

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20230821002

林健辉, 吴欣颖, 赖伟, 等. 废水急性毒性测定及评价中的不确定性研究及其改进方法[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(1): 262-274

Lin J H, Wu X Y, Lai W, et al. Uncertainty studies in determination and assessment of acute toxicity of wastewater and its improvement method [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2024, 19(1): 262-274 (in Chinese)

# 废水急性毒性测定及评价中的不确定性研究及其改进方法

林健辉<sup>1,2,3,4</sup>, 吴欣颖<sup>1,2,3,4</sup>, 赖伟<sup>1,2,3,4</sup>, 李建威<sup>1,2,3,4</sup>, 范雪滢<sup>1,2,3,4</sup>, 卢嘉慧<sup>1,2,3,4</sup>,  
梅承芳<sup>1,2,3,4,\*</sup>, 杨旭楠<sup>1,2,3,4</sup>

- 广东省科学院微生物研究所, 广州 510070
- 广东省微生物分析检测中心, 广州 510070
- 华南应用微生物国家重点实验室, 广州 510070
- 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广州 510070

收稿日期: 2023-08-21 录用日期: 2023-11-23

**摘要:** 目前,我国针对废水处理及排放的环境影响评估体系逐渐向生物毒性综合指标完善,然而传统的评价方法可能存在错误的接受和错误的拒绝2种风险,根据“检测和校准实验室能力认可准则”(CNAS-CL01: 2018)的要求,实验室在进行合格判定时,应考虑相关的风险水平。为研究分析废水急性毒性评价中存在的风险,采用发光细菌法测试废水急性毒性,选取接近排放限值的制药废水样品,进行测量不确定度评定,并依据“产品几何量技术规范(GPS) 工件的测量检验和测量设备 第1部分: 按规范检验一致性或不一致性的判定规则”(ISO 14253-1: 2017)有关合格判定的思路,对废水急性毒性评价中的合格区、不确定区和不合格区进行研究。结果表明,废水急性毒性评价中,合格区、不确定区及不合格区会随着标准曲线 $|r|$ 值和测量精密度的变化而变化,随着 $|r|$ 值的降低或精密度的降低,合格区会变小,不确定区会变大,这导致了无法通过设置“保护带”的方法降低误判风险,对废水急性毒性评价的准确性造成了极大的影响。为准确开展废水急性毒性的测试与评价,可采用双样本 $t$ 检验,通过比较废水样品的相对发光度与 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化汞溶液的相对发光度来判断废水急性毒性是否合格,当废水样品的相对发光度 $\geq 0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化汞溶液的相对发光度时,废水急性毒性合格,否则不合格。本研究通过开展方法的不确定度研究,阐明了现行国标分析方法及废水急性毒性评价方法存在的局限性,并提出了改进方案,为废水急性毒性的科学评判提供了重要依据。

**关键词:** 废水急性毒性评价;发光细菌法;氯化汞毒性当量;不确定区

文章编号: 1673-5897(2024)1-262-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Uncertainty Studies in Determination and Assessment of Acute Toxicity of Wastewater and Its Improvement Method

Lin Jianhui<sup>1,2,3,4</sup>, Wu Xinying<sup>1,2,3,4</sup>, Lai Wei<sup>1,2,3,4</sup>, Li Jianwei<sup>1,2,3,4</sup>, Fan Xueying<sup>1,2,3,4</sup>, Lu Jiahui<sup>1,2,3,4</sup>,  
Mei Chengfang<sup>1,2,3,4,\*</sup>, Yang Xunan<sup>1,2,3,4</sup>

1. Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China

基金项目: 广东省海洋经济发展(海洋六大产业)专项(GDNRC[2023]45); 广东省科学院打造综合产业技术创新中心行动专项资金项目(2022GDASZH-2022010105)

第一作者: 林健辉(1984—),男,硕士,研究方向为环境污染物监测与评价, E-mail: linjh@gddcm.cn

\* 通信作者( Corresponding author), E-mail: meichf@gdim.cn

2. Guangdong Detection Center of Microbiology, Guangzhou 510070, China

3. State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangzhou 510070, China

4. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou 510070, China

**Received** 21 August 2023      **accepted** 23 November 2023

**Abstract:** Comprehensive biotoxicity indicators have been considered into environmental impact assessment system of wastewater treatment and discharge in China. However, the traditional methods of biotoxicity assessment face two risks of incorrect acceptance and incorrect rejection. According to Accreditation Criteria for the Competence of Testing and Calibration Laboratories (CNAS-CL01: 2018), laboratories should consider the risks when making conformity assessment. This study investigated the uncertainty evaluation of the luminescent bacteria test for the acute toxicity of wastewater, involving its conformance, uncertainty, and non-conformance zones (Geometrical Product Specifications (GPS)—Inspection by Measurement of Workpieces and Measuring Equipment—Part 1: Decision Rules for Verifying Conformity or Nonconformity with Specifications (ISO 14253-1: 2017)), using the pharmaceutical wastewater sample close to the discharge limits. The results show that the conformance, uncertainty, and non-conformance zones varied depending on the  $t$ -value of the standard curve and the precision of the measurement. The conformance zone decreased and uncertainty zone increased with the  $|t|$ -value or the precision decreased, which made it impossible to reduce the risk of incorrectly decision by setting a “guard band”, and greatly affected the accuracy of the acute toxicity assessment. To solve this problem, a Welch’s  $t$ -test was introduced to assess whether the acute toxicity of wastewater was conformance by comparing the relative luminosity of the wastewater with that of the  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$  solution. If the relative luminosity of the wastewater was higher than that of the  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$  solution, the acute toxicity of the wastewater was conformance, otherwise the acute toxicity of the wastewater was non-conformance. This study clarifies the limitations of the national standard method and the acute toxicity assessment by carrying out the uncertainty study, and proposes an improvement, which provide an important basis for the scientific assessment of the acute toxicity of wastewater.

**Keywords:** assessment of acute toxicity of wastewater; luminescent bacteria test;  $\text{HgCl}_2$  equivalent concentration; uncertainty zone

对于生产企业的废水监测,常规的理化指标虽然能反映污染的情况,但这些指标在具有针对性的同时,仍存在一定的局限性,其原因在于除已知污染物外,废水中常含有多种未知污染物。不同种类的污染物混合后会产生复杂的联合生物毒性效应,如拮抗作用(antagonistic effect)、独立作用(independent effect)、加和作用(additive effect)和协同作用(synergy effect),给生态安全和环境健康带来了严重威胁,因此单纯分析污染水体的理化指标无法真实反映污染物在环境中的生态健康危害性<sup>[1-3]</sup>。生物毒性测试很好地解决了上述问题,它应用“黑箱”方法,综合反映废水对生物毒性的大小及危害程度<sup>[4]</sup>。在初级筛选层面上,快速生物毒性检测法已然成为水质危害测试的重要技术手段<sup>[5-7]</sup>。

近年来,我国针对工业废水处理及排放的环境影响评估体系已逐渐从单一化学指标向生物毒性综合指标进行完善<sup>[8]</sup>。2008年,我国在制药工业系列

排放标准(GB 21903 ~ GB 21908)中首次引入了综合毒性指标,采用发光细菌法检测废水综合毒性,排放限值为  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞毒性当量(表 1)。但是,在实际废水的长期监测中发现,区别于常规的单一化学指标,急性毒性的测试数据并不稳定,特别是当结果接近排放限值时,直接根据结果判定废水急性毒性合格或不合格可能存在较大的风险。“检测和校准实验室能力认可准则”(CNAS-CL01: 2018)指出,当作出与规范或标准符合性声明时,实验室应考虑与所用规则相关的风险水平<sup>[9]</sup>,而根据“测量不确定度-第 4 部分:测量不确定度在额评定中的应用”(ISO/IEC Guide 98-4: 2012),当对样品的检测结果进行符合性评定时,会发生错误的接受和错误的拒绝 2 种风险<sup>[10]</sup>。对于废水急性毒性判定而言,错误的接受即错误地将超标废水判定为合格;而错误的拒绝即错误地将合格废水判定为超标,可见,无论哪种错误的出现,都是不可接受的。因此,有必要对废水

