应配备保温箱及生物冰袋。

d) 使用时，冻干粉应按照标准进行复苏，复苏时间 5min-30min，复苏后的发光菌菌液应在 2-4℃环境保存或在仪器贮存单元保存，发光菌菌液有效期为 7 天。

e) 复苏后发光菌的发光强度值应满足监测仪检测需求。

f) 渗透压调节液为 300g/L NaCl 溶液，测试体系中 NaCl 溶液浓度为 30g/L。

g) 测试结果对应的毒性等级划分可参考中国科学院南京土壤所提出的急性毒性等级划分方法^[2]。

4.4.4 青海弧菌

a) 青海弧菌菌种为 *Vibrio qinghaiensis* Q67。

b) 冻干粉需-18℃以下条件下储存，复苏液 2-4℃保存，保质期为 1 年。

c) 运输过程中必须配备保温箱及生物冰袋。

d) 使用时，冻干粉应按照标准进行复苏，复苏时间 5min-30min，复苏后的发光菌菌液应在 2-4℃

环境保存或在仪器贮存单元保存，发光菌菌液有效期为 7 天。

e) 复苏后发光菌的发光强度值应满足监测仪检测需求。

f) 渗透压调节液为 80g/L NaCl 溶液，测试体系中 NaCl 溶液浓度为 8g/L。

4.4.5 试剂标液

标样核查试剂应采用分析纯以上的七水硫酸锌配置溶液， Zn^{2+} 终浓度为 2.2mg/L。测试用纯净水应符合 GB/T 6682 的二级分析实验室用水要求，也可选用符合标准的瓶装纯净水。

5 安装与验收

5.1 基础环境要求

- 5.1.1 仪器应安装于地表水水源地取水口、净水厂进出口等关键位置。
- 5.1.2 仪器安装位置前后应预留至少 80cm 的检修空间，便于查看和维护。
- 5.1.3 仪器运行环境应保持稳定，室内温度：5℃-45℃，湿度：< 85%。
- 5.1.4 供电电压为 220×（1±10%）V，电源频率为 50×（1±2%）Hz，应配备不间断电源。
- 5.1.5 仪器不宜安装在阳光直射的地方。
- 5.1.6 安装点应没有粉尘及腐蚀性气体，通风良好。不应安装在易受到震动和有强磁场的地方。
- 5.1.7 建议检测频次为 4h/次，可根据实际情况缩短或延长检测时间间隔。

5.2 样品采集要求

- 5.2.1 水样温度:0℃~45℃。
- 5.2.2 水样酸碱度:pH 6.0~8.0 范围内。
- 5.2.3 被测水体的浊度应小于 400 NTU，高于 400NTU 时应选配预处理单元。
- 5.2.4 被测水样应不含氯，含氯水样应配备脱氯装置。
- 5.2.5 采集样品应具有代表性，仪器位置与样品采集位置距离不宜过长。
- 5.2.6 含毒废液应收集并妥善处理，其它废液可按照国家相关标准进行处理或排放。

5.3 验收条件

在完成安装和调试检测并符合下列要求后，可组织实施技术验收工作。

- 5.3.1 仪器安装位置、环境及水样应符合本指南“5.1”、“5.2”的要求。
- 5.3.2 根据本指南“4.2.1”的要求进行调试检测，并提供调试检测合格报告及调试检测结果数据。调试检测后至少稳定运行 1 个月。

5.4 仪器性能验收及评估

- 5.4.1 技术指标验收包括零点漂移（24h）、零点核查、标样核查（2.2mg/L Zn²⁺）、重复性、平均无故障运行时间。技术指标要符合本指南“4.2.1”中表 1 的要求，操作步骤和计算公式按照附录 C.3.1 至 C.3.8 相关要求执行。

5.4.2 水样加标评估物质包括 Zn^{2+} 、3,5-二氯苯酚、乐果标准溶液三种，加标评估结果应该符合本指南“4.2.1”中标表 1 的要求，操作步骤和计算公式按照附录 C.3.5 至 C.3.7 相关要求执行。

5.4.3 性能验收及评估结果判定

a) 性能验收及评估项目和方法见表 2。

表 2 监测仪性能验收及评估项目、要求及方法

性能验收及评估项目	指标要求	检测方法
零点漂移 (24h)	4.2.1	C.3.1
零点核查	4.2.1	C.3.2
标样核查 (2.2mg/L Zn^{2+})	4.2.1	C.3.3
重复性	4.2.1	C.3.4
水样加标评估 Zn^{2+} (2.2mg/L)	4.2.1	C.3.5
水样加标评估 3,5-二氯苯酚 (3.4mg/L)	4.2.1	C.3.6
水样加标评估乐果标准溶液 (7.76mg/L)	4.2.1	C.3.7
平均无故障运行时间	4.2.1	C.3.8

b) 按照 C.3.1 至 C.3.8 中实际检测值或相应的公式计算出结果。

5.4.4 性能验收及评估评估报告

性能验收及评估报告应包括以下内容：

- a) 项目概况，包括项目地点、水质类型、监测仪技术参数、运行情况、建设单位、委托单位等。
- b) 性能验收及评估项目，各项目检测结果。
- c) 性能验收及评估结论及建议,包括针对本次验收评估得出的结论，提出监测仪运行维护建议，

