

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20160330004

邓桂荣, 梅承芳, 柳燕贞, 等. 稳健统计在快速生物降解性试验质量分析中的应用[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(6): 259-265

Deng G R, Mei C F, Liu Y Z, et al. Application of robust statistic method in quality analysis of ready biodegradability test [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(6): 259-265 (in Chinese)

稳健统计在快速生物降解性试验质量分析中的应用

邓桂荣^{1,2,3}, 梅承芳^{1,2,3}, 柳燕贞^{1,2,3}, 张宏涛^{1,2,3,4}, 陈泽芳^{1,2,3}, 曾国驱^{1,2,3,*}

1. 广东省微生物分析检测中心 生态毒理与环境安全实验室, 广州 510070
2. 广东省微生物研究所 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广州 510070
3. 省部共建华南应用微生物国家重点实验室, 广州 510070
4. 佛山市环境健康与安全评价研究中心, 佛山 528000

收稿日期: 2016-03-30 录用日期: 2016-05-05

摘要: 快速生物降解性试验在新化学物质的生态毒理测试中占据重要地位, 其测试数据的可靠性直接影响后续的检测策略和物质的申报登记、以及新化学物质进入环境后的风险管理。为研究 OECD 301 系列试验(301B、301D 和 301F)的质量, 选用本机构近 5 年来积累的标准化物质苯甲酸钠 14 d 快速生物降解率数据, 首次采用稳健统计技术, 以稳健总计统计量的 Z 比分数作为评价指标, 对各试验数据和试验系统的质量开展评估。结果显示, 当 301B、301D 和 301F 试验的苯甲酸钠降解率分别在 63.8%~88.0%、63.4%~89.2% 和 66.0%~99.8% 范围内时, 表明测试结果满意, 该批次试验数据质量良好; 若苯甲酸钠降解率不在此范围, 则表明测试结果可能存在问题, 甚至得到的可能是错误数据, 需要进一步验证。据此提出了对实际测试工作具有指导意义的质量分析对照表, 以期对测试机构开展新化学物质快速生物降解性试验时的质量分析提供参考。

关键词: 苯甲酸钠; 快速生物降解性试验; 稳健统计; Z 比分数; 质量分析

文章编号: 1673-5897(2016)6-259-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Application of Robust Statistic Method in Quality Analysis of Ready Biodegradability Test

Deng Guirong^{1,2,3}, Mei Chengfang^{1,2,3}, Liu Yanzhen^{1,2,3}, Zhang Hongtao^{1,2,3,4}, Chen Zefang^{1,2,3}, Zeng Guoqu^{1,2,3,*}

1. Laboratory of Ecotoxicity and Environmental Safety, Guangdong Detection Center of Microbiology, Guangzhou 510070, China
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China
3. State Key Laboratory of Applied Microbiology, Southern China, Guangzhou 510070, China
4. Foshan Research Center for Environmental Health and Safety Assessment, Foshan 528000, China

Received 30 March 2016 accepted 5 May 2016

Abstract: Ready biodegradability test plays an important role in ecotoxicity testing of new chemicals. The reliability of ready biodegradation test results directly determines the subsequent testing strategy and affects the registration and declaration of new chemical substances, as well as the risk management after entering environment. In order to

基金项目: 新材料环境健康安全评价科技创新服务平台(广东省科技计划项目, 2013B090800004)

作者简介: 邓桂荣(1984-), 男, 工程师, 研究方向为生态毒理学, E-mail: deng8818@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: zengguoqu@gddcm.com

study the data quality of ready biodegradability series tests (OECD 301B, 301D and 301F), *Z*-score of robust statistics method was firstly used to analyze the 14 d biodegradation data of sodium benzoate which were produced by our laboratory in the past 5 years. The results showed that, when the biodegradation rates of sodium benzoate of 301B, 301D and 301F are within the range of 63.8%-88.0%, 63.4%-89.2% and 66.0%-99.8%, respectively, it indicates that the test results are satisfactory and the data quality are good. Otherwise, it means that there are some problems with the data and further verification is needed. As a result, a comparison table of quality analysis of ready biodegradability test was constructed for providing the references for quality analysis of ready biodegradability test of new chemical substances.