急性毒性的评价方法开展研究,提高评价的准确性。

“产品几何量技术规范(GPS) 工件的测量检验和测量设备 第1部分:按规范检验一致性或不一致性的判定规则”(ISO 14253-1: 2017)<sup>[11]</sup>就产品按规范验证合格或不合格的判定规则进行了详细的规定,综合考虑了不确定度对合格判定的影响。本文基于ISO 14253-1: 2017 有关合格判定的思路,通过对废水急性毒性测试数据开展测量不确定度评定,并结合急性毒性限值  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞毒性当量,对废水急性毒性合格评价中存在的 uncertainty 进行了剖析,阐明现行国标分析方法及废水急性毒性评价方法存在的局限性,并在不改变现行测试方法及废水急性毒性评价标准的基础上,提出改进方案,以便对废水急性毒性的准确判断提供科学依据。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 仪器与试剂

仪器:智能化生物毒性测试仪(DXY-3型,中国科学院南京土壤研究所)。试剂:氯化汞(分析纯,姜堰市环球试剂厂);氯化钠(分析纯,广州化学试剂厂);明亮发光杆菌  $T_3$ (浙江托科司生物科技有限责任公司)。

### 1.2 研究对象

急性毒性与排放限值  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞毒性

当量相近的制药废水样品。

### 1.3 发光细菌急性毒性的定量测试

#### 1.3.1 测试方法

依据《水质 急性毒性的测定 发光细菌法》(GB/T 15441—1995)<sup>[18]</sup>对废水样品进行测试。在废水样品中加入氯化钠,吸取  $2 \text{ mL}$  废水样品加至测试小管中,再加入  $10 \mu\text{L}$  发光菌液,准确反应  $15 \text{ min}$  后测试其发光量。每个样品按样品→空白→样品→空白的顺序测试3个平行和3个空白。

#### 1.3.2 结果计算

(1)相对发光度  $T(\%)$ ,计算公式如下:

$$T = \frac{L}{L_{\text{CK}}} \times 100 \quad (1)$$

式中: $T$ 为相对发光度(%); $L$ 为样品管发光量(mV); $L_{\text{CK}}$ 为空白管发光量(mV)。

(2)相对发光度的平均值  $\bar{T}(\%)$ ,计算公式如下:

$$\bar{T} = \frac{T_1 + T_2 + T_3}{3} \quad (2)$$

式中: $\bar{T}$ 为相对发光度的平均值(%); $T_1$ 、 $T_2$ 、 $T_3$ 为平行1、平行2、平行3的相对发光量(%)。

(3)氯化汞毒性当量  $C(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ ,计算公式如下:

$$C = \frac{\bar{T} - a}{b} \quad (3)$$

表1 制药废水排放标准<sup>[12-17]</sup>

Table 1 The discharge standards of pharmaceutical wastewater<sup>[12-17]</sup>

标准名称 Standard	标准号 Standard numbers	急性毒性(氯化汞毒性当量)/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Acute toxicity (HgCl <sub>2</sub> equivalent concentration)/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )
《发酵类制药工业水污染物排放标准》 Discharge standard of water pollutants for pharmaceutical industry Fermentation products category	GB 21903—2008	0.07
《化学合成类制药工业水污染物排放标准》 Discharge standard of water pollutants for pharmaceutical industry Chemical synthesis products category	GB 21904—2008	0.07
《提取类制药工业水污染物排放标准》 Discharge standard of water pollutants for pharmaceutical industry Extraction products category	GB 21905—2008	0.07
《中药类制药工业水污染物排放标准》 Discharge standard of water pollutants for pharmaceutical industry Chinese traditional medicine category	GB 21906—2008	0.07
《生物工程类制药工业水污染物排放标准》 Discharge standard of water pollutants for pharmaceutical industry Bio-pharmaceutical category	GB 21907—2008	0.07
《混装制剂类制药工业水污染物排放标准》 Discharge standard of water pollutants for pharmaceutical industry Mixing/Compounding and formulation category	GB 21908—2008	0.07

式中:  $C$  为氯化汞毒性当量( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ );  $\bar{T}$  为相对发光度的平均值(%);  $a$  为标准曲线截距;  $b$  为标准曲线斜率。

#### 1.4 发光细菌急性毒性的定性测试

##### 1.4.1 测试方法

方法与1.3定量测试一致。除此之外,在样品测试前、过程中和测试后,分别增测一组  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞的相对发光度,每组3个平行。

##### 1.4.2 统计检验

###### (1) 方差齐性检验( $F$ 检验)

将样品测试得到的相对发光度数据与  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞进行比较,首先采用  $F$  检验(使用右侧检验,即  $F>1$ )进行方差齐性检验。

当  $s_1>s_2$  时:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (4)$$

式中:  $s_1$  为样品相对发光度的标准偏差(%);  $s_2$  为  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞相对发光度的标准偏差(%)。

查  $F$  分布表,取  $\alpha=0.05$ ,将  $F$  与  $F_{0.05}(n_1-1, n_2-1)$  进行比较,其中  $n_1$  为样品测试平行数,一般为3;  $n_2$  为  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞测试平行数,一般为9。当  $F \leq F_{0.05}(n_1-1, n_2-1)$ ,接受原假设,两样本方差齐;当  $F > F_{0.05}(n_1-1, n_2-1)$ ,拒绝原假设,两样本方差不齐。

当  $s_1 < s_2$  时:

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} \quad (5)$$

同样查  $F$  分布表,取  $\alpha=0.05$ ,将  $F$  与  $F_{0.05}(n_2-1, n_1-1)$  进行比较。当  $F \leq F_{0.05}(n_2-1, n_1-1)$ ,接受原假设,两样本方差齐;当  $F > F_{0.05}(n_2-1, n_1-1)$ ,拒绝原假设,两样本方差不齐。

记样品相对发光度的总体均值为  $\mu_1$ ,  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞相对发光度的总体均值为  $\mu_2$ ,假设样品的相对发光度  $\geq 0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞的相对发光度,即  $H_0: \mu_1 \geq \mu_2$ ,  $H_1: \mu_1 < \mu_2$ ,取  $\alpha = 0.05$ ,根据  $F$  检验的结果进行双样本  $t$  检验。

###### (2) 双样本等方差 $t$ 检验

$t$  值按下式计算:

$$t = \frac{\bar{T}_1 - \bar{T}_2}{\sqrt{\frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2} \cdot \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (6)$$

自由度  $df$  按下式计算:

$$df = n_1 + n_2 - 2 \quad (7)$$

式中:  $\bar{T}_1$  为样品相对发光度平均值(%);  $\bar{T}_2$  为  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞相对发光度平均值(%);  $s_1$  为样品相对发光度的标准偏差(%);  $s_2$  为  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞相对发光度的标准偏差(%);  $n_1$  为样品测试平行数,一般为3;  $n_2$  为  $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞测试平行数,一般为9。

###### (3) 双样本异方差 $t$ 检验

$t$  值按下式计算:

$$t = \frac{\bar{T}_1 - \bar{T}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (8)$$

自由度  $df$  按下式计算:

$$df = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2 \frac{1}{n_1-1} + \left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2 \frac{1}{n_2-1}} \quad (9)$$