双方约定的其他需要的信息等。

d) 验收评估过程中对各项检测指标做好记录，检测记录可作为检测评估报告的附件。

6 运行维护及管理

6.1 总体要求

运维单位应根据使用说明书和本技术指南的要求编制仪器运行管理规程,确定系统运行操作人员和管理维护人员的工作职责。运维人员应当熟练掌握监测仪的原理、使用和维护方法。

6.2 日常巡检

运维单位应根据本技术指南和仪器使用说明中的相关要求制订巡检规程,并严格按照规程开展日常巡检工作并做好记录。日常巡检记录应包括检查项目、检查日期、被检项目的运行状态等内容,每次巡检应记录并归档。监测仪日常巡检时间间隔不超过7天。

6.3 日常维护保养

运维单位应根据说明书的要求对监测仪保养内容、保养周期或耗材更换周期等做出明确规定,每次保养情况应记录并归档。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。

6.4 数据质量保证

6.4.1 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。

6.4.2 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。

b) 仪器故障、调试或标样核查期间的数据应剔除。

c) 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。

d) 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。

6.5 定期维护

定期维护应做到:

a) 每周检查一次反应检测模块、水样槽、纯净水槽、盐水槽的清洁状态并清洗。

- b) 每周检查一次检测台、机械臂、吸头等清洁状态并清洁，防止金属部件生锈。
- c) 每两周更换检测模块内注射器，防止因注射器污染导致测试结果异常。
- d) 每两个月更换黑色胶管，防止因黑色胶管污染导致测试结果异常。
- e) 每周检查一次发光菌贮存单元及反应模块温度，并校准温度。
- f) 每周检查一次注射器密封性，防止因漏水导致测试结果异常。
- g) 每半年清洗一次空调滤网。
- h) 形成定期维护记录。

6.6 定期核查

6.6.1 定期核查应做到每周进行一次零点和标样核查，核查方法见附录 C，核查结果应该符合 4.2.1 中表 1 性能参数要求。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。

6.6.2 零点核查或标样核查出现超标情况，进行如下操作：

- a) 核查零点溶液、标样溶液、发光细菌等试剂是否处于保质期内，更换过期变质的试剂。
- b) 检查仪器是否处于正常工作状态，是否按照本标准中 6.5 的要求进行维护，对仪器各模块状态进行调整。
- c) 形成异常问题处理记录，记录零点核查及标样核查超标情况、问题排查过程、超标原因、解决方案。

6.7 试剂台账

建立发光细菌冻干粉、质控标准物质、渗透压调节液台账。包括每次试剂批号、采购数量、到货时间、保存方式、领用时间、领用数量、监测站点、试剂运送至监测站点的方式。

测试现场则记录本次测试用试剂批号、试剂更换时间、添加量。

6.8 异常问题处理

6.8.1 水样测试结果出现超标情况时，进行如下操作：

- a) 先进行水样留样并密封保存，并将水样检测模式改为连续模式，观察检测结果变化。
- b) 对仪器进行零点和标样核查，检查仪器是否处于正常工作状态。若仪器或者发光菌种处于非正常工作状态导致水样测试出现假阳性，对仪器进行维护维修或更换菌种。
- c) 并查看其他水质参数 pH、浊度、水温、色度、余氯等是否超标。若因以上参数异常导致水样综合毒性超标，对水样进行预处理后再进行测试。

d) 若仪器及菌种工作状态正常，水质参数pH、浊度、水温、色度、余氯等也未超标，留样水样实验室急性毒性检测呈阳性，上报进行人工复查，检测水样中是否有重金属、农药或有机物污染。

e) 形成异常问题处理记录。

6.8.2 出现异常情况或存在污染风险时，应根据实际情况加密监测。

附录 A

(资料性附录)

发光抑制率及相对发光度计算方法

A.1 发光抑制率计算方法

根据测量的发光强度，使用公式 (A.1) 计算 CF 值（以校正因子 f_{kt} 替代）。该因子用于校正所有样品的初始发光强度 I_0 ，将发光细菌本身随环境产生的发光强度变化扣除。

$$f_{kt} = I_{kt} / I_{ko} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

t ——反应时间，5min,15min,30min 可选；

f_{kt} ——环境校正因子，即 CF 值；

I_{kt} ——空白对照的终止发光强度；

I_{ko} ——空白对照的初始发光强度。

计算样品初始发光强度 I_0 的校正值 I_{ct} ：

$$I_{ct} = I_0 \cdot f_{kt} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

I_{ct} ——样品初始发光强度的校正值；

I_0 ——样品初始发光强度；

f_{kt} ——环境校正因子，即 CF 值。

使用公式 (A.3) 计算样品的发光抑制率 H_t ：

$$H_t = \frac{I_{ct} - I_t}{I_{ct}} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