Keywords: sodium benzoate; ready biodegradability; robust statistic; *Z*-score; quality analysis

化合物快速生物降解性是有机物作为唯一碳源在限定时间内与微生物接触表现出的生物可降解能力^[1],是鉴别化学物质的环境危害性和持久性、进行分类和标签^[2]、评估和控制环境风险^[3]的基本指标,也是我国实施新化学物质申报登记制度,对其进行环境风险管理的重要基础^[4-5]。因此快速生物降解性试验数据的科学性、可靠性意义重大。而能基本确保试验数据经得起推敲和质疑的,是与各快速生物降解性试验配套的一系列质量控制指标,比如 14 d 程序对照组和毒性对照组的生物降解率等。

在经济合作与发展组织(OECD)的 6 种经典快速生物降解性测试方法^[6]中,判定试验系统是否有效的重要观测点是阳性参比物 14 d 的生物降解率是否达到了“通过水平”,即生物降解率大于 60% 或 70%。然而,即使参比物的降解率达到方法的最低要求,试验数据依然具有较大的可变性,严格来说并不能因此就断定所得数据是科学、可靠的,有必要开展进一步的质量分析,评估该数据的可接受程度,进而对试验系统的运行状况做出有效判断。近年来我国环境压力不断加大,新化学物质的管理也日趋严格,但主管部门的关注点仅限于所提供数据之于测试标准的遵循性和符合性,对数据质量未做额外要求。作为提供新化学物质测试数据且符合良好实验室管理规范(GLP)的测试机构,采用科学的统计方法对即将用于申报的快速生物降解性试验数据开展进一步的质量评估具有重要的科学意义和应用价值。目前,国内尚无关于快速生物降解性数据质量分析的相关研究和报道。

本文利用近 5 年来采集的 OECD 快速生物降解性 301 系列试验^[7](301B: CO₂ 产生试验^[8], 301D: 密闭瓶法试验^[9]和 301F: 测压呼吸计量法试验^[10])中苯甲酸钠的 128 个标准化的快速生物降解率数据,采用稳健统计分析技术,以基于稳健总计统计量的

Z 比分数作为表征和评价指标,评估试验数据和试验系统的质量,并给出对实际测试工作具有指导意义的质量分析对照表,以期为测试机构开展新化学物质快速生物降解性试验时进行质量分析提供参考。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试剂

苯甲酸钠(≥99.5%)、磷酸二氢钾(≥99.0%)、三水合磷酸氢二钾(≥99.0%)、十二水合磷酸氢二钠(≥99.0%)、氯化铵(≥99.5%)、无水氯化钙(≥96.0%)、七水合硫酸镁(≥99.0%)、六水合氯化铁(≥99.0%)。

以上试剂中,苯甲酸钠作为标准推荐使用的参比物之一,加入到试验系统,其余用于配制试验培养基。所有试剂均为分析纯,购自广州化学试剂厂。

1.2 仪器设备

301B: 3 L 烧瓶(2 L 反应液),数显滴定仪(Titrette, 德国, BRAND GMBH + CO KG),脱 CO₂ 装置,空气流量计;

301D: 300 mL BOD 瓶(充满反应液),溶解氧测定仪(Multi 3430, 德国, WTW);

301F: 500 mL 试验瓶(一定体积反应液,留有上层顶空),测试系统(OxiTop[®] Control, 德国, WTW),生化培养箱(SHP-350, 中国,上海精宏实验设备有限公司)。

1.3 接种物的采集与准备

试验所用的接种物取自广州地区 2 家主要处理生活污水且运行状况良好的污水处理厂。

根据测试标准推荐,301B 和 301F 试验取用曝气池末端的活性污泥,采集后去除粗糙颗粒和浮在表面上的杂质,再用试验培养基离心清洗,弃除上清液,并将此接种物重新悬浮于试验培养基中,在均匀状态下取少量悬浮液测定混合液悬浮固体浓度(MLSS)^[11]。试验前,使用试验培养基将其浓缩或稀释,得到活性污泥浓度为 4.0 g·L⁻¹(以干重计)的接种