##### 1.4.3 结果判定

查  $t$  分布表,将  $t$  与  $t_{0.05}(df)$  进行比较,当  $t > -t_{0.05}(df)$ ,接受  $H_0$ ,即  $\mu_1 \geq \mu_2$ ,样品的相对发光度  $\geq 0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞的相对发光度,样品合格;当  $t < -t_{0.05}(df)$ ,拒绝  $H_0$ ,接受  $H_1$ ,即  $\mu_1 < \mu_2$ ,样品的相对发光度  $< 0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞的相对发光度,样品不合格。

#### 1.5 定量方法与定性方法的比较

对实际的制药废水样品,分别采用定量及定性的方法进行检测,比较2种方法间的差异。

## 2 定量测试的不确定度来源及量化 (Source and quantification of uncertainty of quantitative test)

### 2.1 不确定度来源及数学模型

根据氯化汞毒性当量的测试过程及计算公式,综合考虑所有的不确定来源后,制作鱼骨图如图1所示。

根据不确定度分量示意图,计算公式中需要加入校正因子,则公式(3)扩大为

$$C = \frac{\left(\frac{L_1 \cdot f_1}{L_{CK1} \cdot f_{CK1}} + \frac{L_2 \cdot f_2}{L_{CK2} \cdot f_{CK2}} + \frac{L_3 \cdot f_3}{L_{CK3} \cdot f_{CK3}}\right) \times 100}{3} - a \quad (10)$$

式中:  $f_n$  为样品发光量测试过程中的校正因子,数学期望为1,计算公式见式(11);  $f_{CK_n}$  为空白发光量测试过程中的校正因子,数学期望为1,计算公式参考式(11);  $n=1, 2, 3$ , 分别代表平行1、平行2、平行3。

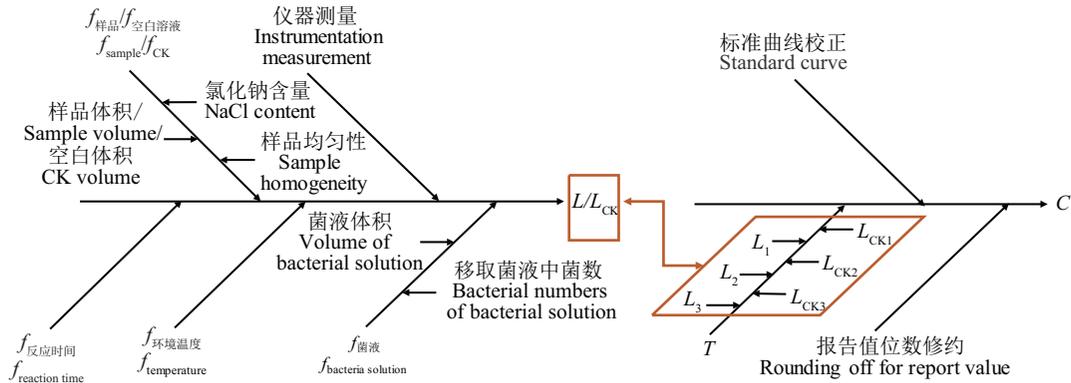


图 1 氯化汞毒性当量测定的不确定度分量示意图

Fig. 1 Uncertainty components chart of determination of HgCl<sub>2</sub> equivalent concentration

校正因子  $f_n$  的计算公式, 详见公式(11):

$$f_n = f_{\text{样品}n} \cdot f_{\text{菌液}n} \cdot f_{\text{环境温度}n} \cdot f_{\text{反应时间}n} \quad (11)$$

式中:  $f_{\text{样品}n}$  为样品移取的体积误差、体积差异、样品中氯化钠含量的差异、样品的均匀性等校正因子, 数学期望为 1;  $f_{\text{菌液}n}$  为菌液移取的体积误差、体积差异、菌液中细胞数量的差异等的校正因子, 数学期望为 1;  $f_{\text{环境温度}n}$  为测量过程中, 环境温度的波动、变化等的校正因子, 数学期望为 1;  $f_{\text{反应时间}n}$  为反应时间的校正因子, 数学期望为 1。

由上述不确定度分量示意图及数学计算模型可见, 在相对发光度  $T$  的测试中, 试验过程中的影响因素较多, 但各影响因素的校正因子, 其数学期望均为 1, 最终需要通过发光量  $L$  来体现, 从而对相对发光度  $T$  产生影响。因此, 可以通过实际测试过程中的重复性数据, 综合考察各种校正因子对相对发光度  $T$  产生的影响, 并对鱼骨图进行简化, 如图 2 所示。由图 2 可见, 其不确定度分量由三部分组成, 包括标准曲线校准的不确定度  $u_b(C)$ 、相对发光度  $\bar{T}$  的不确定度  $u(\bar{T})$  和报告值位数修约的不确定度  $u_x(C)$ 。通过计算不确定度分量  $u_b(C)$ 、 $u(\bar{T})$  和  $u_x(C)$ , 再对不确定度分量进行合成, 即可得到废水急性毒性的不确定度  $u_d(C)$ 。

## 2.2 量化不确定度

对制药废水样品(氯化汞毒性当量为 0.069 mg·L<sup>-1</sup>)开展不确定度评定, 其不确定度分量由三部分组成, 包括标准曲线校准的不确定度  $u_b(C)$ 、相对发光度  $\bar{T}$  的不确定度  $u(\bar{T})$  和报告值位数修约的不确定度  $u_x(C)$ 。

### 2.2.1 标准曲线校准的不确定度 $u_b(C)$

标准曲线校准的不确定度  $u_b(C)$  通过计算标准

曲线的残余标准差  $s$  以及氯化汞毒性当量  $C$  的标准偏差估计值  $s(C)$  得到。对氯化汞的每个标准曲线浓度点各测定 3 次, 结果见表 2。

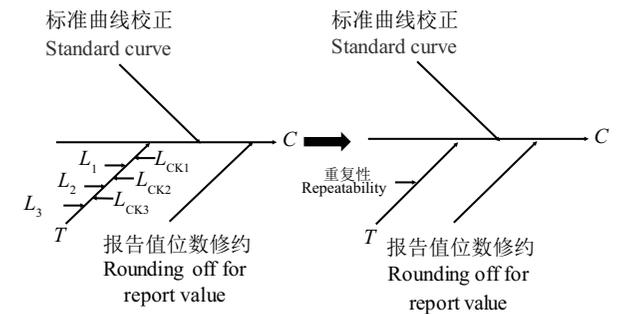


图 2 氯化汞毒性当量测定简化后的不确定度分量示意图  
Fig. 2 Uncertainty components chart of determination of HgCl<sub>2</sub> equivalent concentration after simplified

根据表 2 中数据采用最小二乘法线性回归求得  $r = -0.9116$ ,  $a = 115.3$ ,  $b = -588$ , 则回归曲线方程为  $T = -588C + 115.3$ , 残余标准差  $s$  为

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (T_i - \hat{T}_i)^2} = 18.8$$

氯化汞毒性当量为 0.0689 mg·L<sup>-1</sup> 的制药废水样品, 其  $C = 0.0689$  mg·L<sup>-1</sup>, 则氯化汞毒性当量  $C$  的标准不确定度  $u_b(C)$  为

$$u_b(C) = s(C) = \frac{s}{|b|} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(T - \bar{T})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} =$$

$$1.98 \times 10^{-2} \text{ (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}$$

则其相对标准不确定度  $u_{\text{br}}(C)$  为

$$u_{\text{br}}(C) = \frac{u_b(C)}{C} = \frac{1.98 \times 10^{-2}}{0.0689} = 0.288$$

2.2.2 相对发光度  $\bar{T}$  的不确定  $u(\bar{T})$  及其不确定度的传递

相对发光度  $\bar{T}$  的不确定  $u(\bar{T})$  采用 A 类不确定度评定的方法计算得到, 后再通过对求偏导数的方法计算其不确定度的传递。相对发光度  $\bar{T}$  的重复测试数据详见表 3。