H_t ——测试样品的发光抑制率；

I_{ct} ——样品初始发光强度的校正值；

I_t ——样品的终止发光强度。

A.2 相对发光度计算方法

根据测量的发光强度，使用公式（A.4）计算样品的相对发光度 RLI：

$$RLI=(I_t/I_{kt})\times 100\% \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

RLI ——测试样品的相对发光度；

t ——反应时间，5min,15min,30min可选；

I_t ——样品的终止发光强度；

I_{ko} ——空白对照的初始发光强度。

附 录 B
(资料性附录)
EC50 建议表

B.1 费氏弧菌 EC50 建议表

类型	污染物	曲线方程	相关系数/R ²	EC50 (mg/L)	饮用水限值 (mg/L)	地表水限值 (mg/L)
重金属	Zn ²⁺	$y = 26.9121\ln(x) + 27.514$	0.9728	2.3	1.0	1.0 (Ⅲ类水)
	Cu ²⁺	$y=23.5851\ln(x)+9.0698$	0.9327	5.67	1.0	1.0 (Ⅲ类水)
	Cr ³⁺	$y=-0.0001x^2+0.0213x-0.0475$	0.9875	29.90	—	—
	Pb ²⁺	$y=-0.3049x^2+1.0102x+0.0628$	0.9986	0.51	0.01	0.05 (Ⅲ类水)
	Hg ²⁺	$y=-2651.7x^2+149.8x-1.0956$	0.9704	0.01143	0.001	0.0001 (Ⅲ类水)
	Cd ²⁺	$y=-0.1069x^2+0.7341x-0.2398$	0.9838	1.23	0.005	0.005 (Ⅲ类水)
	Fe ³⁺	$y=0.005x^2-0.0581x+0.2484$	0.9377	14.98	0.3	0.3
	Al ³⁺	$y=0.0027x^2-0.0289x+0.0627$	0.9167	19.16	0.2	—
	Ni ²⁺	$y=-34.19 \times e^{(-x/140.59)} + 76.01^{[3]}$	0.971	38.4	0.02	0.02
	As ³⁺	$y=-160.3 \times e^{(-x/8.36)} + 145.5^{[3]}$	0.972	4.330	0.01	0.05 (Ⅲ类水)
Cr ⁶⁺	$y=-96.88 \times e^{(-x/21.47)} + 101.8^{[3]}$	0.999	13.4	0.05	0.05 (Ⅲ类水)	
农药	乐果	$y=18.8881\ln(x) + 11.297$	0.9778	7.76	0.08	0.08
	毒死蜱	$y=30.863\ln(x)-61.266$	0.956	36.79	0.03	—
	草甘膦	$y=74.35\ln(x)-263.9$	0.9773	68.25	0.7	—
	三唑磷	$y=0.1966\ln(x)+0.1939$	0.9951	4.744	—	—
	甲4氯钠	$y=0.288\ln(x)+0.446$	0.998	1.27	—	—
	阿维菌素	$y=0.1867\ln(x)+1.0559$	0.9983	0.051	—	—
	甲萘威	$y=0.1984\ln(x)+0.5599$	0.9762	0.74	—	0.05
	杀螟丹	$y=0.1411\ln(x)+0.2301$	0.9929	6.772	—	—
	代森锌	$y=0.2312\ln(x)+0.8678$	0.9949	0.204	—	—
	马拉硫磷	$y=31.5992\ln(x+0.5454)+29.7993^{[4]}$	0.9755	1.350	0.25	0.05
非农药有机物	百菌清	$y=96.3262\ln(x+37.0132)-336.5017^{[4]}$	0.9484	18.268	0.01	0.01
	苯酚	$y=41.9529\ln(x+19.4181)-113.4732$	0.9738	29.82	—	—
	四氯化碳	$y=0.2032\ln(x)-0.4791$	0.9843	123.77	0.002	0.002
	四氯乙烯	$y=-9E-6x^2+0.0121x+0.0357$	0.9948	39.5	0.04	0.04
	乙苯	$y=0.1662\ln(x) - 0.097$	0.9610	36.31	0.3	0.3
	甲醛	$y=0.2446 \ln(x)-0.109$	0.9819	12.059	0.9	0.9
	甲醇	$y=-0.0001x^2+0.0211x-0.0887$	0.9980	33.09	—	—
	三氯乙酸	$y=0.0001x^2-0.0123x+0.5864$	0.9878	115.52	0.1	—
	二氯乙酸	$y=4E-5x^2+0.0139x-0.5024$	0.9638	61.30	0.05	—

