

中华人民共和国海洋行业标准

HY/T 127—2010

滨海旅游度假区环境评价指南

Guidelines for safe coastal recreational water environments assessment

2010-02-10 发布

2010-03-01 实施

国家海洋局 发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 环境质量要素的测定	3
4.1 水环境要素的测定	3
4.2 气象要素的测定	4
4.3 水文要素的测定	4
4.4 景观要素的测定	4
4.5 沙滩地质要素的测定	4
4.6 数据处理与分析质量控制	4
4.7 站位布设	4
4.8 监测时段	4
4.9 监测频率	4
5 滨海旅游度假区环境评价指数的计算方法与等级划分	4
5.1 指数类型	4
5.2 防晒指数	5
5.3 水质指数	6
5.4 海面状况指数	7
5.5 海底观光指数	8
5.6 海上观光指数	9
5.7 海滨观光指数	10
5.8 游泳指数	12
5.9 海上休闲活动指数	13
5.10 沙滩娱乐指数	14
5.11 海钓指数	15
6 滨海旅游度假区环境年度综合评价	16
6.1 年平均指数	16
6.2 年平均指数等级划分	17
6.3 年平均休闲(观光)活动指数求算	17
附录 A (规范性附录) 肠球菌检测方法——最大可能数法	18
A.1 范围	18
A.2 原理	18
A.3 仪器设备	18
A.4 样品采集	18
A.5 培养基及稀释液	18
A.5.1 简介	18
A.5.2 稀释液	19

A. 5.3 培养基(MUD/SF 培养基)	19
A. 6 步骤	20
A. 6.1 稀释液的选择	20
A. 6.2 稀释	20
A. 6.3 接种及培养	20
A. 6.4 结果观察	20
A. 7 结果表征(特征值的确定)	20
A. 8 检测报告	21
附录 B (规范性附录) 肠球菌的检测与计数——滤膜法	22
B. 1 范围	22
B. 2 原理	22
B. 2.1 过滤、培养和计数	22
B. 2.2 确认	22
B. 3 仪器设备	22
B. 4 培养基和试剂	22
B. 4.1 基本材料	22
B. 4.2 培养基	23
B. 5 取样	23
B. 6 测定步骤	24
B. 6.1 样品准备	24
B. 6.2 过滤和培养	24
B. 6.3 确认和计数	24
参考文献	25

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准由国家海洋环境监测中心提出。

本标准由全国海洋标准化技术委员会(SAC/TC 283)归口。

本标准起草单位:国家海洋环境监测中心、国家海洋环境预报中心。

本标准主要起草人:王菊英、周连翔、张微微、张志锋、陈宇春、陈畅曙、吴迪。

滨海旅游度假区环境评价指南

1 范围

本标准规定了滨海旅游度假区环境评价的指标体系及与滨海旅游度假区休闲娱乐活动有关的各种海洋环境指数的定义、计算方法和分级方法。

本标准适用于中华人民共和国各级海洋监测部门评估滨海旅游度假区的环境状况。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 3097 海水水质标准

GB/T 12763.8 海洋调查规范 第8部分:海洋地质地球物理调查

GB/T 14914 海滨观测规范

GB 17378.2 海洋监测规范 第2部分:数据处理与分析质量控制

GB 17378.4 海洋监测规范 第4部分:海水分析

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 18972-2003 旅游资源分类、调查与评价

HY/T 069 赤潮监测技术规程

QX/T 46 地面气象观测规范 第2部分:云的观测

QX/T 48 地面气象观测规范 第4部分:天气现象观测

QX/T 52 地面气象观测规范 第8部分:降水观测

QX/T 87 紫外线指数预报

ISO 5667-1 水质 取样 第1部分:取样方法设计手册

ISO 5667-2 水质 取样 第2部分:取样技术手册

ISO 5667-3 水质 取样 第3部分:样品的保存与处理手册

ISO 8199 水质 微生物培养物的计数指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

休闲娱乐活动(运动) recreational activity

在滨海旅游度假区的水体中或与水体相邻的陆地部分——海滩,所进行的游泳、潜水、划水、冲浪、涉水、划船、钓鱼、风景欣赏、散步和球类等活动(运动)。

3.2

防晒指数 sun protection index

以紫外线强度为度量依据,考虑紫外线辐射对人体可能产生的影响程度,得到的在滨海旅游度假区开展休闲娱乐活动(运动)时是否需要采取相应防护措施的指标。

3.3

水质指数 seawater quality index

综合考虑粪大肠菌群,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,化学需氧量,溶解氧等水质因素,得到的滨海旅游度假区海域水质是否适宜开展各类滨海休闲娱乐活动的综合指标。