相对发光度  $\bar{T}$  的标准不确定度  $u(\bar{T})$  为

$$u(\bar{T}) = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{10.8}{\sqrt{3}} = 6.23 (\%)$$

则其相对标准不确定度  $u_{rel}(\bar{T})$  为

$$u_{rel}(\bar{T}) = \frac{u(\bar{T})}{\bar{T}} = \frac{6.23}{74.8} = 8.34 \times 10^{-2}$$

而氯化汞毒性当量  $C$  按照式(3)计算。

则可通过输入量  $\bar{T}$  求得的估计值  $C$  的不确定度  $u_x(C)$ , 其计算公式如下, 此时截距  $a$  和斜率  $b$  为常数:

$$u_x(C) = \left| \frac{\partial f}{\partial \bar{T}} \right| \cdot u(\bar{T}) = \left| \left( \frac{\bar{T}-a}{b} \right)' \right| \cdot u(\bar{T}) = \frac{u(\bar{T})}{|b|} \quad (12)$$

即

$$u_x(C) = \frac{u(\bar{T})}{|b|} = \frac{6.23}{|-588|} = 1.06 \times 10^{-2} (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$$

则相对标准不确定度  $u_{Trel}(C)$  为

$$u_{Trel}(C) = \frac{u_x(C)}{C} = \frac{1.06 \times 10^{-2}}{0.0689} = 0.154$$

2.2.3 报告值位数修约的不确定度  $u_x(C)$

GB/T 15441-1996 标准未对氯化汞毒性当量的报告值的保留位数进行规定, 参考排放限值  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 将报告值修约至小数点后第 3 位, 其数值修约间隔  $\delta=0.001$ , 则误差区间的半宽  $a=0.0005$ , 按均匀分布, 包含因子  $k=\sqrt{3}$ , 由数值修约产生的标准不确定度  $u_x(C)$  为

$$u_x(C) = \frac{a}{k} = \frac{0.0005}{\sqrt{3}} = 2.9 \times 10^{-4} (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$$

表 2 氯化汞标准曲线及相对发光度  
Table 2 The relative luminosity of HgCl<sub>2</sub>

氯化汞浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) Concentration of HgCl <sub>2</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	T <sub>1</sub> /%	T <sub>2</sub> /%	T <sub>3</sub> /%	$\bar{T}$ /%
0.02	103.4	89.3	118.2	103.6
0.04	122.5	113.8	98.6	111.7
0.06	106.6	100.9	115.6	107.7
0.08	62.65	67.10	54.73	61.50
0.10	54.95	38.64	48.36	47.32
0.12	28.89	26.49	19.64	25.01
0.14	6.107	5.536	13.59	8.410
0.16	0.7526	1.188	1.737	1.226
0.18	0	0	0	0
0.20	0	0	0	0
0.22	0	0	0	0
0.24	0	0	0	0

注: T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub> 分别为平行 1、平行 2、平行 3 的相对发光度;  $\bar{T}$  为相对发光度的平均值。

Note: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> is relative luminosity of parallel 1, parallel 2, parallel 3 separately;  $\bar{T}$  is mean value of relative luminosity.

表 3 相对发光度  $\bar{T}$  重复测试数据

Table 3 The result of repeated measurement of the relative luminosity  $\bar{T}$

样品 Sample	T <sub>1</sub> /%	T <sub>2</sub> /%	T <sub>3</sub> /%	$\bar{T}$ /%	标准偏差 s/% Standard deviation s/%
制药废水 Pharmaceutical wastewater	72.4	65.3	86.5	74.8	10.8

其相对标准不确定度  $u_{\text{rel}}(C)$  为

$$u_{\text{rel}}(C) = \frac{u_x(C)}{C} = \frac{2.9 \times 10^{-3}}{0.069} = 4.2 \times 10^{-3}$$

#### 2.2.4 合成不确定度 $u_c(C)$

氯化汞毒性当量的测定各分量的不确定度汇总如表4所示。

氯化汞毒性当量  $C$  的相对合成标准不确定度  $u_{\text{Crel}}(C)$  为

$$u_{\text{Crel}}(C) = \sqrt{u_{\text{bre}}^2(C) + u_{\text{irel}}^2(C) + u_{\text{xrel}}^2(C)} = \sqrt{0.288^2 + 0.154^2 + (4.2 \times 10^{-3})^2} = 0.33$$

则其标准不确定度  $u_c(C)$  为

$$u_c(C) = u_{\text{Crel}}(C) \times C = 0.33 \times 0.069 = 0.022 \text{ (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}$$

扩展不确定度  $U(C)$  通过使用包含因子  $k=2$  计算得到, 即

$$U(C) = k \cdot u_c(C) = 2 \times 0.022 = 0.044 \text{ (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}$$

则对于该制药废水样品, 其氯化汞毒性当量为  $(0.069 \pm 0.044) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $k=2$ )。

### 3 结果和讨论 (Results and discussion)

#### 3.1 采用定量方法评价制药废水急性毒性存在的局限性

根据 ISO 14253-1: 2017<sup>[11]</sup>, 在进行合格评定时, 需要考虑不确定度的影响。按照制药废水中急性毒性评价的限值标准:  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞毒性当量, 章节 2.2.4 中  $0.069 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的检测结果表明水样合格, 但结合扩展不确定度后, 其氯化汞毒性当量为  $(0.069 \pm 0.044) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $k=2$ ), 即  $(0.024 \sim 0.114) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (95% 置信限)。由于该结果范围同时覆盖了超标区域, 若仅基于测定的单一值进行判定, 在不考虑不确定度的情况下, 此时错误判定的概率接近 50%。可见, 不确定度对废水急性毒性评价具有重要影响, 当检测结果接近评价标准时, 必须将不确定度作为

关键因素纳入考虑, 以避免发生误判。

#### 3.1.1 不确定度对废水急性毒性合格判定的影响

检测结果的完整表达应同时包括毒性值及其测量不确定度, 即完整的检测结果  $C_U$  可以表示为<sup>[19]</sup>:

$$C_U = C \pm U \quad (13)$$

其中  $U$  为扩展不确定度。

因此, 判定废水的发光细菌急性毒性是否合格, 需要满足以下条件。合格:  $C_U \leq$  排放限值, 即  $C+U \leq$  排放限值; 不合格:  $C_U >$  排放限值, 即  $C-U >$  排放限值。

由图3可见, 在进行合格判定时, 还存在一个无法确定检测结果是否合格的区域, 根据 ISO 14253-1: 2017<sup>[11]</sup>, 该区域称为不确定区, 即不确定区:  $C-U \leq$  排放限值  $< C+U$ 。

#### 3.1.2 发光细菌法测定废水急性毒性的不确定度变化规律

根据 2.1 中不确定度的来源及数学模型, 氯化汞毒性当量的不确定度分量包括标准曲线、相对发光度  $T$  (测试过程的重复性) 及报告值修约带来的不确定度, 其中报告值修约带来的不确定度不会改变, 而标准曲线和测试过程的重复性所带来的不确定度则会随标准曲线及样品的不同而变化。根据 GB 15441—1995 的要求, 标准曲线  $|r|$  值的显著水平  $P$  应  $\leq 0.01$ , 即  $|r| > 0.708$  ( $df = n - 2 = 10, \alpha = 0.01$ ); 样品 3 次重复测定结果的相对标准偏差应  $< 15\%$ 。因此, 可根据不同的标准曲线, 及不同的相对标准偏差计算不同情况下的不确定度范围。

根据日常测试数据, 选取 3 个具有代表性的标准曲线, 其  $|r|$  值分别为:  $|r_1| = 0.9712$ ,  $|r_2| = 0.9116$ ,  $|r_3| = 0.8815$ , 计算当平行相对标准偏差为 5% 时的扩展不确定度范围并作图, 详见图 4(a)。从图 4(a) 可见, 标准曲线的  $|r|$  值越高, 其产生的不确定度越

表 4 氯化汞毒性当量各分量的不确定度汇总表

Table 4 Summary table of the uncertainty components of  $\text{HgCl}_2$  equivalent concentration

项目 Item	概述 Summary	值/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Value/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$u(x)$ /( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$u_{\text{rel}}(x)$
氯化汞毒性当量 $\text{HgCl}_2$ equivalent concentration	标准曲线的不确定度 Uncertainty of standard curve	0.0689	$1.98 \times 10^{-2}$	0.288
	相对发光度 $T$ 的不确定度 Uncertainty of relative luminosity	0.0689	$1.06 \times 10^{-2}$	0.154
	报告值修约的不确定度 Uncertainty of rounding off for report value	0.069	$2.9 \times 10^{-4}$	$4.2 \times 10^{-3}$

注:  $u(x)$  为标准不确定度;  $u_{\text{rel}}(x)$  为相对标准不确定度。

Note:  $u(x)$  is standard uncertainty;  $u_{\text{rel}}(x)$  is relative standard uncertainty.