物。保持有氧状态直至使用。

301D 试验取用二级出水,不含有菌胶团。使用前,采用营养琼脂培养基测定其可培养细胞总数^[12],达到 $10^4 \sim 10^6 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 培养基,方能满足测试标准的要求。

1.4 试验条件

所开展的尽管都是快速生物降解性试验,但各个类型试验的条件存在一定差异^[13],具体见表 1。

1.5 方法

按照我国《化学品测试方法》^[1,14]和 OECD 化学品测试导则^[7]中的标准条件进行试验,所有试验均遵循 GLP 规范的要求^[15-16],操作步骤按照标准操作程序(SOP)的规定实施。

1.5.1 301B 试验

在已接种的无机培养基中加入适量的苯甲酸钠作为唯一有机碳源。在黑暗条件下,用脱 CO_2 的空气以受控速率对试验培养基进行曝气。通过测定 CO_2 的产生量来确定苯甲酸钠的降解率。 CO_2 用氢氧化钡溶液吸收,使用 Titrette 数显滴定仪测定剩余的氢氧化钡来测定 CO_2 产生量。苯甲酸钠产生的 CO_2 数量用理论二氧化碳(ThCO_2)的百分率来表示。

1.5.2 301D 试验

将苯甲酸钠溶于试验培养基,接种适量二级出水后,分装至 BOD 瓶中,使 BOD 瓶完全装满,轻轻拍打 BOD 瓶以去除任何气泡。密闭 BOD 瓶后置于试验条件下培养,并在试验期间使用 Multi 3430 溶解氧测定仪追踪测定溶解氧消耗^[17]来计算生物降解率。

1.5.3 301F 试验

向一定体积已接种的无机培养基中加入已知浓度的苯甲酸钠贮备液作为唯一有机碳源,密闭试验瓶后在试验条件下连续搅拌培养。通过 OxiTop[®] Control BOD 测试系统测定瓶内压力的变化,可得到耗氧量。释放的 CO_2 用 NaOH 颗粒吸收。苯甲

酸钠生物降解过程中的耗氧量用空白对照组校正,微生物种群吸收氧的量以理论需氧量(ThOD)的百分率来表示。

1.6 数据统计

1.6.1 301B 试验降解率的计算

本试验以氢氧化钡溶液作吸收剂,根据 HCl 滴定体积,计算空白对照组和苯甲酸钠试验组所产生的 CO_2 量,二者之差即为苯甲酸钠生物降解产生的 CO_2 量。将 CO_2 量除以加入试验体系的苯甲酸钠的 TOC 含量与以碳转换 CO_2 系数 3.67 的乘积,即为苯甲酸钠降解百分率^[8]。

1.6.2 301D 和 301F 试验降解率的计算

用第 14 天的苯甲酸钠试验组耗氧量减去相应的空白对照组耗氧量,再除以苯甲酸钠浓度,得到用毫克氧比毫克苯甲酸钠表示的 BOD,结合 ThOD 可计算 301D 试验中苯甲酸钠降解百分率^[9]。

301F 试验中苯甲酸钠降解百分率计算方法类似于 301D 试验,只需用测得的 BOD 替代耗氧量计算即可^[10]。

1.6.3 降解百分率的稳健统计

稳健统计前,应用 SPSS Statistics 16.0 软件的单个样本的 K-S 检验 (One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test),对各试验的苯甲酸钠降解率数据进行正态分布检验。

针对 2010 年至 2014 年在本机构开展的 128 个标准化的苯甲酸钠 14 d 快速生物降解性结果,使用通用的稳健统计方法^[18-22]处理,计算稳健 Z 比分数,分析各数据在总体数据中所处的位置。

计算公式:

$$Z = (X - X_m) / \text{标准化 IQR}(X)$$

式中:

Z—稳健比分数; X—降解率结果; X_m —各类型试验所有降解率数据的中位值; 标准化 IQR—即 IQR

表 1 快速生物降解性试验条件

Table 1 Test conditions of ready biodegradability tests

指标 Indexes	OECD 301B	OECD 301D	OECD 301F
接种物 Inoculum	活性污泥 Activated sludge	二级出水 Secondary effluent	活性污泥 Activated sludge
接种物浓度 Inoculum concentration	$30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$	$28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
苯甲酸钠浓度 Sodium benzoate concentration	$21.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$33.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
试验温度 Incubation temperature	$(22 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$	$(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$	$(22 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$
光照条件 Light	黑暗 Dark	黑暗 Dark	黑暗 Dark
试验方式 Incubation way	曝气搅拌 Aerating and stirring	静置 Static	搅拌 Stirring

与因子 0.7413 的乘积。

所涉及的统计量还有四分位数值、变异系数、最小值、最大值和极差等。

应用 Microsoft Office Excel 2003 软件^[23]作稳健 Z 比分数序列图,图中按照大小的顺序显示出各试验数据的稳健 Z 比分数,并标有相应的试验编号。

将各降解率结果换算为概率单位^[24]后,使用 origin 8 软件以概率单位对试验编号作图。

2 结果与分析 (Results and analysis)

表 2 给出了各类型试验数据统计结果。

K-S 检验结果表明,301B、301D 和 301F 试验的苯甲酸钠降解率数据的双尾渐进显著性概率分别为 0.723、0.705 和 0.830,均大于 0.05,因此所得数据服从正态分布,适用基于稳健总计统计量的 Z 比分数统计。

评价数据时,采用稳健 Z 比分数作为评价指标,该值受数据中离群值影响较小。Z 比分数的“+”

与“-”分别代表了某个测试值偏离中位值的方向,也反映该测试值的系统误差,同时还反映测试值与稳健值的偏离程度,Z 比分数越接近 X 轴,表示当次苯甲酸钠降解率结果偏离程度越小,数据的可接受程度越高,相反,偏离程度越大,相应批次试验所得数据越趋于异常。依据评价原则^[18,25],当 $|Z| \leq 2$ 时表示测试结果满意,该批次试验数据质量良好;当 $2 < |Z| < 3$ 时表示结果可能存在问题,项目负责人(SD)应引起重视,并进行复查,寻找出现较大偏差的原因,以进一步提高数据质量;当 $|Z| \geq 3$ 时表示结果不满意,属于统计分析中的离群值,SD 应慎重检查,找出问题所在,并制定有效的纠正措施,纠正偏离。如有必要,应重新启动试验加以验证。

由数据统计结果可知,301B 试验中,降解率的最值处均出现了可疑值,其稳健 Z 比分数分别为 -2.400、-2.065 和 2.007、2.836,超出了 $|Z| \leq 2$ 范围,对应的降解率分别为 60.0%、62.3% 和 90.3%、96.0%,表明当降解率 $\leq 62.3\%$ 或 $\geq 90.3\%$ 时,结果可能存在问题。其余结果均为满意,数据质量良好。301D 试验中,可疑值仅出现在最大降解率和次最大降解率处,其稳健 Z 比分数分别为 2.463 和 2.044,对应的降解率为 95.0% 和 98.3%,即当降解率 $\geq 95.0\%$ 时,试验结果可能存在问题甚至离群,应复查或验证。对于 301F 试验,降解率 62.8%~66.0% 是存在问题的结果,其对应的稳健 Z 比分数分别为 -2.345~-1.977,因此应关注并分析降解率 $\leq 66.0\%$ 的结果。另外,尽管 301D 试验最小降解率对应的 Z 比分数为 -1.968,301F 试验最大降解率对应的 Z 比分数为 1.920,其绝对值均小于 2.0,未指示结果异常,但在具体的实践过程中,若遇到该接近临界的数据,即当 301D 试验降解率小于 63.4% 和 301F 试验降解率大于 99.8% 时,SD 也应注意,慎重分析,因为就目前的数据仍无法判断该数据的质量水平。3 类试验的降解率对应的稳健 Z 比分数均未出现 $|Z| \geq 3$,即苯甲酸钠降解率合格程度达 100%,无不满意或离群的情况。

