



中华人民共和国国家环境保护标准

HJ 442.6-2020

代替 HJ 442-2008

近岸海域环境监测技术规范 第六部分 近岸海域生物监测

Technical specification for offshore environmental monitoring

Part 6 offshore biological monitoring

(发布稿)

本电子版为发布稿，请以中国环境出版集团出版的正式标准文本为准。

2020-12-16 发布

2021-03-01 实施

生态环境部 发布

目 次

前 言.....	II
1 适用范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 近岸海域生物监测的一般要求.....	3
5 生物样品采集、保存和运输.....	3
6 生物样品分析.....	5
7 生物监测质量控制.....	5

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》《中华人民共和国海洋环境保护法》《中华人民共和国防治陆源污染物污染损害海洋环境管理条例》《中华人民共和国防治海岸工程建设项目污染损害海洋环境管理条例》和《近岸海域环境功能区管理办法》，规范近岸海域生态环境质量监测，保护生态环境，保证全国近岸海域环境监测的科学性、准确性、系统性、可比性和代表性，制定本标准。

本标准首次发布于2008年，原标准起草单位为中国环境监测总站和浙江省舟山海洋生态环境监测站。本次为第一次修订。修订后标准由下列十个部分组成。

- 第一部分 总则
- 第二部分 数据处理与信息管理
- 第三部分 近岸海域水质监测
- 第四部分 近岸海域沉积物监测
- 第五部分 近岸海域生物质量监测
- 第六部分 近岸海域生物监测
- 第七部分 入海河流监测
- 第八部分 直排海污染源及对近岸海域水环境影响监测
- 第九部分 近岸海域应急与专题监测
- 第十部分 评价及报告

本标准作为修订后标准的第六部分，修订主要针对原标准中近岸海域生物监测的样品采集、保存、运输、实验室分析和质量控制的方法和程序，主要修订以下几方面内容：

- 按照例行监测项目和其他监测项目对监测内容进行了规定；
- 增加确定叶绿素 a 检出限的内容；
- 用大型底栖生物定性和定量采样替代了原底上生物和底内生物采样。

自本标准实施之日起，《近岸海域环境监测规范》（HJ 442-2008）废止。

本标准由生态环境部生态环境监测司、法规与标准司组织制订。

本标准起草单位：中国环境监测总站、浙江省舟山海洋生态环境监测站、天津市生态环境监测中心、辽宁省大连生态环境监测中心。

本标准生态环境部2020年12月16日批准。

本标准自2021年03月01日起实施。

本标准由生态环境部解释。

近岸海域环境监测技术规范

第六部分 近岸海域生物监测

1 适用范围

本标准规定了近岸海域生物监测的样品采集、保存、运输、分析、质量控制的技术要求。本标准适用于近岸海域的生物监测。

2 规范性引用文件

本标准内容引用了下列文件中的条款。凡未注明日期的引用文件，其有效版本适用于本标准。

GB 17378.7 海洋监测规范 第7部分：近海污染生态调查和生物监测

GB/T 17826 海洋生物分类代码

HJ 168 环境监测 分析方法标准制修订技术导则

HJ 442.1 近岸海域环境监测技术规范 第一部分 总则

HJ 442.2 近岸海域环境监测技术规范 第二部分 数据处理与信息管理

HJ 442.3 近岸海域环境监测技术规范 第三部分 近岸海域水质监测

HJ 442.10 近岸海域环境监测技术规范 第十部分 评价及报告

HJ 730 近岸海域环境监测点位布设技术规范

HY/T 147.5 海洋监测技术规程 第5部分：海洋生态

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

生物监测 biological monitoring

定期和定点（区域）分析与测定生物个体、种群或群落因环境污染或变化所产生反应并阐明环境污染状况的环境监测类别。

3.2

浮游植物 phytoplankton

是一类自养型的浮游生物，多为单细胞植物，具有叶绿素或其它色素体，能吸收光能和二氧化碳进行光合作用，自行制造有机体（主要是碳水化合物）。主要包括硅藻、甲藻、绿藻、蓝藻、金藻、黄藻以及藻类孢子等，它们是水域的主要生产者。

3.3

浮游动物 zooplankton

生活于水层中被动地移动的细小动物统称为浮游动物。包括浮游的原生动物、腔肠动物、软体动物的翼足类和异足类、甲壳动物、毛颚动物、被囊动物、浮游幼虫以及其它门类中的个别浮游种类等。按个体大小可分为巨型浮游动物、大型浮游动物、中小型浮游动物和微型浮游动物。本标准中的大型浮游动物、中小型浮游动物分别指使用 GB 17378.7 浅水 I、II 型浮游生物网采集到的浮游动物。