抗 生 物 与 毒 素	土霉素	$y=0.4971\ln(x)+0.9355^{[5]}$	0.9900	0.42	—	—
	黄曲霉毒素	$y=67.728x-28.494^{[6]}$	0.997	14.42	—	—
	四环素	$y=100/(1+10^{1.036\times(1.465-1gx)})^{[7]}$	0.9721	29.19	—	—
	氧四环素	$y=100/(1+10^{0.975\times(1.330-1gx)})^{[7]}$	0.9123	21.40	—	—
	氯四环素	$y=100/(1+10^{1.463\times(0.814-1gx)})^{[7]}$	0.9761	6.52	—	—
	磺胺二甲基 嘧啶	$y=100/(1+10^{1.498\times(2.421-1gx)})^{[7]}$	0.9984	263.74	—	—
	磺胺甲基嘧 啶	$y=100/(1+10^{0.799\times(2.229-1gx)})^{[7]}$	0.9630	169.56	—	—
	磺胺嘧啶	$y=100/(1+10^{1.298\times(1.941-1gx)})^{[7]}$	0.9909	87.38	—	—
	柠檬黄	$y=13.101x+12.529^{[8]}$	0.9873	2.86	—	—
	胭脂红	$y=25.956x+17.209^{[8]}$	0.9795	1.26	—	—
色 素 类	日落黄	$y=27.303x+11.295^{[8]}$	0.9741	1.42	—	—
	亮蓝	$y=16.134x+22.242^{[8]}$	0.9774	1.72	—	—
	苋菜红	$y=30.670x+28.014^{[8]}$	0.9661	0.72	—	—
	红曲红	$y=31.263x-16.944^{[8]}$	0.8760	2.14	—	—

B.2 明亮发光杆菌 EC50 建议表

类型	污染物	曲线方程	相关系数/R ²	EC50 (mg/L)	饮用水限 值(mg/L)	地表水限 值(mg/L)
重 金 属	Cu ²⁺	$y=-7.4184x+87.025^{[9]}$	0.9760	2.5	1.0	1.0 (Ⅲ类水)
	Zn ²⁺	$y=-14.663\ln(x)+22.977^{[9]}$	0.9415	1.07	1.0	1.0 (Ⅲ类水)
	Hg ²⁺	$y=7.0552x-0.2637^{[10]}$	0.9940	0.108	0.001	0.0001 (Ⅲ类水)
	Pb ²⁺	$y=0.0470x+0.2299^{[10]}$	0.9639	5.75	0.01	0.05 (Ⅲ类水)
	Cd ²⁺	$y=0.0338x+0.178^{[10]}$	0.9482	9.53	0.005	0.005 (Ⅲ类水)
	AS ³⁺	$y=0.2363x+0.2575^{[10]}$	0.9793	1.03	0.01	0.05 (Ⅲ类水)
	Cr ⁶⁺	$y=1-(1+\exp(-18.934+22.784\lg(x)))^{-0.4116^{[11]}}$	0.9964	7.907	0.05	0.05 (Ⅲ类水)
Cr ³⁺	$y=\{1+\exp[0.993-9.284((x^{6.081}-1)/6.081)]\}^{-1^{[11]}}$	0.9854	12.16	—	—	
农 药	多菌灵	$y=-3.7804x+98.857^{[12]}$	0.9809	12.92	—	—
	氟硅唑	$y=-2.3041x+94.338^{[12]}$	0.9599	19.24	—	—
	恶霉灵	$y=-1.1927x+95.236^{[12]}$	0.9879	37.9	—	—