表 3 为快速生物降解性试验质量分析对照表,是对上述结果的总结。

图 1 为概率单位趋势图,从中可以看出各类型试验生物降解率的趋势。图 2 至图 4 为稳健 Z 比分数序列图,直观地显示 3 类试验中苯甲酸钠生物降解率的稳健 Z 比分数分布情况,可清楚地看出每一个试验苯甲酸钠降解率与其他试验的比较结果,且可清晰地辨别出可疑值和离群值。

表 2 苯甲酸钠降解率数据统计结果

Table 2 Statistical results of sodium benzoate biodegradation data

统计量 Statistic	试验 Test		
	OECD 301B	OECD 301D	OECD 301F
样本量 Sample size	42	38	48
均值/% Mean/%	76.08	78.75	83.04
标准差 Std. deviation	7.36	7.15	7.48
双尾渐进显著性概率 Asymp. sig. (2-tailed)	0.723	0.705	0.830
降解率中位值/% Median biodegradation rate/%	76.5	78.9	83.1
低四分位数值 Q1/% Low quartile Q1/%	72.4	74.0	78.9
高四分位数值 Q3/% High quartile Q3/%	79.3	81.9	87.6
变异系数 CV/% Coefficient of variation/%	8.99	9.98	10.4
标准化 IQR Standardizing IQR	6.88	7.88	8.67
降解率最小值/% Min biodegradation rate/%	60.0/62.3*	63.4/66.0*	62.8/66.0*
降解率最大值/% Max biodegradation rate/%	90.3/96.0*	95.0/98.3*	96.0/99.8*
极差/% Range/%	36.0	34.9	37.0

注: * 分别取最小降解率和最大降解率,以及与其相邻的一个值。

Note: The min, max value and its adjacent were obtained respectively.

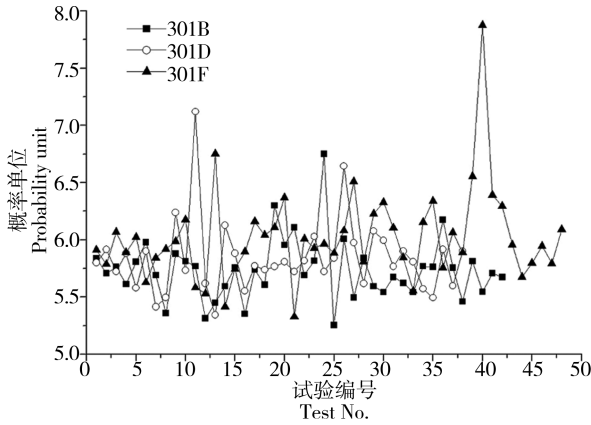


图 1 快速生物降解性试验 OECD 301B、301D 和 301F 的概率单位
Fig. 1 Probability unit of the ready biodegradability tests: OECD 301B, 301D and 301F