3.4

微生物 microorganism

指个体很小、一般需借助显微镜才能辨认的许多类群的生物。广义的微生物包括细菌、放线菌、霉菌、酵母菌、螺旋体、立克次氏体、支原体、衣原体、病毒、类病毒、原生动物及单细胞藻类。

3.5

群落结构 community structure

是生物群落总体水平上的特征之一，也是群落一系列属性中最主要的一项。群落结构包括营养结构、空间结构（垂直分布和水平分布）、时间结构（昼夜节律和季节性分布）和物种结构等各个方面。

3.6

优势种 dominant species

指生态系统或群落中，数量多、出现频率高的物种。

3.7

种类多样性 species diversity

以一个群落中物种的数目及它们的相对多寡为衡量的指标，既包括群落中现存物种的数目，也包括物种的相对多度（即均度），即群落内或生态系统中物种的多寡和不均匀性。

3.8

均匀度 evenness

反映群落结构均匀性的指数。

3.9

丰度 richness

表示群落（或样品）中种类丰富程度的指数。

3.10

潮间带生物 intertidal benthos

生活在潮间带底表的植物和底表与底内的动物。

3.11

大型底栖生物 *macrobenthos*

生活于水域底上、底内或接近于底上的动植物，统称为底栖生物。大型底栖生物是底栖生物的一类，为不能通过 0.5 mm 孔径网筛的底栖生物。

4 近岸海域生物监测的一般要求

近岸海域生物监测实施方案制定按 HJ 442.1 相关要求执行；监测点位布设按照 HJ 730 要求执行；数据处理与数据上报按 HJ 442.2 要求执行；评价与报告按 HJ 442.10 要求执行。

国家确定的重要河口海湾和重点区域例行监测的生物监测频次为每年按枯、丰、平水期进行 3 次，采样与水质监测结合；其他区域可根据监测条件和评价要求开展，如每年按枯、丰、平水期进行监测或每 2 年选择同一水期监测 1 次。

例行监测项目包括浮游植物、大型浮游动物、叶绿素 *a*、粪大肠菌群、大型底栖生物（定量）。

其他近岸海域生物监测时间、频次等依据监测目的确定；其他监测项目一般包括赤潮生物、中小型浮游动物、大型底栖生物（定性）、大型藻类、细菌总数和鱼类回避反应等。

5 生物样品采集、保存和运输

5.1 采样层次

- a) 各监测项目采样层次参照 GB 17378.7 和 HJ 442.3 执行；
- b) 微生物采表层样；
- c) 叶绿素 *a*、浮游植物定量样品的采样层次同水质采样层次，参见 HJ 442.3；
- d) 浮游植物定性样品、浮游动物样品采集离底 2 m 垂直拖至表层；
- e) 大型底栖生物采集按照 GB 17378.7 执行。

5.2 样品采样

- a) 各监测项目样品采样按照 GB 17378.7 准备和采集；
- b) 采样前的准备：根据调查项目、点位、层次，配备足量的样品瓶、固定剂及其他器材；选用合适的监测用船，采样操作必须在船舶停稳以后才能进行，根据当时的气象及海流条件可适当调整采样的方位，以保证采样的方便、安全；
- c) 微生物采样使用无菌采水器，注意保证整个过程的无菌操作，避免沾污；
- d) 浮游生物采样使用浅水 I、II、III 型浮游生物网，下网不超过 1 m/s；起网约 0.5 m/s；
- e) 大型底栖生物定量采样使用 0.1 m² 的采泥器，每个点位取 3 次；特殊情况下，不少于 2 次；若条件不许可，可使用 0.05 m² 的采泥器，但需增加采样次数；定性采样使用阿氏拖网，拖网速度控制在 2 节左右，每个点位拖网时间为 10 min；
- f) 潮间带定量取样：在高、中和低潮区进行采样，滩涂定量取样用定量采样器，样方

- 数每站通常取 8 个（合计 0.5 m²）；若滩面沉积物类型较一致、生物分布较均匀，可考虑取 4 个样方；岩石岸定量取样一般用 25 cm×25 cm 的定量框，每站取 2 个样方；若生物栖息密度很高，且分布较均匀，可考虑采用 10 cm×10 cm 的定量框；
- g) 潮间带定性取样：每站定量取样的同时，应尽可能将该站附近出现的动植物种类收集齐全，以作分析时参考，但定性样品务必与定量样品分装，不可混淆。

