**《水质生物毒性在线监测仪（电化学分析方法）》编制说明**

# 一、工作简况

1. **任务来源**

项目名称：“水质生物毒性在线监测仪（电化学分析法）”团标制定。

主要起草单位：吉林市光大分析技术有限责任公司。

计划应完成时间：2021年5月。

1. **主要工作过程**

**1) 准备阶段**

微生物通过呼吸作用把电子从微生物转移到电子媒介体。当有毒性物质存在时，微生物的呼吸作用受到抑制，呼吸过程中产生的电子减少，从而使微生物向媒介体传递的电子减少，因此，检测微生物呼吸作用受抑制的程度，即电子从微生物向电子媒介体的传递量，就可以定性给出水体生物毒性指标。

生物毒性被定义为试样进入微生物反应器前后微生物呼吸速率受到的抑制程度。抑制率（inhibition%）通过对比试样进入微生物反应器前后，电子媒介体从微生物接受电子数量的比值获得。

当微生物的呼吸受到抑制，生物不能正常呼吸，甚至死亡，水体便会变黑、发臭。所以水质生物毒性的监测，对于环境的预警具有重要意义。

**2) 起草阶段**

a) 对标准中涉及的关键技术要素，进行了专题理论研究与专项技术论证工作；

b) 计划在所起草的标准中进行针对性解决，以保证标准起草编制的适用性、实用性和可操作性；

c) 对规范国产在水质生物毒性在线监测仪的产品质量与科技创新方面进行了专项实验研究与产品开发实践工作。

**3) 送审阶段**

（待续）┄┄

**4) 报批阶段**

（待续）┄┄

1. **主要参加单位和工作组成员及其所做的工作**

为了保证标准的适用性、实用性和可操作性，组建了以生产、科研与用户为一体的标准起草小组。

主要参加单位：吉林市光大分析技术有限责任公司、吉林省计量科学研究院，吉林省生态环境监测中心，吉林省四平生态环境监测中心。

起草工作小组成员的职责分工和所做的工作范围：

承学东任起草小组组长，负责本标准全面组织协调工作。

由丽为本标准主要执笔人，负责本标准的起草和编写，翟俊峰负责进行现场的情况调研、关键技术的试验研究与技术论证工作。

# 二、标准编制原则和主要内容

**1. 标准编制原则**

目前，国内在水质生物毒性在线监测仪研发方面仍处于起步阶段。根据ISO 11348、OECD 209、英国剑桥大学《Rapid detection of toxicity in wastewater:recent developments with manometric respirometry》中提及的相关内容，对该类仪器系统的技术性能要求、性能指标及检测方法的总体技术要求。

本标准的编制需符合国家产业政策与发展原则，本着先进性、科学性、合理性和可操作性的编制原则以及标准的目标、统一性、协调性、适用性、一致性和规范性要求进行本标准的起草制定工作。

本标准在起草过程中，主要依据以下标准进行编制：

GB/T 191-2008 包装储运图示标志

GB/T 6682-2008 分析实验室用水标准

GB/T 13306-2016 标牌

GB/T 11606-2007 分析仪器环境试验方法

GB/T 13384-2008 机电产品包装通用技术条件

GB/T 34065-2017 分析仪器的安全要求

**2.标准的主要内容**

### 1) 要求

该部分内容依据GB/T 11606分析仪器环境试验方法、GB/T 13966-2013分析仪器术语、GB/T 34065分析仪器的安全要求等相关规定，并结合生产实际在本标准中做出了具体规定和要求。另外，依据GB/T 13384机电产品包装通用技术条件、GB/T 191 包装储运图示标志的要求对水质生物毒性在线监测仪的分类、试验方法、检验规则与产品的标志、包装、运输、贮存提出了明确的规定和要求。

### 2) 标准中主要内容的论据

**①适用范围的论据**

为贯彻执行中华人民共和国环境保护法、中华人民共和国水污染防治法，提高我国水体环境在线监测的能力，实现水质监测的自动化和现代化，达到地表水水质监测预警污染源总量监测与控制的目的，需要制定水质生物毒性在线监测仪相关标准。

**② “主要技术性能指标”论据**

根据对水质生物毒性在线监测仪样机的测试实验，每台产品的例行出厂检验以及该产品每年的确认型式试验等所记录的数据。

**a）**示值误差

测量某一固定试样，重复测量3次，记录各次测定值，按照公式计算，取绝对值最大者。



式中：

——示值误差，无单位，；

—— 仪器测量三次的平均值，用呼吸抑制率表示，无单位；

—— 仪器测量值，用呼吸抑制率表示，无单位。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 仪器数值 | | 平均值 | 相对误差 |
| 1 | 7.2% | 2.97% | -4.23% |
| 2 | 0.6% | -0.60% |
| 3 | 1.1% | -1.10% |