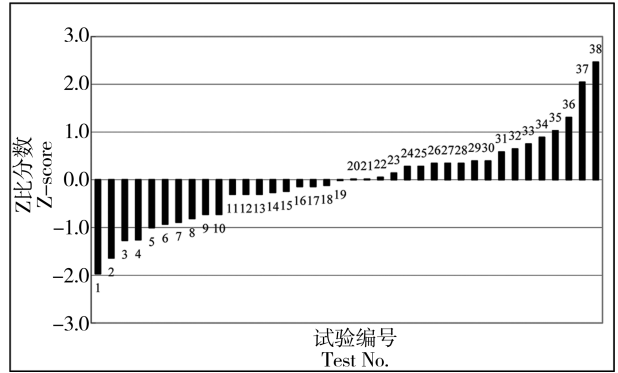


图 3 OECD 301D 试验稳健 Z 比分数序列图
Fig. 3 Z-score sequence diagram of OECD 301D test

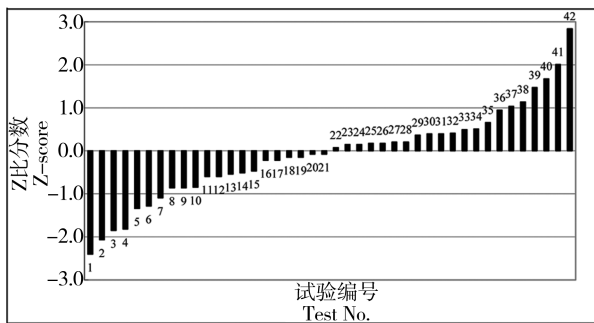


图 2 OECD 301B 试验稳健 Z 比分数序列图
Fig. 2 Z-score sequence diagram of OECD 301B test

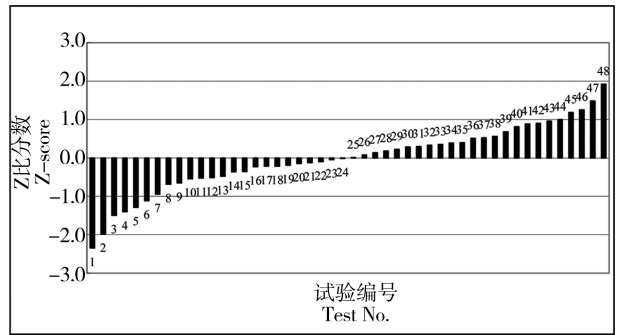


图 4 OECD 301F 试验稳健 Z 比分数序列图
Fig. 4 Z-score sequence diagram of OECD 301F test

表 3 快速生物降解性试验质量分析对照表

Table 3 Comparison table of quality analysis of ready biodegradability test

试验类型 Test type	Z 比分数 Z-score	苯甲酸钠降解率/% Biodegradation rate of sodium benzoate/%	结果指示或结论 Results indication or conclusion
OECD 301B	Z ≤ 2	63.8~88.0	若苯甲酸钠降解率测试结果在此范围内,表明测试结果满意,该批次试验数据质量良好。
OECD 301D		63.4~89.2	If the biodegradation rate of sodium benzoate is within the range, indicating that the test results are satisfactory and the data quality is good.
OECD 301F		66.0~99.8	
OECD 301B	2 < Z < 3	60.0~62.3 or 90.3~96.0	若苯甲酸钠降解率测试结果在此范围内,表明测试结果可能存在问题,SD 应复查该试验,寻找出现较大偏差的原因,以进一步提高数据质量。
OECD 301D		95.0~98.3	If the biodegradation rate of sodium benzoate is within the range, indicating that there could be some problems, SD should recheck the test and find out the reasons of the big deviation to further improve data quality.
OECD 301F		62.8~66.0	
OECD 301B	Z ≥ 3	<60.0 或 >96.0 Lower than 60.0 or higher than 96.0	若苯甲酸钠降解率测试结果在此范围内,表明测试结果不满意,属于统计分析中的离群值,SD 应慎重检查,找出问题所在,并制定有效的纠正措施,纠正偏离。如有必要,应重新启动试验加以验证。
OECD 301D		<63.4 或 >98.3 Lower than 63.4 or higher than 98.3	If the biodegradation rate of sodium benzoate is within the range, indicating that the test results are outliers and unacceptable. SD should recheck the test, find out the reasons, and take effective measures to correct the deviation. If necessary, restart the test to verify the results.
OECD 301F		<62.8 或 >100 Lower than 62.8 or higher than 100	

3 讨论与结论 (Discussion and conclusion)

稳健统计技术通常用于实验室间或实验室内的能力验证或结果比对活动,较多是分析样品对的结果,但也适用于单个样品的验证计划^[18]。鉴于本文所涉及的试验多数由不同的技术人员操作,因此,在一定程度上可将这些试验结果看作实验室内部人员比对。