5.3 样品保存及方法

各监测项目样品的固定、保存与运输参照 GB 17378.7，监测项目样品的采集与保存常用方法见表 1。

- a) 微生物样品采集后应尽快分析，时间不超过 2 h，否则，应将样品置于冰瓶或冰箱中，时间不得超过 24 h；
- b) 叶绿素 *a* 样品采集后要立即过滤，然后用铝箔将滤膜包裹起来，在 -20℃ 条件下干燥保存待测；
- c) 浮游植物采水样品以每升水样加入 6 ml~8 ml 鲁哥氏液固定(鲁哥氏液为碘片溶于 5%碘化钾溶液配制的饱和溶液)，摇匀；网采样品加入体积分数为 5%的甲醛溶液；网采样品按所采样品体积的 5%加入甲醛溶液，摇匀；
- d) 浮游动物样品采集后加入体积分数为 5%的甲醛溶液，摇匀；
- e) 大型底栖生物样品采集后经现场海水冲洗干净，暂时性保存用体积分数为 5%~7% 中性甲醛溶液，永久性保存用体积分数为 75%丙三醇乙醇溶液或体积分数为 75%乙醇固定；固定的样品，超过两个月未进行分离鉴定的，应更换一次固定液。

表 1 海洋生物样品采集与保存常用方法

项目	器具名称	适用范围及采集对象	采集方法	容器 ^a	样品量 (ml)	贮存方法	贮存时间
微生物	无菌采水器	细菌等	表层	G	500	0℃~4℃冷藏	24 h
叶绿素 <i>a</i>	GO-FLO 采水器	叶绿素 <i>a</i>	分层	P、G	500~1000	避光，干燥，-20℃	30 d
浮游动物	浅水 I 型	大型浮游动物和鱼卵、仔稚鱼	垂直拖网	P、G	500	加固定剂，避光	永久
	浅水 II 型	中、小型浮游动物	垂直拖网	P、G	500~1000	加固定剂，避光	永久
浮游植物 (网采样品)	浅水 III 型	浮游植物	垂直拖网	P、G	200~500	加固定剂，避光	永久
浮游植物 (水采样品)	GO-FLO 采水器	浮游植物	分层	P、G	500	加固定剂，避光	永久
大型底栖生物	拖网	大型底栖生物	平拖	P、G	-	加固定剂，避光	永久
	采泥器		采泥	P、G	-	加固定剂，避光	永久
潮间带生物	采样器、定量框和过筛器等	潮间带生物	定量和定性	P、G	-	加固定剂，避光	永久

a P 为聚丙烯容器，G 为玻璃容器，以棕色瓶或无色透明瓶套加牛皮纸袋避光处理。

5.4 采样记录、样品交接

海洋生物样品采集过程中必须认真做好记录,对于采样过程中出现的异常情况要作详细的记录。样品交接必须做好交接记录,同时备案。

5.5 样品运输

样品运输应附有清单,清单上注明分析项目、样品种类和数量。

装有样品的容器在运往实验室的过程中,应采取保持样品完整性、防止破碎和倾覆的措施。

6 生物样品分析

近岸海域海洋生物分析按 GB 17378.7 等相关方法进行,常见海洋生物监测项目方法见表 2。

表 2 海洋生物分析方法

分析项目	分析方法	引用标准
叶绿素 <i>a</i>	分光光度法	GB 17378.7-2007 (8.1)
	荧光光度法	GB 17378.7-2007 (8.2)
粪大肠菌群	发酵法	GB 17378.7-2007 (9.1)
	滤膜法	GB 17378.7-2007 (9.2)
细菌总数	平板计数法	GB 17378.7-2007 (10.1)
	直接计数法	GB 17378.7-2007 (10.2)
浮游植物	沉降计数法	GB 17378.7-2007 (5.3.2.1)
	计数法	GB 17378.7-2007 (5.3.2.2)
浮游动物	湿重生物量测定	GB 17378.7-2007 (5.3.3.1)
	体积生物量测定	GB 17378.7-2007 (5.3.3.2)
	个体计数	GB 17378.7-2007 (5.3.3.3)
大型底栖生物	称重、计数(镜检、目检法)、测量	GB 17378.7-2007 (6.3)
潮间带生物	称重、镜检(目检法)	GB 17378.7-2007 (7.3)
麻痹性贝毒	小白鼠试验	GB 17378.7-2007 (14)
	酶联免疫吸附试验法	HY/T 147.5-2013 (19)
生物毒性试验	生物毒性试验	GB 17378.7-2007 (11)
鱼类回避反应试验	鱼类回避反应试验	GB 17378.7-2007 (12)
滤食率测定	滤食率测定	GB 17378.7-2007 (13)