**b) 精密度**：测量某一固定试样，重复测量6次，记录各次测定值，按照公式计算标准偏差S。要求检测的S≤10%。



式中：

n —测量次数；

*x*i ——第i次测量值；

—i次测量值的平均值。

试验数据参照下表：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 仪器数值 | 1 | -1.1% |
| 2 | 6.7% |
| 3 | 1.7% |
| 4 | -0.4% |
| 5 | 2.7% |
| 6 | -0.5% |
| 平均值 | | 1.52% |
| 精密度S（标准偏差%） | | 2.93 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 仪器数值 | 1 | 1.5 % |
| 2 | 1.7 % |
| 3 | 2.1% |
| 4 | -4.7% |
| 5 | -3.0% |
| 6 | -0.4% |
| 平均值 | | -0.47% |
| 精密度S（标准偏差%） | | 2.81 |

**c) 毒性检出实验：**

a) DCP检验

在待测试样中加入DCP(3，5-二氯苯酚)至5mg/L，记录测试结果。重复试验三次，数据结果均显示呼吸抑制率超出10%，视为检出。

b) 二氯化汞检验

在待测试样中加入二氯化汞至0.02mg/L，记录测试结果。重复试验三次，数据结果均显示呼吸抑制率超出10%，视为检出。

以上两种试样均检出，视为合格。

加入3,5二氯苯酚的试验数据参照下表：

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 3,5二氯苯酚的浓度（mg/L） | 平行1 | 平行2 | 平行3 | 平均值 | 结论 |
| 1 | 4.6% | 6.4% | 3.5% | 4.8% | 无法检出 |
| 4 | 10.3% | 8.5% | 8.6% | 9.1% | 偶尔检出 |
| 5 | 25.9% | 17.6% | 11.4% | 18.3% | 稳定检出 |
| 8 | 50.2% | 56.7% | 61.2% | 56.0% | 稳定检出 |

加入二氯化汞的试验数据参照下表：

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 二氯化汞的浓度（mg/L） | 平行1 | 平行2 | 平行3 | 平均值 | 结论 |
| 0.01 | 6.9% | 8.5% | 10.4% | 8.6% | 偶尔检出 |
| 0.02 | 12.4% | 11.5% | 14.8% | 12.9% | 稳定检出 |
| 0.35 | 46.0% | 58.7% | 56.2% | 53.6% | 稳定检出 |

**d.** 环境温度影响

仪器正常运行期间，取一份试样，按照20℃-5℃-20℃-40℃-20℃的顺序，每次变换温度后，仪器稳定1小时，连续测定3次。以20℃条件下测量值的平均值为*Cs*，按照公式分别计算5℃和 40℃条件下3吃测定值的平均值*Ci*相对于*Cs*的相对误差*ΔTt*，其中绝对值较大者作为环境温度影响试验的判定值。



式中：

*ΔTt*— 环境温度影响，%；

*Ci* — t 为 5℃或40℃时，3次测量值的平均值，%；

*Cs* — 20℃条件下9次测量的平均值，%。

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 环境温度 | | 20℃ | 20℃ | 20℃ | 5℃ | 40℃ |
| 仪器数值 | 1 | 2.5% | 1.3% | 1.6% | 3.6% | 4.7% |
| 2 | 1.5% | 2.6% | 5.9% | 1.8% | 3.2% |
| 3 | 1.7% | 3.7% | 2.9% | 2.4% | 2.4% |
| 平均值 | | 2.63% | | | 1.3% | 3.4% |
| *ΔTt* (%) | | -- | | | -1.33 | 0.80 |

e.电压影响试验

仪器正常运行期间，取一份试样，仪器在初始电压220V条件下测试3次；条件电压至242V，测定同一份试样3次；再调节电压至198V，测定同一个试样3次，以220V条件下3次测量值的平均值为*Vs*，按照公式分别计算242V和198V条件下3次测量值的平均值*Vi*相对于*Vs*的相对误差，其中绝对值较大者作为电压影响试验的判定值。