3.4

海面状况指数 marine physical condition index

综合考虑水温、浪高、天气现象、气温、风力、能见度等因素,得到的滨海旅游度假区海域水文、气象状况是否适宜开展各类滨海休闲娱乐活动的综合指标。

3.5

海底观光指数 submarine sightseeing index

综合考虑水体透明度,令人厌恶的生物,危险的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,海底景观,水温,浪高等因素,得到的是否适宜自潜或在潜水器中欣赏滨海旅游度假区海域水下景观的指标。

3.6

海上观光指数 marine sightseeing index

综合考虑令人厌恶的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,景观要素,浪高,天气现象,气温,风力,能见度等因素,得到的是否适宜乘船在海上欣赏滨海旅游度假区海域景观的指标。

3.7

海滨观光指数 seashore sightseeing index

综合考虑令人厌恶的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,景观要素,天气现象,气温,风力,能见度等因素,得到的是否适宜在滨海旅游度假区海滨欣赏海域景观的指标。

3.8

游泳指数 swimming index

综合考虑粪大肠菌群,令人厌恶的生物,危险的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,溶解氧,水温,浪高,天气现象,气温,风力,能见度等因素,得到的是否适宜在滨海旅游度假区海域游泳的指标。

3.9

海上休闲活动指数 marine recreation index

综合考虑色、臭、味,赤潮,漂浮物质,水温,浪高,天气现象,气温,风力,能见度等因素,得到的是否适宜在滨海旅游度假区海域开展海上休闲娱乐活动的指标。

3.10

沙滩娱乐指数 beach entertainment index

综合考虑沙滩自然状况,包括沙滩长度、涨潮线上宽度、前滨坡度、滩肩坡度、沙质颗粒成分,及色、臭、味,赤潮,天气现象,气温,风力等因素,得到的是否适宜在滨海旅游度假区沙滩上开展各种休闲娱乐活动的指标。

3.11

海钓指数 angling index

综合考虑色、臭、味,赤潮,浪高,天气现象,气温,风力等因素,得到的是否适宜在滨海旅游度假区海域垂钓的指标。

3.12

前滨 beach head

又称“滩面”,位于平均低潮线到平均高潮线之间的海岸带。

3.13

后滨 beach bottom

又称“后滩”,位于平均高潮线至特大高潮线之间的海岸带。

3.14

滩肩 beach berm

后滨与前滨分界处稍向岸倾的部分。

4 环境质量要素的测定

4.1 水环境要素的测定

滨海旅游度假区水环境要素的分析方法见表 1。

表 1 环境质量监测项目和观测、分析方法

类别	序号	项目	观测、分析方法	引用标准	
水环境要素	生物学要素	1	粪大肠菌群	发酵法	GB 17378.7
		2	肠球菌	发酵法	见附录 A
				滤膜法	见附录 B
		3	赤潮	目测法	HY/T 069
				生物计数法	HY/T 069
		4	令人厌恶的生物	目视法	—
	5	危险的生物	目视法	—	
	物理化学要素	6	透明度	透明度盘法	GB 17378.4
		7	色	比色法	GB 17378.4
			嗅和味	感官法	GB 17378.4
8		漂浮物质	目测法	—	
9		溶解氧	碘量法	GB 17378.4	
10	化学需氧量	碱性高锰酸钾法	GB 17378.4		
水文要素	11	水温	器测	GB/T 14914	
	12	浪高	目测或器测	GB/T 14914	
气象要素	13	总云量	目测	QX/T 46	
	14	天气现象	目测	QX/T 48	
	15	降水量	器测	QX/T 52	
	16	气温	器测	GB/T 14914	
	17	风向和风速	器测	GB/T 14914	
	18	海面能见度	目测或器测	GB/T 14914	
	19	紫外线指数	—	QX/T 87	
景观要素	20	旅游资源等级	比较分析	GB/T 18972—2003	
沙滩地质要素	21	长度	背景调查	—	
	22	涨潮线上宽度	背景调查	—	
	23	颗粒成分	综合法	GB/T 12763.8	
	24	坡度	前滨	背景调查	—
滩肩			背景调查	—	