7 生物监测质量控制

7.1 现场样品采集

- a) 采样船只装有可变螺距和减摇装置,拖网采样时控制航速稳定在 2~3 节;
- b) 微生物、叶绿素 *a* 样品采集用现场平行双样进行质量控制,平行样应占样品总量的

10%以上；当样品总数小于或等于 10 个时，可只采集 1 个现场平行样。

7.2 微生物分析

微生物在同类同批的水样中，选出最先检出阳性的 15 个水样，由同一实验人员作平行双样分析，计算双样结果对数差的绝对值之和 \bar{R} ，并与 3.27 的乘积作为精密度判断值，与日常监测的平行双样结果的对数差距值 R_{lg} 比较。当 $R_{lg} \leq 3.27 \bar{R}$ ，为可接受； $R_{lg} > 3.27 \bar{R}$ 为不可接受。示例如下：

表 3 中 n_1 、 n_2 为双样分析的两组数据，如果任一双样结果中有一个为零，则将 n_1 、 n_2 均加 1，再计算对数值。

表 3 精密度判断值的计算

水样号	双样试验结果		双样试验结果的对数值		对数值的差距 R_{lg}
	n_1	n_2	Lgn_1	Lgn_2	$ \lg n_1 - \lg n_2 $
1	89	71	1.9494	1.8513	0.0981
2	38	34	1.5798	1.5315	0.0483
3	58	67	1.7634	1.8261	0.0627
σ	σ	σ	σ	σ	σ
σ	σ	σ	σ	σ	σ
σ	σ	σ	σ	σ	σ
14	7	6	0.8451	0.7782	0.0669
15	110	121	2.0414	2.0828	0.0414

$$\sum R_{lg} = 0.0981 + 0.0483 + 0.0627 + \dots + 0.0669 + 0.0414 = 0.71889 \quad (1)$$

$$\bar{R} = \frac{\sum R_{lg}}{n} = \frac{0.71889}{15} = 0.0479 \quad (2)$$

$$\text{精密度判断值} = 3.27 \bar{R} = 3.27 \times 0.0479 = 0.1566 \quad (3)$$

取待测水样中的 10% 做双样分析，按上所述计算结果。当对数值的差值大于 $3.27 \bar{R}$ （精密度判据）时，表示试验的精密度已失控，须废弃自上一次精密度检查之后的双样试验结果，并找出原因加以纠正后，方可继续监测水样。

定期用最新获得的 15 对双样试验数据计算出最新的精密度判断值，用以比较和检查控制精密度的程度。精密度检验的示例见表 4。

计算：1) $3.27 \bar{R} = 3.27 \times 0.0384 = 0.1256$

判断：由于 $3.27 \bar{R} < 0.1566$ ，因此可接受 (A)

2) $3.27 \bar{R} = 3.27 \times 0.0414 = 0.1354$

由于 $3.27 \bar{R} < 0.1566$ ，因此可接受 (A)

3) $3.27 \bar{R} = 3.27 \times 0.1643 = 0.5373$

由于 $3.27\bar{R} > 0.1566$, 因此不可接受 (U)

表 4 微生物监测双样计数的精密度检验

编号	试验日期	双样试验结果		双样试验结果的对数值		对数值的 差距 R_{lg}	差距能否接受	
		n_1	n_2	Lgn_1	Lgn_2		$3.27 R_{lg}$	判断
1	8.29	71	65	1.8513	1.8129	0.0384	0.1256	A
2	8.30	110	121	2.0414	2.0828	0.0414	0.1354	A
3	8.31	73	50	1.8633	1.6990	0.1643	0.5373	U

7.3 叶绿素分析

- a) 叶绿素 a 取 10% 以上的样品进行平行双样分析, 其平行双样相对偏差要求按 HJ 442.3 表 3 执行;
- b) 检出限的确定按 HJ 168 执行。

7.4 海洋生物种类鉴定

海洋生物种类分类系统按 GB/T 17826 执行。原则上生物的分类鉴定, 尤其是优势种, 应鉴定到种的水平并计数。确实鉴定不到种的, 可鉴定至属。

种类鉴定的质量控制, 采用实验室内不同鉴定人员间互校方法进行, 互校比例为 5%~10%。实验室内不同鉴定人员对种类鉴定的误差不超过 20%。