小,因此标准曲线有较高的 $|r|$ 值时,能在一定的程度上减小不确定度。然而依据 GB 15441—1995 的标准要求,在标准曲线的建立上须采用线性回归方程,而实际上发光细菌的相对发光度与氯化汞浓度并不成线性关系。李真等<sup>[20]</sup>的研究表明,包含氯化汞在内的 5 种重金属,其与明亮发光杆菌的毒性数据采用 Weibull 函数进行非线性拟合时, $R^2$  均 $>0.99$ ,拟合模型采用“S”型;杜丽娜等<sup>[21]</sup>的研究结果也与之类似,发现对于氯化汞,使用 Sigmoidal 拟合比国标中的一元一次线性拟合更加符合对数据描述的要求。因此,采用线性回归方程进行拟合时,可能存在 $|r|$ 值较低的情况,而标准中也仅要求 $|r|>0.708$  (显著水平  $P\leq 0.01$ ),上述皆易导致 $|r|$ 值偏低且不确定度较大。

以 $|r|$ 值为 0.9116,计算当平行测定中相对标准

偏差分别为 1%、5%、10% 和 15% 时的扩展不确定度范围并作图,详见图 4(b)。从图 4(b)中可见,相对标准偏差越大,则不确定度范围也越大,特别是随着氯化汞毒性当量的增加,不确定度的范围成发散状。对于平行测定的相对标准偏差,发光细菌法的影响因素较多,如废水样品自身的均匀性、发光细菌自身活力的变化、菌种以悬浮液加入到试样中不易均匀<sup>[22]</sup>等,均是造成相对标准偏差较大的原因。

### 3.1.3 合格区、不合格区、不确定区的划分及定量方法存在的局限性

根据不同的相对标准偏差及标准曲线,计算 0.01~0.24  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化汞毒性当量的不确定范围,绘制发光细菌急性毒性在不同相对标准偏差及不同标准曲线下的合格区、不合格区及不确定区,如图 5 所示。从图 5(a)、图 5(b)和图 5(c)中可见,对于不同

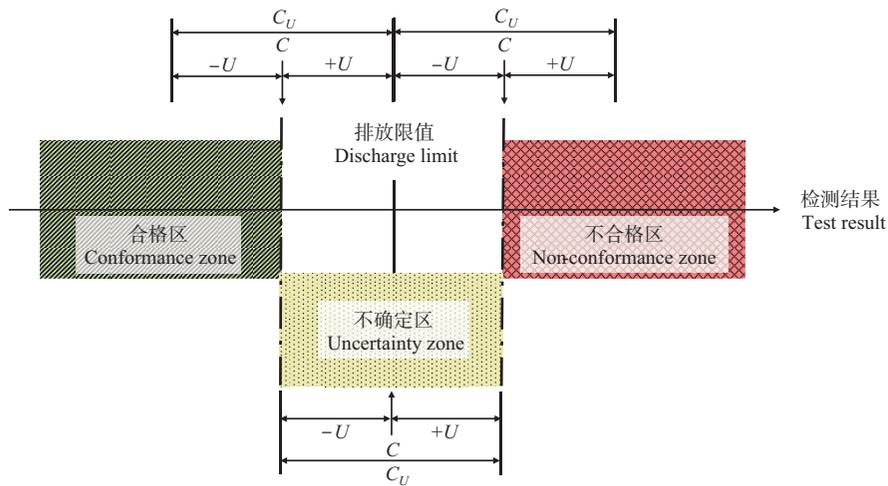


图 3 合格区、不确定区与不合格区的划分

Fig. 3 The partition of conformance, uncertainty, and non-conformance zones

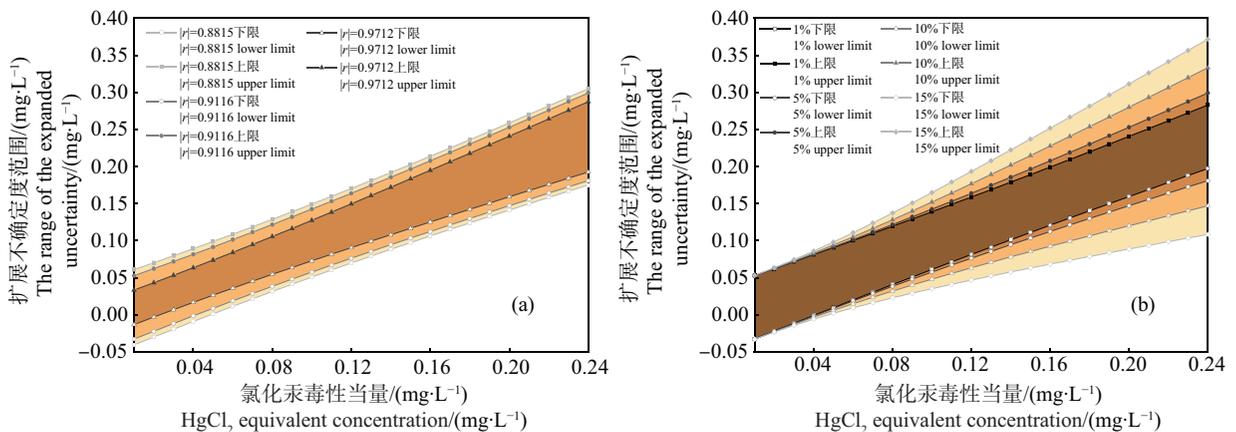


图 4 不同的标准曲线及相对标准偏差对氯化汞毒性当量不确定度的影响

Fig. 4 The impact of different standard curves and relative standard deviations on the uncertainty of  $\text{HgCl}_2$  equivalent concentration