	福美双	$y=-223x+88^{[12]}$	0.9292	0.17	—	—
	异稻瘟净	$y=-1.3564x+96.102^{[12]}$	0.9939	33.99	—	—
	乙霉威	$y=-3.5131x+96.82^{[12]}$	0.9861	13.32	—	—
	乙酰甲胺磷	$y=-1.1704x+97.202^{[12]}$	0.9915	40.33	—	—
	乐果	$y=-1.2133x+96.62^{[12]}$	0.9929	38.42	0.08	0.08
	敌敌畏	$y=-1.6519x+101.39^{[12]}$	0.9964	31.11	0.001	0.05
	敌百虫	$y=-5.28x+108.6^{[12]}$	0.9650	11.10	—	0.05
	氰戊菊酯	$y=-1.8857x+94.429^{[12]}$	0.9719	23.56	—	—
	高效氯氰菊酯	$y=-3.1892x+96.649^{[12]}$	0.9913	14.63	—	—
	甲氨基阿维菌素	$y=-3.8404x+98.936^{[12]}$	0.9928	12.74	—	—
	阿维菌素	$y=-7.6875x+111.31^{[12]}$	0.9109	8.04	—	—
	哒螨灵	$y=-3.62x+96.9^{[12]}$	0.9902	12.96	—	—
	杀虫单	$y=-14.714x+90^{[12]}$	0.9784	2.72	—	—
	二氯喹啉酸	$y=-4.1941x+99.836^{[12]}$	0.9602	11.88	—	—
	莎稗磷	$y=-1.7682x+87.471^{[12]}$	0.9468	21.19	—	—
	苯	$y=\{1+\exp[38.5374-12.71g(C)]\}^{-0.0814^{[13]}}$	0.953	241.0	0.01	0.01
	氯苯	$y=\{1+\exp[23.6468-9.671g(C)]\}^{-0.0991^{[13]}}$	0.956	56.0	0.3	0.3
	邻苯二甲酸二甲酯	$y=0.2319x+38.113^{[14]}$	0.9262	51.27	—	—
	邻苯二甲酸二乙酯	$y=0.3286x+29.628^{[14]}$	0.9214	62.00	—	—
	邻苯二甲酸二丁酯	$y=10.80x+15.738^{[14]}$	0.9339	3.17	—	0.003
	戊唑醇	$y=-0.2156x+83.919^{[9]}$	0.9671	106	—	—
非农	己唑醇	$y=-0.2303x+87.055^{[9]}$	0.9091	90.8	—	—
药有	5-氯-2-(2,4-二氯	$y=-11.269x+97.614^{[9]}$	0.9721	4.06	—	—
机物	苯氧基)苯酚					
	三羟基甲烷	$y=-0.0032x+42.619^{[9]}$	0.9999	1560	—	—
	吡啶	$y=-4.3344x+100.91^{[15]}$	0.9875	11.75	—	—
	哇琳	$y=-1.3615x+83.091^{[15]}$	0.9808	24.30	—	—
	异哇琳	$y=-1.6649x+63.712^{[15]}$	0.9798	8.24	—	—
	2-甲基哇琳	$y=-0.8231x+93.016^{[15]}$	0.9873	52.26	—	—
	8-经基哇琳	$y=-50.314x+94.21^{[15]}$	0.9903	0.88	—	—
	碱性紫 5BN (三苯甲	$y=-8.2837x+61.33^{[16]}$	0.6422	1.42	—	—
	烷类)					
	碱性艳蓝 B0 (三苯甲	$y=-6.784x+71.457^{[16]}$	0.9498	3.16	—	—
	烷类)					
染料	还原艳紫 RK (酰胺葱	$y=-3.92x+86.25^{[16]}$	0.9247	9.12	—	—
类	琨类)					
	还原蓝 ER (葱醌类)	$y=-1.67x+76.23^{[16]}$	0.9123	15.66	—	—
	还原红 F3B (葱醌类)	$y=-2.16x+79.79^{[16]}$	0.8896	13.79	—	—
	活性紫 K3R (单偶氮	$y=-0.9135x+97.127^{[16]}$	0.868	51.58	—	—
	铜络合物)					

T/CAQI 6—2020

	活性黑 KBR (单偶氮铬、钴络合物)	$y=-0.2192x+91.009^{[16]}$	0.934	187.1	—	—
	活性艳红 X-3B(单偶氮类)	$y=-0.1772x+85.23^{[16]}$	0.8624	198.8	—	—
	活性艳蓝 KN-R(蒽醌类)	$y=-0.2423x+98.704^{[16]}$	0.9662	201.0	—	—
	直接耐晒黑 G (多偶氮类)	$y=-0.249x+88.272^{[16]}$	0.8441	153.7	—	—
	接湖蓝 5B (双偶氮类)	$y=-0.2208x+97.078^{[16]}$	0.9266	213.1	—	—
	直接黄棕 3G(三偶氮类)	$y=-0.1079x+96.933^{[16]}$	0.9351	434.1	—	—
	弱酸性红 2B(单偶氮类)	$y=-0.6259x+78.285^{[16]}$	0.7732	45.19	—	—
	酸性湖蓝 A (三苯甲烷类)	$y=-0.7703x+96.895^{[16]}$	0.978	60.88	—	—
	酸性媒介青 RRN (单偶氮类)	$y=-0.5088x+98.545^{[16]}$	0.989	95.40	—	—
	溴胺酸 (蒽醌类)	$y=-0.1151x+88.096^{[16]}$	0.823	330.9	—	—
	墨绿 (合成)	$y=-0.2865x+98.226^{[16]}$	0.914	168.3	—	—
	三氯生	$y=8.5927x+0.1724^{[17]}$	0.9157	0.045	—	—
其他	布洛芬	$y=0.0067x-0.0099^{[17]}$	0.9615	75.29	—	—
	阿奇霉素	$y=0.0054x-0.7239^{[17]}$	0.945	226.6	—	—