式中：

*ΔV*— 电压影响，%；

*Vi* — 某电压条件下，3次测量值的平均值，%；

*Vs* — 220V条件下3次测量的平均值，%。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 电源电压 | | 220V | 198V | 242V |
| 仪器数值 | 1 | 3.4% | 4.8% | 4.5% |
| 2 | 2.2% | 1.6% | 3.3% |
| 3 | 3.7% | 2.2% | 2.0% |
| 平均值 | | 3.10% | 2.87% | 3.27% |
| *ΔV* | | -- | -0.23% | 0.17% |

**3.解决的主要问题**

本标准提出了水质生物毒性在线监测仪产品的分类、配置、主要技术性能要求、试验与使用条件、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存。随着本标准的发布实施，在保证标准的时效性、推广生物毒性在线监测仪产品及其应用方面都提供了技术支撑。

本标准的发布实施对规范水质生物毒性在线监测仪产品市场、指导生产、提高产品的技术性能、产品的适用性、安全、可靠性以及环境保护性能都非常有益。

本标准的发布实施能更好的满足仪器仪表市场和用户的实际要求，对提升我国环境水监测水平具有十分重要的作用。

# 三、主要试验（或验证）情况

目前，国内外普遍采用的传统的实验室方法或便携式仪器，每次测试需要重新清洗电极或者更换电极，因此在测试方式上不具备在线连续检测能力。相比传统方法，此方法具有操作简单、测量时间短、人工成本低等特点。

水质生物毒性在线监测仪的原理是是电极法，测量水体的微生物呼吸抑制作用。

1. 在线接触式电极的清洗方法

在尝试了多种常规清洗方法无效的情况下，我们认识到去除电极表面的吸附物不是“清洗”的目的，它只是清洗的具体操作方法和过程。清洗的目的是提高电极在具体使用环境中的适应性，从而使得检测信号变得稳定，可靠。在实际使用过程中，电极的污染主要是由污染物在电极表面的吸附造成的。考虑到吸附是一个过程，且其动力学会随着时间的延长而变慢。因此，如果不能有效的去除掉表面吸附物，恢复电极的活性面积，那么就应该允许电极预先吸附足够多的污染物，从而降低测试过程中污染物分子在电极表面的吸附动力学，使得电极在测试过程中保持基本不变的电化学活性面积，或者保证活性电极面积减少产生的信号降低程度在仪器误差允许范围内。基于这种策略，我们设计了以预先吸附污染物为基础的电极清洗方法。在这个方法中，我们将电极的等待测试的过程分为两步：第一步是测试结束后，将电极浸泡到 10 倍生理盐水浓度的氯化钠溶液中。高浓度的氯化钠溶液避免了生物膜在电极表面的生长；第二步是在下个试样到达测试区进行测试前 15 分钟，电极离开氯化钠溶液重新浸泡到仍然停留在测试区的试样溶液中，从而可以在电极表面吸附足够维持其测试信号稳定的污染物。通过预先吸附的方法，电极信号的稳定性得到了明显的提升。此外，这种方法得以实现的前提是仪器采用的空间位置转换的机械结构。而此仪器则通过开发具有专利权的新颖的接触式电极清洗维护方法，解决了电化学检测中常见的电极污染问题，保证了在线连续检测信号的稳定性和可靠性，实现了在线连续检测功能。

2. 多种操作步骤的平行执行

仪器设计了空间位置转换的动态机械结构，使得加药、清洗操作，反应停留操作和检测操作由原本的顺序过程变成可以在不同的位置同时进行的平行操作，缩短了单个试样的检测时长（小于一小时）。

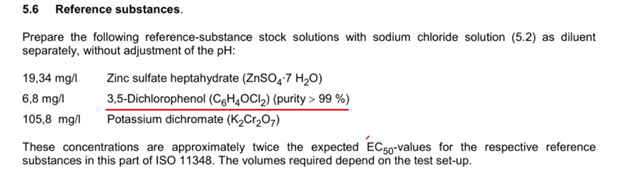
为了满足“保证反应时长的同时又不增加试样检测周期时长的现实要求”，我们设计了空间位置变化的机械结构，将仪器分成加药-清洗区、反应区和检测区三个部分，通过控制三组反应器分别位于仪器的三个区域（每个区域一个反应器）并在反应区之间进行循环变换，实现了检测过程中多种操作步骤的平行执行。此时，单个试样的检测时长不再是各种操作步骤所需时间的叠加，而是与最耗时的功能区（即反应区）的操作时长一致。在空间位置变化的机械结构中，使用了转台，并以转台为中心进行 120 度角的三等分，形成三个功能区。将三组反应容器固定在转台上，使三个反应容器分别位于不同的三个反应器，且相邻组反应容器的夹角为120 度。使用机械手夹持进样针和电化学检测器，在各自的功能区内完成加药、清洗和检测的操作。这种空间位置变化的机械结构缩短了单个试样的检测周期，去掉了反应容器内溶液向检测器输入的管路，从而免去了对此段管路的清洗操作，同时也简化了在线式电极清洗方法的执行过程。