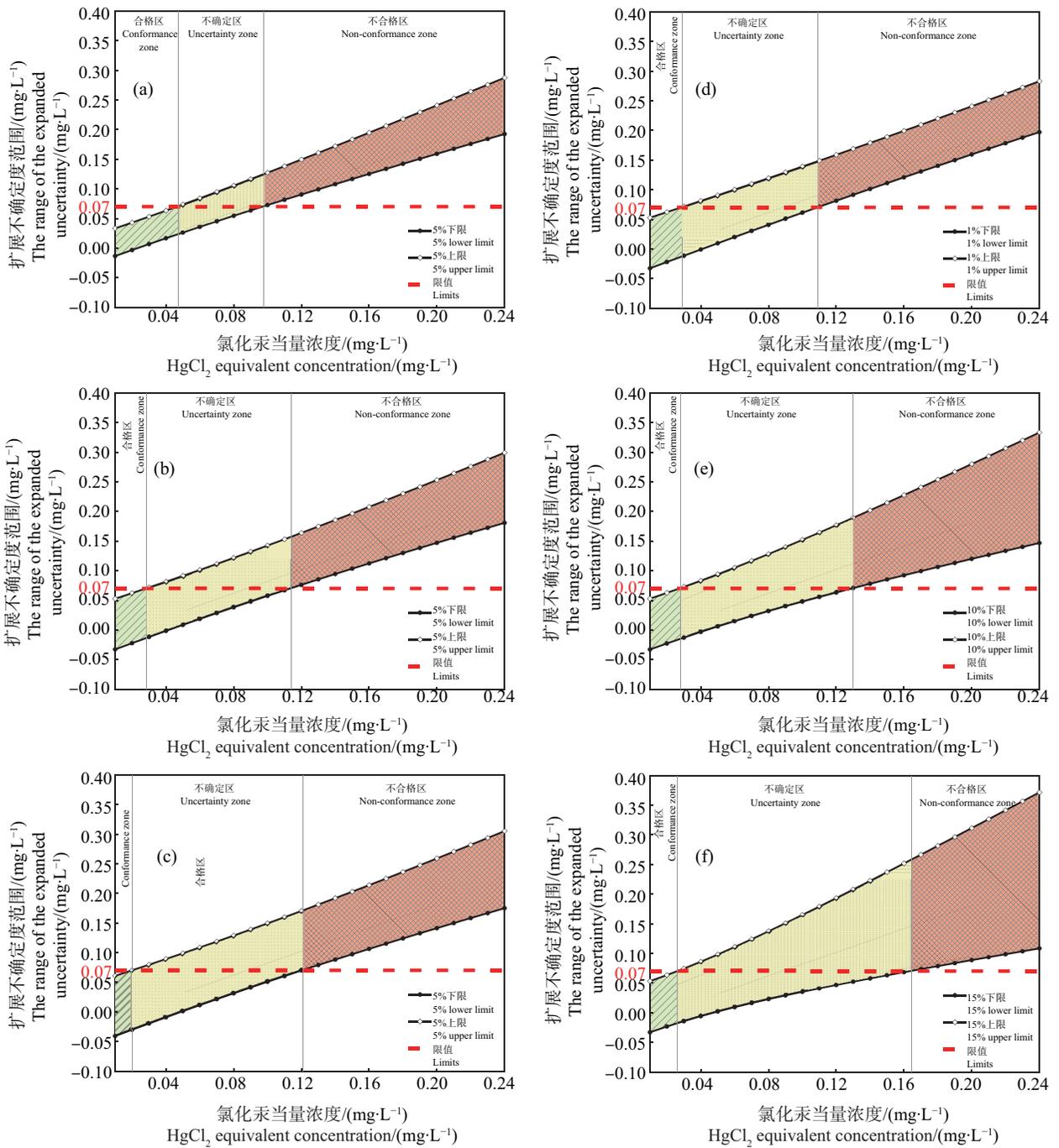


图5 不同标准曲线及不同相对标准偏差下的合格区、不确定区和不合格区

注:(a)  $|r|=0.9712$ , 相对标准偏差 5%; (b)  $|r|=0.9116$ , 相对标准偏差 5%; (c)  $|r|=0.8815$ , 相对标准偏差 5%;  
 (d)  $|r|=0.9116$ , 相对标准偏差 1%; (e)  $|r|=0.9116$ , 相对标准偏差 10%; (f)  $|r|=0.9116$ , 相对标准偏差 15%。

Fig. 5 The conformance, uncertainty, and non-conformance zones of different standard curve and different RSD

Note: (a)  $|r|=0.9712$ , relative standard deviation 5%; (b)  $|r|=0.9116$ , relative standard deviation 5%; (c)  $|r|=0.8815$ , relative standard deviation 5%;  
 (d)  $|r|=0.9116$ , relative standard deviation 1%; (e)  $|r|=0.9116$ , relative standard deviation 10%; (f)  $|r|=0.9116$ , relative standard deviation 15%.

的标准曲线,氯化汞毒性当量的不确定度范围随着  $|r|$  值的降低而变宽,进而导致了合格区、不合格区和不确定区的变化。当  $|r|$  值降低时,合格区逐渐变小,而不确定区则逐渐变大。

对于不同的相对标准偏差,也表现出类似情况。从图 5(d)、图 5(e)和图 5(f)中可见,随着相对标准偏差的增大,氯化汞毒性当量的不确定度范围逐渐变宽,其中不确定区的面积随着相对标准偏差的增大

而明显扩大,在相对标准偏差为 15% 时,其面积甚至超过了不合格区。

上述分析表明,采用发光细菌法测试废水的急性毒性,由于不确定区的存在且范围较大,对合格判定造成了很大影响,其主要原因有以下 2 点。

(1) 发光细菌法测定氯化汞毒性当量本身的不确定度较大。对氯化汞毒性当量在不同标准曲线及相对标准偏差下的相对标准不确定度作图,如图 6 所示。从图 6 中可见,当氯化汞毒性当量越小,其相对标准不确定度越高;而随着氯化汞毒性当量的增大,其相对标准不确定度则逐渐减小并趋于稳定。不同的标准曲线和相对标准偏差对相对标准不确定度的影响略有不同:对于不同  $|r|$  值的标准曲线(图 6 (a)),氯化汞当量浓度越低时,其相对标准不确定度差异越大;对于不同的相对标准偏差(图 6(b)),则是氯化汞当量浓度越高时,其相对标准不确定度差异越大。对于  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的排放限值,以  $|r| = 0.9116$  的标准曲线,相对标准偏差 5% 为例,氯化汞毒性当量在  $0.01 \sim 0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内时,其相对标准不确定度在 214% ~ 29.6% 之间,可见相对标准不确定度较大,会对合格区及不确定区产生较大的影响。

(2) 发光细菌对氯化汞的耐受性较弱、敏感性较高,导致氯化汞毒性当量的线性范围较窄,且排放限值  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处于急性毒性测试线性范围内的较低点。李真等<sup>[20]</sup>的研究指出,明亮发光杆菌对  $\text{Hg}^{2+}$  的毒性响应处在一个比较窄的浓度变化范围内,在

对比了  $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Hg}^{2+}$  共 6 种重金属后,  $\text{Hg}^{2+}$  的毒性最强。在其研究中,氯化汞的试验浓度范围为  $0.01 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而其他重金属的试验浓度则远高于氯化汞,均在  $2 \sim 128 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,可见  $\text{Hg}^{2+}$  的毒性远远大于其他重金属。依据 GB 15441—1995 标准,氯化汞的线性范围在  $0.02 \sim 0.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间,其 50% 相对发光度的浓度为  $(0.10 \pm 0.02) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的排放限值,不仅低于标准曲线的中间点浓度  $0.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其相对发光度也小于 50%,由此对合格区、不合格区和不确定区的范围造成了较大的影响。图 7 中比较了在相对标准偏差为 5% 时,假设排放限值分别为  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 7(a))、 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 7(b))、 $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 7(c))及  $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 7(d))时的合格区、不确定区与不合格区的差异。从图 7 中可见,合格区的面积随着排放限值的提高而增大,并优先压缩不合格区的面积,当不合格区消失后,进而开始压缩不确定区的面积。对比废水中其他常见的检测项目,如氨氮,采用纳氏试剂法(HJ 535—2009)<sup>[23]</sup>测试时,其标准曲线的  $r$  值要求  $\geq 0.9990$ ,线性范围在  $0.10 \sim 2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,而依据《污水综合排放标准》(GB 8978—1996)<sup>[24]</sup>,氨氮的排放限值在  $15 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间,远远超过了标准曲线的线性范围,虽然不确定区仍然存在,但其区间相对较小,合格判定的风险也较小。而废水急性毒性评价,由于排放限值较低,无法避免地导致了较大的不确定区,从而增加了合格判定的风险。