B.3 青海弧菌 EC50 建议表

类型	污染物	曲线方程	相关系数/R2	EC50 (mg/L)	饮用水限值 (mg/L)	地表水限值 (mg/L)
重金属	Zn ²⁺	$y=-16.24x+100.02^{[18]}$	0.983	3.08	1.0	1.0 (Ⅲ类水)
	Pb ²⁺	$y=-3.05x+95.32^{[18]}$	0.767	14.86	0.01	0.05 (Ⅲ类水)
	Cu ²⁺	$y=-7.15x+103.15^{[18]}$	0.935	7.43	1.0	1.0 (Ⅲ类水)
	Cd ²⁺	$y=-4.80x+96.00^{[18]}$	0.919	9.58	0.005	0.005 (Ⅲ类水)
	Hg ²⁺	$y=10.249x-0.8522^{[10]}$	0.9736	0.132	0.001	0.0001 (Ⅲ类水)
	Cr ⁶⁺	$y=0.0308x-0.1074^{[10]}$	0.9942	19.72	0.05	0.05 (Ⅲ类水)
	AS ³⁺	$y=0.0326x+0.1589^{[10]}$	0.9688	10.46	0.01	0.05 (Ⅲ类水)
	Ni ²⁺	$y=1-\exp(-\exp(2.78 \times \lg x - 6.0270))^{[19]}$	0.9914	126.10	0.02	0.02
Co ²⁺	$y=1-\exp(-\exp(3.65 \times \lg x - 7.3617))^{[19]}$	0.9950	82.48	—	1.0	

	敌敌畏	$y=-1.8095x+102.380^{[20]}$	0.9558	28.9	0.001	0.05
	敌百虫	$y=-0.1427x+98.685^{[20]}$	0.9795	341.2	—	0.05
	杀虫单	$y=-0.1249x+98.798^{[20]}$	0.9788	390.7	—	—
	乐果	$y=-0.0738x+92.043^{[20]}$	0.9549	569.7	0.08	0.08
	甲氨基阿维菌素	$y=-1.8047x+102.020^{[20]}$	0.9449	28.8	—	—
	甲胺磷	$y=-1.0874x+93.454^{[20]}$	0.9075	40.0	—	—
	莎稗磷	$y=-0.7943x+97.634^{[20]}$	0.8977	59.6	—	—
	高效氯氰菊酯	$y=-0.3657x+102.450^{[20]}$	0.8901	143.4	—	—
	恶霜灵	$y=-0.1480x+99.178^{[20]}$	0.9743	332.3	—	—
农药	氰戊菊酯	$y=-0.0805x+92.636^{[20]}$	0.9300	529.6	—	—
	百草敌	$y=1-\exp(-\exp(3.84 \times \lg x - 10.9928))^{[19]}$	0.9986	585.32	—	—
	磺草灵	$y=1-\exp(-\exp(3.37 \times \lg x - 9.9903))^{[19]}$	0.9958	717.97	—	—
	西草净	$y=1-\exp(-\exp(2.34 \times \lg x - 4.8399))^{[19]}$	0.9954	81.66	—	—
	除草定	$y=1-\exp(-\exp(2.03 \times \lg x - 4.6262))^{[19]}$	0.9884	125.56	—	—
	环嗪酮	$y=1-\exp(-\exp(1.80 \times \lg x - 4.7935))^{[19]}$	0.9888	287.69	—	—
	对硝基苯酚	$y=1-\exp(-\exp(1.78 \lg x - 3.4152))^{[21]}$	0.981	51.68	—	0.5
	间硝基苯酚	$y=1-\exp(-\exp(2.12 \lg x - 4.5839))^{[21]}$	0.989	98.48	—	0.5
	邻硝基苯酚	$y=1-\exp(-\exp(1.44 \lg x - 3.0964))^{[21]}$	0.994	78.23	—	0.5
	硝基苯	$y=1-\exp(-\exp(2.18 \lg x - 5.5368))^{[21]}$	0.961	234.58	—	0.017
	对硝基甲苯	$y=1-\exp(-\exp(1.95 \lg x - 7.2906))^{[21]}$	0.964	54.60	—	—
非农药有机物	邻硝基苯胺	$y=1-\exp(-\exp(1.74 \lg x - 1.8014))^{[21]}$	0.988	24.00	—	—
	对硝基苯胺	$y=1-\exp(-\exp(1.36 \lg x - 2.4908))^{[21]}$	0.967	36.33	—	—
	间硝基苯胺	$y=1-\exp(-\exp(2.37 \lg x - 5.8025))^{[21]}$	0.993	199.66	—	—
	3,5-二羟基甲苯	$y=1-\exp(-\exp(2.7 \times \lg x - 7.0123))^{[2]}$	0.9933	290.1	—	—
	2,3-二甲基苯酚	$y=1-\exp(-\exp(2.31 \times \lg x - 5.0109))^{[22]}$	0.9972	101.6	—	—
	对氯苯酚	$y=1-\exp(-\exp(1.73 \times \lg x - 3.2688))^{[22]}$	0.9996	47.76	—	—