3.随时间变化的基线的调整

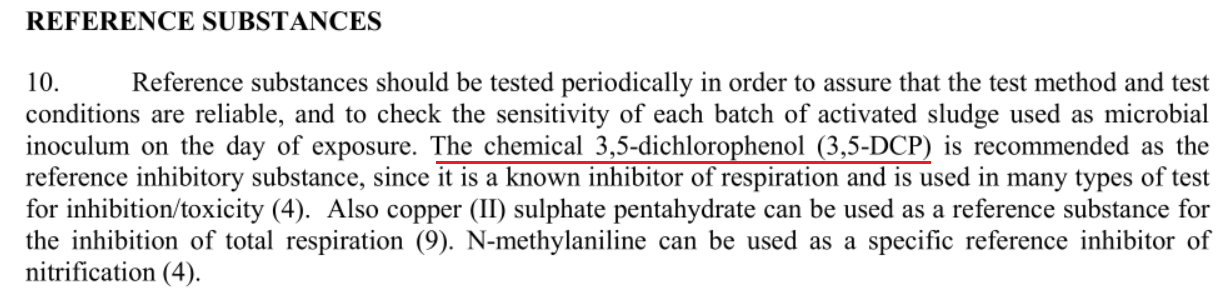
此仪器则具有微生物保存功能，可以满足不同水体的使用需求。需要指出的是，微生物的保存应用效果受到微生物活性随着保存时间延长而下降的影响。为了实现水体毒性的在线检测，仪器内放置了可控制温度在 4°C 的冰箱，并将预先培养好的微生物放入冰箱中保存。随着保存时间的延迟，微生物的活性会逐渐下降，从而导致测试的电流值下降。另外一方面，仪器采用了水样和标准试样同时检测的方法，通过对水样和标准试样的电流值差异实现对水体毒性的检测。由于加热效率的差异，以及水样来水温度的波动，标准试样和水样之间的温度差会有波动。而微生物的活性与温度相关，因此水样和标准样品之间的温度差会影响到水样和标准样品的电流差异程度。同时温度对不同存放时间的微生物的活性影响差异也不明确。我们根据检测原理开发的随时间变化的基线调整策略，将微生物活性的变化纳入到系统误差中，解决了微生物活性变化对检测结果的影响，保证了在线检测结果的准确性。

4.毒性物质的选择

在验证毒性物质的检测是否可以被检出的过程当中，我们经过严格筛选，选用了3,5-二氯苯酚。其主要依据为：发光细菌法国际标准ISO 11348-3（图一）以及OECD/OCED 209（图二）中都对3,5二氯苯酚进行了推荐，认定它作为毒性检测的参照毒性物质。所以我们选用的3,5二氯苯酚更具有代表性和广泛应用性。



**图一：发光细菌法国际标准推荐毒性参照物**



**图二：OECD推荐毒性参照物**

# 四、标准中涉及专利问题

本标准不涉及专利问题。

# 五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

本标准规定了水质生物毒性在线监测仪的术语和定义、技术要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存等。为产业结构调整和产品开发、优化提供了技术支撑。在本标准的发布实施之后，可以有效地解决国内企业从事生产水质生物毒性在线监测仪过程中共同遵守的技术依据，加快企业自身的结构调整和产品升级，推动行业和技术的进步，在市场激烈的竞争中获得领先地位和优势的竞争力。

本标准的发布实施对科研、生产制造、规范市场管理、现场使用等方面都提供了技术帮助。

# 六、与国际、国外对比情况

本标准没有采用国际标准。

本标准在制定过程中未查到同类国际标准。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

本标准水平为国内先进水平。

# 七、在标准体系中的位置、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。

# 八、重大分歧意见的处理经过和依据

无。

# 九、标准性质的建议说明

建议本标准的性质为推荐性团体标准。

# 十、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准发布后立即实施。

建议企业可依据本团体标准的规定和要求在企业内部建标或对原标准进行修订，并根据团体标准实施时间要求制定企业整改和其它过渡措施。

# 十一、废止现行相关标准的建议

无。

# 十二、其它应予说明的事项

无。