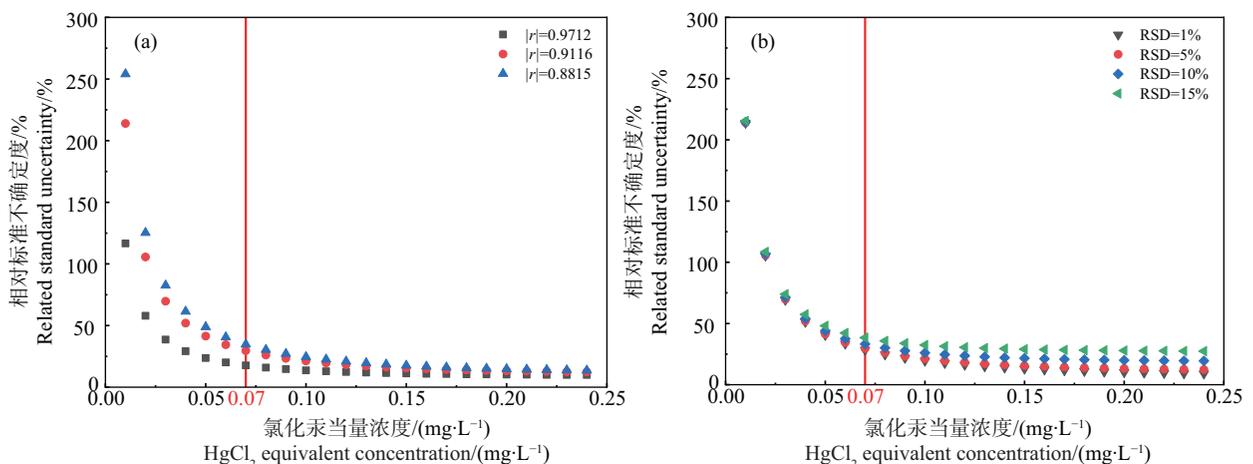


图 6 不同氯化汞毒性当量的相对标准不确定度

注:RSD 表示相对标准偏差。

Fig. 6 The relative uncertainty of the different  $\text{HgCl}_2$  equivalent concentration

Note: RSD stands for relative standard deviation.

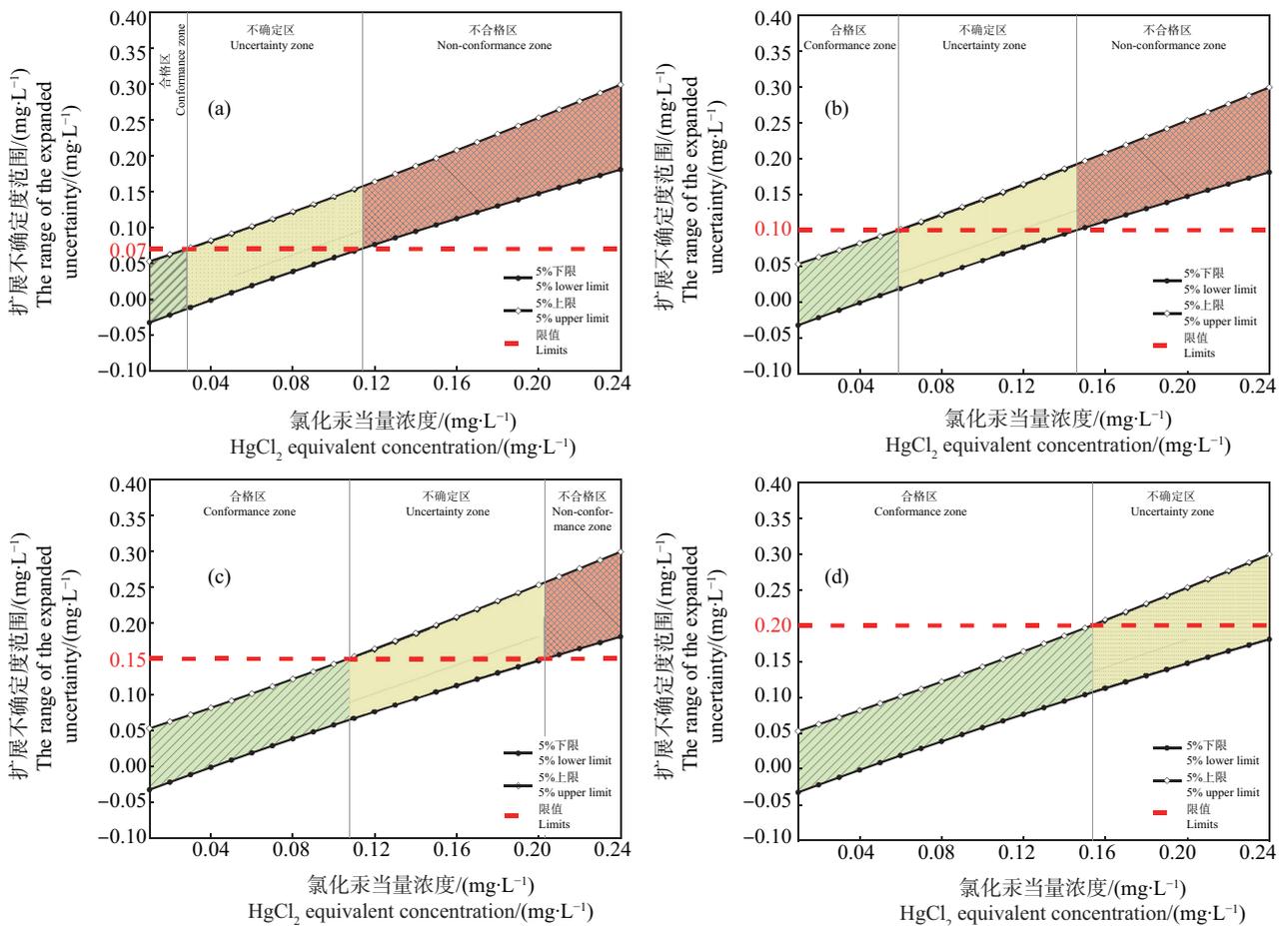


图7 假设不同排放限值情况下的合格区、不确定区和不合格区

Fig. 7 The conformance, uncertainty, and non-conformance zones of different discharge limit

### 3.2 氯化汞毒性当量的定性判定

采用发光细菌测定废水急性毒性的定量方法时,定量方法因存在不确定区较大的问题,可能严重影响检测结果的准确判定,而又由于不确定区会因为标准曲线及平行测定精密度的变化而变化,导致无法通过设置“保护带”的方法来降低误判的风险。为解决该问题,可采用定性判定的方法测定废水急性毒性,通过使用双样本  $t$  检验的方法比较废水样品的相对发光度与  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞溶液的相对发光度的差异,当废水样的相对发光度  $\geq 0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞溶液的相对发光度时,则可直接判定废水样品合格,否则可判定废水样品不合格。

从表5中可见,制药废水1#、2#、3#采用定量的方法,其氯化汞毒性当量均处于不确定区,因而无法准确判定其急性毒性是否合格。采用定性分析的方法,通过双样本  $t$  检验,可以得到制药废水1#和2#的  $t$  值均大于  $-1.812$ ,即接受  $H_0$ ,其急性毒性合格;而制药废水3#的  $t$  值则小于  $-1.812$ ,即拒绝  $H_0$ ,接

受  $H_1$ ,其急性毒性不合格,从而解决了定量方法无法进行合格判定的问题。对于制药废水4#,定量和定性的判定结果均为合格,证明定性的方法对于排放合格的样品同样能进行准确判断。