T/CAQI 6—2020

	邻氯苯酚	$y=1-\exp(-\exp(1.78 \times \lg x - 4.4642))$ [22]	0.9907	199.1	—	—
	2,4-二氯苯酚	$y=1-\exp(-\exp(1.78 \times \lg x - 3.1377))$ [22]	0.9986	35.66	—	0.096
	对甲苯酚	$y=1-\exp(-\exp(1.86 \times \lg x - 4.0131))$ [23]	0.998	92.03	—	—
	间甲苯酚	$y=1-\exp(-\exp(2.66 \times \lg x - 6.4703))$ [23]	0.992	187.91	—	—
	甲醛	$y=1-\exp(-\exp(2.79 \times \lg x - 4.2732))$ [23]	0.972	33.94	0.9	0.05
	土霉素	$y=0.3993 \ln(x) + 0.9422^{[5]}$	0.9840	0.33	—	—
	磺胺氯吡嗪	$y=1-\exp(-\exp(1.73 \times \lg x - 3.1161))$ [25]	0.9744	63.74	—	—
	磺胺嘧啶	$y=1-\exp(-\exp(1.70 \times \lg x - 3.4671))$ [25]	0.8731	109.22	—	—
抗 生 素 类	磺胺二甲嘧啶	$y=1-\exp(-\exp(1.21 \times \lg x - 2.6979))$ [25]	0.9299	171.60	—	—
	磺胺甲口恶唑	$y=1-\exp(-\exp(0.98 \times \lg x - 1.4254))$ [25]	0.8447	28.41	—	—
	磺胺吡啶	$y=1-\exp(-\exp(0.83 \times \lg x - 1.6491))$ [25]	0.9376	96.95	—	—

附录 C (资料性附录)

水质生物综合毒性在线监测仪性能指标检验方法

C.1 试验条件

C.1.1 环境温度:5°C~45°C;

C.1.2 相对湿度:65%±20%;

C.2 试剂

C.2.1 发光细菌冻干粉试剂。

C.2.2 实验用水: 去离子蒸馏水。

C.2.3 分析纯以上的七水硫酸锌试剂。

C.2.4 分析纯以上的 3,5-二氯苯酚试剂。

C.2.5 乐果标准溶液。

C.2.6 渗透压调节液: 200g/L NaCl 溶液(费氏弧菌)或 300g/L NaCl 溶液(明亮发光杆菌)或 80g/L NaCl 溶液(青海弧菌)。

C.3 试验方法

C.3.1 零点漂移

仪器运行稳定后,连续测量新制备的去离子水或蒸馏水 24h。绝对值最大的零点示值为发光细菌生物综合毒性在线监测仪的零点漂移。

C.3.2 零点核查

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

C.3.3 标样核查

将反应时间设定为 15min; 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 2.2mg/L, 该浓度下的锌离子 (Zn^{2+}) 溶液测试结果为标样核查结果。

C.3.4 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 (1) 计算生物毒性在线监测仪的定量测量重复性, 应符合表性能指标 4.2.1 的要求。

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

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 ($i=1\sim n$)；

n ——测量次数 ($n \geq 6$)。

C.3.5 Zn^{2+} 加标评估

将反应时间设定为 15min；导入锌离子加标水样，使反应溶液中锌离子 (Zn^{2+}) 最终浓度达到 2.2mg/L，该浓度下的锌离子 (Zn^{2+}) 溶液测试结果为 Zn^{2+} 加标结果，应符合表性能指标 4.2.1 的要求。

C.3.6 3,5-二氯苯酚加标评估

将反应时间设定为 15min；导入 3,5-二氯苯酚加标水样，使反应溶液中 3,5-二氯苯酚最终浓度达到 3.4mg/L，该浓度下的 3,5-二氯苯酚溶液测试结果为 3,5-二氯苯酚加标结果，应符合表性能指标 4.2.1 的要求。

C.3.7 乐果标准溶液加标评估

将反应时间设定为 15min；导入乐果标准溶液加标水样，使反应溶液中乐果标准溶液最终浓度达到 7.76mg/L，该浓度下的乐果标准溶液溶液测试结果为乐果标准溶液加标结果，应符合表性能指标 4.2.1 的要求。

C.3.8 平均无故障运行时间

仪器连续运行至少 2 个月，总运行时间与故障次数的比值为平均无故障连续运行时间 (MTBF)。

附 录 D
（资料性附录）
水质生物综合毒性在线监测仪检测记录表

表 D.1 水质生物综合毒性在线监测仪检测记录表

检测评估对象	性能验收或评估项目	检查结果	分析结果	备注
水质生物综合毒性在线监测仪	零点漂移 (24h)			
	零点核查			
	标样核查 (2.2mg/L Zn ²⁺)			
	重复性			
	水样加标评估 Zn ²⁺ (2.2mg/L)			
	水样加标评估 3,5-二氯苯酚 (3.4mg/L)			
	水样加标评估乐果标准溶液 (7.76mg/L)			
	平均无故障运行时间			