4.2 气象要素的测定

滨海旅游度假区气象要素的观测方法见表 1。

4.3 水文要素的测定

滨海旅游度假区水文要素的观测方法见表 1。

4.4 景观要素的测定

滨海旅游度假区景观要素的观测方法见表 1。

4.5 沙滩地质要素的测定

滨海旅游度假区沙滩地质要素的观测方法见表 1。

4.6 数据处理与分析质量控制

测定数据的处理与分析、质量控制应按 GB 17378.2、GB 17378.7 以及附录 A 和附录 B 中的相关规定执行。

4.7 站位布设

在滨海旅游度假区的水体中,所设置的水环境要素监测站位总数不应少于 6 个。所布设的站位应均匀分布于整个滨海旅游度假区的水体,应包括游人密度最大的站点和易受外部污染的外围点。可设(2~3)个断面,每个断面应设置(3~8)个测站。断面方向应与主潮流方向或海岸垂直,在游人密度最大处应设主断面。

4.8 监测时段

北区:浙江以北(含浙江)各滨海旅游度假区的监测时段为 4 月 24 日~10 月 7 日;

南区:福建以南(含福建)各滨海旅游度假区的监测时段为 3 月 24 日~10 月 30 日。

4.9 监测频率

4.9.1 水环境要素

不同的水环境要素的监测频率分别为:

a) 必测要素

——每天一次:令人厌恶的生物,危险的生物,赤潮,透明度,色、臭、味,漂浮物质;

——每周一次:粪大肠菌群,溶解氧;

——每月一次:化学需氧量。

b) 选测要素

——每周一次:肠球菌;

——每月一次:GB 3097 中规定的其他水环境要素。

4.9.2 水文气象要素

水文气象要素的监测频率为每天两次(每天的北京时间 08 点和 14 点)。

4.9.3 景观要素

景观要素的监测频率为每年一次。

4.9.4 沙滩地质要素

沙滩地质要素的监测频率为每年一次。

5 滨海旅游度假区环境评价指数的计算方法与等级划分

5.1 指数类型

滨海旅游度假区环境评价采用指数方式,分别求算环境指数和专项休闲、观光活动(运动)指数。

滨海旅游度假区环境指数包括防晒指数、水质指数和海面状况指数。

专项休闲、观光活动(运动)指数包括海底观光指数、海上观光指数、海滨观光指数、游泳指数、海上休闲活动指数、沙滩娱乐指数和海钓指数。

5.2 防晒指数

5.2.1 特征要素及赋分

以总云量、滨海旅游度假区的地理位置和月份等3项特征要素作为判断滨海旅游度假区防晒指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表2。

表2 防晒特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	分类				
	一类	二类	三类	四类	五类
总云量(成)	10	8~9	5~7	2~4	0~1
赋分	10	8	5	3	0
地理位置	35° N 以北区域	30° N 至 35° N 之间的区域	25° N 至 30° N 之间的区域	20° N 至 25° N 之间的区域	20° N 以南区域
月份	11,12,1	2,10	3,9	4	5,6,7,8
赋分	4	3	2	1	0