综上所述,本研究通过开展发光细菌法测定废水急性毒性的不确定度研究,阐明了现行国标分析方法及废水急性毒性评价方法存在的局限性。研究发现,采用氯化汞毒性当量表征制药废水急性毒性时,国标采用的定量方法存在较大的不确定区,处于该区域的检测结果将无法准确判定废水的急性毒性是否合格,而不确定区会随着标准曲线  $|r|$  值的减小及平行测定相对标准偏差的增大而变大,并导致合格区变小。

为能够准确判断废水的急性毒性是否符合排放标准的要求,本研究在不改变现行测试方法及废水急性毒性评价标准的基础上,采用定性方法,通过双样本  $t$  检验比较废水样品的相对发光度与  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化汞溶液的相对发光度的差异,进而对废水的

急性毒性进行准确判断。通过对实际样品进行测定,对于定量方法无法判定是否合格的样品,定性方法均能进行合格与否的判定,而对于定量方法判定为合格的样品,定性方法得到的结果一致。

表5 实际废水样品检测结果

Table 5 The result of the actual wastewater

项目 Item	制药废水 1# Pharmaceutical wastewater 1#	制药废水 2# Pharmaceutical wastewater 2#	制药废水 3# Pharmaceutical wastewater 3#	制药废水 4# Pharmaceutical wastewater 4#	0.07 mg·L <sup>-1</sup> 氯化汞 0.07 mg·L <sup>-1</sup> HgCl <sub>2</sub>
$\bar{T}/\%$	73.0	76.2	64.0	97.4	79.04
平行测定次数 Times of parallel measurements	3	3	3	3	9
$C \pm U/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	0.072 ± 0.042	0.066 ± 0.041	0.087 ± 0.051	0.030 ± 0.022	—
定量方法合格判定 Conformance assessment by quantitative method	不确定 Uncertainty	不确定 Uncertainty	不确定 Uncertainty	合格 Conformance	—
标准偏差/% Standard deviation/%	4.54	7.37	4.00	6.99	10.17
F 值 F value	5.014	1.901	6.452	2.112	$F_{0.05}(8, 2) = 19.37$
F 检验 F-test	方差齐 Equal variances	方差齐 Equal variances	方差齐 Equal variances	方差齐 Equal variances	—
t 值 t value	-0.973	-0.433	-2.433	2.868	$-t_{0.05}(10) = -1.812$
定性方法合格判定 Conformance assessment by qualitative method	合格 Conformance	合格 Conformance	不合格 Non-conformance	合格 Conformance	—

注:  $C \pm U$  为氯化汞毒性当量 ± 扩展不确定度。

Note:  $C \pm U$  is HgCl<sub>2</sub> equivalent concentration ± expanded uncertainty.

通信作者简介:梅承芳(1979—),女,博士,正高级工程师,主要研究方向为生态毒理与环境风险评估。

#### 参考文献 (References):

- [1] 李鑫. 多元生物毒素联合毒性统计分析[D]. 北京: 北京林业大学, 2016: 2-5  
Li X. Statistical analysis of joint toxicity of biotoxins [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2016: 2-5 (in Chinese)
- [2] Li X, Pi L, Nie M, et al. Joint effects of rotational extrusion and TiO<sub>2</sub> on performance and antimicrobial properties of extruded polypropylene copolymer pipes [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2015, 132(33): 51-61
- [3] Uribe R, Fuentes-García A. The effects of TV unhealthy food brand placement on children. Its separate and joint effect with advertising [J]. Appetite, 2015, 91: 165-172
- [4] 孙成华, 刘康, 衡丽娜, 等. 水样发光细菌急性毒性测试的方式与表征[J]. 中国环境监测, 2014, 30(6): 123-128  
Sun C H, Liu K, Heng L N, et al. Luminescent bacteria acute toxicity test of water and its characterization [J]. Environmental Monitoring in China, 2014, 30(6): 123-128 (in Chinese)
- [5] 朱金国, 刘红霞. 发光细菌检测四环素族抗生素体系的建立[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(2): 150-153  
Zhu J G, Liu H X. System constructed to detect tetracyclines drug by luminescent bacteria [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2005, 17(2): 150-153 (in Chinese)
- [6] 王亚群. 利用海洋发光细菌进行水产品中氯霉素残留检测的方法研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008: 10-12  
Wang Y Q. Studies on the determination of chloramphenicol residues in the aquatic foods by luminescent bacteria

- [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008: 10-12 (in Chinese)
- [7] Ma X Y, Wang X C, Liu Y J. Study of the variation of ecotoxicity at different stages of domestic wastewater treatment using *Vibrio-qinghaiensis* sp.-Q67 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 190(1-3): 100-105
- [8] 高品, 于晓霏, 杨婧, 等. 工业废水综合毒性评价方法及其应用研究进展[J]. 工业水处理, 2023. 10.19965/j.cnki.iwt.2023-0334
- [9] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL01: 2018 检测和校准实验室能力认可准则[S/OL]. [2023-11-19]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/jbzz/2019/02/895558.shtml>
- [10] International Organization for Standardization (ISO), International Electrotechnical Commission (IEC). ISO/IEC Guide 98-4: 2012, Uncertainty of measurement: Part 4: Role of measurement uncertainty in conformity assessment [S]. Geneva: ISO, 2012
- [11] International Organization for Standardization. Geometrical product specifications (GPS): Inspection by measurement of workpieces and measuring equipment: Part 1: Decision rules for verifying conformity or nonconformity with specifications: ISO 14253-1: 2017 [S]. Geneva: International Organization for Standardization, 2017
- [12] 中华人民共和国环境保护部. 发酵类制药工业水污染物排放标准: GB 21903—2008 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008
- [13] 中华人民共和国环境保护部. 化学合成类制药工业水污染物排放标准: GB 21904—2008 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008
- [14] 中华人民共和国环境保护部. 提取类制药工业水污染物排放标准: GB 21905—2008 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008
- [15] 中华人民共和国环境保护部. 中药类制药工业水污染物排放标准: GB 21906—2008 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008
- [16] 中华人民共和国环境保护部. 生物工程类制药工业水污染物排放标准: GB 21907—2008 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008
- [17] 中华人民共和国环境保护部. 混装制剂类制药工业水污染物排放标准: GB 21908—2008 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008
- [18] 国家环境保护局, 国家技术监督局. 水质 急性毒性的测定 发光细菌法: GB/T 15441—1995 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1995
- [19] 倪育才. 实用测量不确定度评定[M]. 5 版. 北京: 中国质检出版社, 2006: 244
- [20] 李真, 苗晶晶, 潘鲁青. 6 种重金属的发光菌毒性效应及其海洋生物物种敏感度分析[J]. 海洋环境科学, 2015, 34(2): 176-183
- Li Z, Miao J J, Pan L Q. Toxicity effect of heavy metals on *Photobacterium phosphoreum* and the species sensitivity comparison with other marine organisms [J]. Marine Environmental Science, 2015, 34(2): 176-183 (in Chinese)
- [21] 杜丽娜, 薛金玲, 余若祯, 等. 对《水质 急性毒性的测定 发光细菌法》的改进和探讨[J]. 中国环境监测, 2013, 29(6): 123-127
- Du L N, Xue J L, Yu R Z, et al. Improvement and exploration for the water quality-determination of the acute toxicity-luminescent bacteria test [J]. Environmental Monitoring in China, 2013, 29(6): 123-127 (in Chinese)
- [22] 岳舜琳, 潘海祥. 用发光细菌监测水质突发性污染的适用性[J]. 给水排水, 2008, 34(3): 28-31
- Yue S L, Pan H X. Applicability of illuminescent bacteria examination for incident water pollution monitoring [J]. Water & Wastewater Engineering, 2008, 34(3): 28-31 (in Chinese)
- [23] 中华人民共和国环境保护部. 水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法: HJ 535—2009 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010
- [24] 国家环境保护总局. 污水综合排放标准: GB 8978—1996 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1998