参考文献

- [1] Bulich A A. Practical and reliable for monitoring the toxicity of aquatic sample [J].Process Biochemistry, 1982, 17(2): 45-47.
- [2] 蒋园芳.发光细菌检测水中综合毒性[J].科技资讯, 2018, (30): 215-217.
- [3] 朱丽娜,刘瑞志,夏建新.基于发光细菌法的水体重金属标准限值毒性评价[J].环境与健康杂志, 2003, 30(1): 52-55.
- [4] 李汝, 逯南南, 李梅, 等.费氏弧菌综合毒性法对不同种类污染物的应急监测试验研究[J].安全与环境工程, 2015, 22(4): 104-109.
- [5] 王婧.费氏弧菌和青海弧菌在抗生素检测技术中的应用研究[D].西北农林科技大学, 2011.
- [6] 李翔, 潘力, 王斌.黄曲霉毒素对费氏弧菌发光的影响[J].微生物学报, 2011, 51(12): 1669-1674.
- [7] 李孟涵, 贺子琪, 苗家赫.重金属 Pb 与抗生素对发光菌的联合毒性研究[J].农业环境科学学报, 2020,
- [8] 郭柔杉, 李翔, 潘力.发光费氏弧菌对常用色素的生物毒性评价[J].生物工程, 2013, (2): 210-213.
- [9] 李璇, 蔡磊明, 汤保华, 等.几种有机化合物与重金属对发光细菌的联合毒性[J].农药, 2011, 50(5): 365-367.
- [10] 皇甫鑫, 廖翀, 杨坪, 等.不同发光菌对金属化合物的毒性效应及敏感度差异研究[C].四川省第十一次环境监测学术交流会议论文集, 四川省环境科学学会环境监测专委会, 2010.
- [11] 熊德琪, 田慧捷, 杨柏林, 等. Cr^{6+} 和 Cr^{3+} 对两种海洋生物的毒性敏感性比较[J].海洋环境科学, 2012, 31(4): 484-487.
- [12] 吴淑杭, 周德平, 徐亚同, 等.18种农药对发光细菌的急性毒性研究[J].农业环境科学学报, 2007, 26(6): 2267-2270.
- [13] 杨柏林, 丁光辉, 李大伟, 等.苯和氯苯对发光细菌联合毒性的测定及预测[J].大连海事大学学报, 2010, 36(1): 83-85.
- [14] 李海燕, 王平, 刘雯, 等.酞酸酯 DMP、DEP 和 DBP 对明亮发光杆菌的毒性研究[J].生态环境学报, 2015, 24(1): 121-125.
- [15] 江敏, 顾国维, 李咏梅.6 中含氮杂环化合物对发光细菌的毒性研究[J].上海环境科学, 2003, 22(12): 931-934.
- [16] 党亚爱, 王国栋, 辛宝平, 等.利用发光菌评价 17 种染料的毒性效应[J].西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(3): 183-186.
- [17] 方政, 董玉瑛, 赵晶晶, 邹学军.3 种不同功效医药品活性成分对发光菌的毒性作用[J].生态毒理学报, 2018, 13(4): 185-190.
- [18] 张欢.基于发光细菌的饮用水质检测系统研究[D].山东师范大学, 2017.
- [19] 宋晓青, 刘树深, 刘海玲.部分除草剂与重金属混合物对发光菌的毒性[J].生态毒理学报, 2008, 3(3): 237-243.
- [20] 杨洁, 张金萍, 徐亚同, 等.11 种农药对淡水发光细菌青海弧菌 Q67 的毒性研究[J].环境污染与防治, 2011, 33(4): 20-24.
- [21] 覃记杰, 刘树深.八种硝基苯类化合物对发光菌的联合毒性[J].南方国土资源, 2007, (7): 28-30.
- [22] 莫凌云, 刘海玲, 刘树深, 等.5 种取代酚化合物对淡水发光菌的联合毒性[J].生态毒理学报, 2006, 1(3): 259-264.
- [23] 黄伟英, 刘树深, 莫凌云, 等.9 种酚及其混合物对淡水发光菌的毒性作用[J].桂林工学院学报, 2008, 28(1): 82-85.
- [24] 刘树深, 刘芳, 刘海玲.20 种水溶性有机溶剂对发光菌的毒性效应[J].中国环境科学, 2007, 27(3): 371-376.
- [25] 丁婷婷, 张瑾, 董欣琪, 等.磺胺类抗生素对青海弧菌 Q67 的浓度比依赖性拮抗作用[J].农业环境

科学学报，2017，36（11）：2199-2206.