对各类型试验中苯甲酸钠的 14 d 降解率进行稳健统计分析的意义在于,通过对过往结果的质量分析,测试机构可知在现有的试验条件下,哪些数据是可疑值或离群值。例如,当降解率 $\leq 62.3\%$ 和 $\geq 90.3\%$ (301B),或 $\geq 95.0\%$ (301D),或 $\leq 66.0\%$ (301F)时,SD 应提高警觉。若试验正在进行,应密切关注试验进程,发现问题后及时采取纠正措施,避免试验失败。若试验已经完成,应仔细检查分析测试过程的各个环节,如溶液配制方法、体系准备、仪器设备的稳定性和可靠性及误差来源等,从技术层面上进行全方位评价,找出产生“可疑”或“离群”的原因,评估该批次试验数据的可接受程度。基于测试机构大量数据而开展的稳健统计分析和评估,可以反映测试机构的整体数据质量,反映该测试机构的技术水平,进而获得提高数据质量的方法。由此可见,稳健统计技术 Z 比分数的应用,对测试机构及时发现质量问题、提升数据质量、提高工作效率,具有重要的应用价值。

开展快速生物降解性试验时,可将第 14 天苯甲酸钠的降解率数据与表 3 进行对比,对该试验数据的质量情况做出一个初步判断。然而,尽管文中涉及的试验均始终按照标准方法操作,项目实施和原始记录等都经质量保证部门(QAU)的检查并确认符合 GLP 规范和 SOP 规定,但所得数据仍然具有局限性,比如在苯甲酸钠生物降解过程中起关键性作用的接种物仅取自广州 2 家生活污水处理厂,缺乏以广州地区其他生活污水处理厂和广州以外地区生活污水处理厂为接种物来源的相应苯甲酸钠降解率数据。而杨倩等^[26]和杨婧等^[27]研究指出,接种物易受到污水处理厂本身运行工艺、不同地区的自然经济环境以及人们生活习惯等因素影响,微生物群落结构呈现差异性,进而影响到试验的重复性及结果间的可比性。Ginkel 等^[28]、Vázquez-Rodríguez 等^[29]和 Dechruga 等^[30]也指出,接种物来源不同,同一个化合物的快速生物降解性会呈现不一致性,因为接种物不同,其组分尤其是微生物种群存在较大差异。

另外,上述苯甲酸钠快速生物降解性试验仅在本机构完成,未与其他机构进行实验室间结果比对,不具备普遍适用性。因此如需进行类似数据评估,建议根据实际情况设计一个完整的稳健统计分析,进而得到更有针对性和指导性的质量分析对照表,从而有效避免出现误判的情况。

特别指出,由稳健 Z 比分数分析得出试验结果可疑甚至离群时,并不等同于该试验无效,只是指示该试验系统可能存在严重的问题或发生偏离,此时应针对试验的各个环节开展全面的检查和深入分析。只有当该试验结果满足所有相应的质量控制要求时,方能判定试验为有效。

通讯作者简介:曾国驱(1966-),男,博士,研究员,主要研究方向为生态毒理学,发表学术论文 30 余篇。

参考文献 (References):

- [1] 环境保护部化学品登记中心《化学品测试方法》编委会. 化学品测试方法 降解与蓄积卷[M]. 第二版. 北京: 中国环境出版社, 2013: 25-61
- [2] United Nations. Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS) [M]. 3rd ed. New York: United Nations Publication, 2009: 215-240
- [3] Leeuwen C J V, Vermeire T G. Risk Assessment of Chemicals an Introduction [M]. 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2007: 73-409
- [4] 聂磊,周红,刁树林,等. 新化学物质环境管理与生态毒理学[J]. 毒理学杂志, 2005, 19(1): 12-14
- [5] 周红,沈英娃,罗桂玲,等. 加强我国对新化学物质的管理[J]. 环境科学研究, 1999, 12(6): 57-59
Zhou H, Chen Y W, Luo G L, et al. To strengthen the management on new chemicals in China [J]. Research of Environmental Sciences, 1999, 12(6): 57-59 (in Chinese)
- [6] Organization for Economic Co-operation and Development. OECD Guideline for Testing of Chemicals [M]. Paris: OECD, 1992: 9-55
- [7] OECD. OECD Guidelines for Testing of Chemicals, 301 Ready Biodegradability [S]. Paris: OECD, 1992
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21856-2008 化学品 快速生物降解性 CO₂产生试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21831-2008 化学品 快速生物降解 密闭瓶法试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008

- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21801-2008 化学品 快速生物降解性: 呼吸计量法试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008
- [11] 奚旦立, 孙裕生, 刘秀英. 环境监测[M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 142
- [12] 中华人民共和国建设部. CJ/T 221-2005 城市污水处理厂污泥检验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [13] Mei C F, Liu Y Z, Long W N, et al. A comparative study of biodegradability of acarcinogenic aromatic amine (4,4'-diamino diphenylmethane) with OECD 301 test methods [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 111: 123-130
- [14] 国家环境保护总局《化学品测试方法》编委会. 化学品测试方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 329-369
- [15] OECD. OECD Principles on Good Laboratory Practice [S]. Paris: OECD, 1998
- [16] 国家环境保护总局科技标准司. HJ/T 155-2004 化学品测试合格实验室导则[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004
- [17] 环境保护部. HJ 506-2009 水质 溶解氧的测定 电化学探头法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009
- [18] 中国合格评定国家认可委员会. 能力验证结果的统计处理和评价指南[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2006
- [19] 吴志清. 浅议实验室对比数据分析方法——稳健统计 Z 比分数[J]. 云南冶金, 2011, 40(增刊): 163-167
Wu Z Q. Discussion on analytical method of lab data comparison - Robust statistic Z-score [J]. *Yunnan Metallurgy*, 2011, 40(Suppl.): 163-167 (in Chinese)
- [20] 张媛, 张磊, 李建, 等. 稳健统计方法及 t 检验法在活菌计数能力比对中的应用[J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(4): 19-22
Zhang Y, Zhang L, Li J, et al. Application of robust statistic method and t test of proficiency testing for live bacteria counting [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2013, 47(4): 19-22 (in Chinese)
- [21] 邢小茹, 马小爽, 田文, 等. 实验室间比对能力验证中的两种稳健统计技术探讨[J]. 中国环境监测, 2011, 27(4): 4-8
Xing X R, Ma X S, Tian W, et al. Two robust statistic techniques in proficiency testing by interlaboratory comparisons [J]. *Environmental Monitoring of China*, 2011, 27(4): 4-8 (in Chinese)
- [22] Todorov V, Filzmoser P. Robust statistic for the one-way MANOVA [J]. *Computational Statistics and Data Analysis*, 2010, 54: 37-48
- [23] 徐枫, 周艳茜. Excel 在稳健统计 Z 比分数计算中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(8): 1668-1669
- [24] 康国强. EXCEL 在概率计算中的应用[J]. 安阳大学学报, 2003(1): 55-57
Kang G Q. Excel' application to probabilistic calculation [J]. *Journal of Anyang University*, 2003(1): 55-57 (in Chinese)
- [25] 封跃鹏. 稳健统计技术及其在实验室能力验证数据处理中的应用[J]. 化学分析计量, 2007, 16(2): 55-57
Feng Y P. Robust statistical techniques and its application on proficiency testing inter-laboratory comparisons [J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2007, 16(2): 55-57 (in Chinese)
- [26] 杨倩, 蒋阳月, 王小军, 等. 不同区域污水处理厂活性污泥中微生物菌落结构分析[J]. 化工进展, 2014, 33(12): 3329-3336
Yang Q, Jiang Y Y, Wang X J, et al. Diversity of bacterial groups in cultivated sludge samples from different areas of China [J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2014, 33(12): 3329-3336 (in Chinese)
- [27] 杨婧, 陈晓倩, 殷浩文. 生物降解实验中的接种物标准化研究[J]. 环境工程学报, 2014, 8(5): 2146-2152
Yang J, Chen X Q, Yin H W. Study of inoculum standardization for biodegradation test [J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2014, 8(5): 2146-2152 (in Chinese)
- [28] Ginkel C G V, Hann A, Luuten M L G C, et al. Influence of the size and source of the inoculum on biodegradation curves in closed-bottle tests [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1995, 31: 218-223
- [29] Vázquez-Rodríguez G A, Garabétian F, Rols J L. Inocula from activated sludge for ready biodegradability testing: Homogenization by preconditioning [J]. *Chemosphere*, 2007, 68: 1447-1454
- [30] Dechruga S, Kantachote D, Chairapat S. Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch co-digestion of grass and pig manure [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 146: 101-108 ◆