5.2.2 防晒指数求算

防晒指数采用因子相加法求算：

$$SP = Sp_1 + Sp_2 + Sp_3 \dots\dots\dots(1)$$

式中：

SP ——防晒指数；

Sp_1 ——总云量的赋分；

Sp_2 ——滨海旅游度假区的地理位置的赋分；

Sp_3 ——月份的赋分。

5.2.3 等级划分

防晒指数的等级划分根据5.2.2中公式(1)求算的防晒指数确定,也可根据紫外线指数确定。划分标准及相应的等级说明见表3。

表3 防晒指数的分级说明

级别	防晒指数	紫外线指数	紫外线辐射强度	等级说明
一级	≥ 10	≤ 2	弱	紫外线辐射强度较弱,进行户外活动时一般不需要采取防护措施;若长时间进行户外活动,建议涂擦 SPF 在 8~12 之间的防晒护肤品
二级	8,9	3~5	中等	紫外线辐射强度一般,进行户外活动时可适当涂擦防晒霜,建议涂擦 SPF 在 12~15 之间的防晒护肤品
三级	5,6,7	6~7	强	紫外线辐射强度较强,进行户外活动时应注意防护,建议戴防护帽和太阳镜,涂擦 SPF 高于 15、PA+ 的防晒护肤品
四级	2,3,4	8~10	很强	紫外线辐射强度很强,进行户外活动时应加强防护,建议戴防护帽和太阳镜,涂擦 SPF 在 15~20 之间、PA++ 的防晒护肤品
五级	0,1	≥ 11	极强	紫外线辐射强度极强,不适宜长时间进行户外活动;若进行户外活动,建议戴防护帽和太阳镜,涂擦 SPF20 以上、PA++ 的防晒护肤品。

紫外线指数的计算方法依据 QX/T 87 中的规定进行。

注1: SPF(Sun Protection Factor),也称防晒系数,表明防晒用品所能发挥的防晒效能的高低。

注2: PA 是防御紫外线到何种程度的指标。PA+ 表示有效、PA++ 表示相当有效。

5.3 水质指数

5.3.1 各站位监测数据的平均值求算方法

若监测海域设有多个监测站位,某个监测要素的测定结果应以各个站位该要素测定结果的算术平均值表征。滨海旅游度假区内或邻近水域设有排污口,排污口周围测站的监测数据不应与其他站位监测数据进行平均,应视具体情况分区域计算。

5.3.2 特征要素及赋分

以粪大肠菌群,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,化学需氧量,溶解氧等6项特征要素作为判断滨海旅游度假区水体水质指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表4。

表4 水质特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分		单位	分类 ^a		
			一类	二类	三类
粪大肠菌群	一次容许值	个/100 mL	≤100	>100,且≤2 000	>2 000
	月几何均值 ^b		≤100	>100,且≤200	>200
肠球菌	—	个/100 mL	≤40	40~200	>200
色、臭、味 ^c	—	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮 ^d	—	—	无赤潮发生		发生赤潮
漂浮物质	—	—	无(海面不应出现漂浮的油膜、浮沫、聚集的大型藻类和其他漂浮物质 ^e)		有(出现油膜、浮沫、聚集的大型藻类或其他漂浮物质)
化学需氧量	—	mg/L	≤2	>2,且≤3	>3
溶解氧	—	mg/L	>6	5~6	<5
赋分	—	—	2	1	0

^a 若一类和二类标准值相同,则赋分2分。
^b 30天内不少于5次取样的几何平均值。
^c 色、臭、味的判断按GB 17378.4中的相关规定执行。
^d 赤潮发生与否的判别依据HY/T 069中的规定执行。
^e 其他漂浮物质包括沥青残渣、木头、塑料、玻璃制品、橡胶或任何其他可漂浮的固体废物。

除表4中所列要素外,GB 3097中所列其他要素亦可作为判断滨海旅游度假区水体水质指数的判断因子。各要素满足第一类海水水质标准要求的赋分2分,介于第一类海水水质标准和第二类海水水质标准之间的赋分1分,超第二类海水水质标准的赋分0分。

5.3.3 水质指数求算

水质指数采用因子相乘法求算:

$$SQ = Sq_1 \times Sq_2 \times Sq_3 \times Sq_4 \times Sq_5 \times Sq_6 \dots \dots \dots (2)$$

式中:

SQ——水质指数;

Sq₁——粪大肠菌群的赋分;

Sq₂——色、臭、味的赋分;

Sq₃——赤潮的赋分;

Sq₄——漂浮物质的赋分;

Sq₅——化学需氧量的赋分;

Sq_6 ——溶解氧的赋分。

选测要素参与水质指数求算时,按公式(3)计算综合水质指数 SQ_m 。

$$SQ_m = Sq_1 \times Sq_2 \times Sq_3 \times \cdots \times Sq_j \times \cdots \times Sq_m \cdots \cdots (3)$$

式中:

SQ_m ——综合水质指数;

Sq_j ——第 j 项水质评价指标的赋分;

m ——参与评价的水质指标总数。

5.3.4 等级划分

水质指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 5。

表 5 水质指数的分级说明

级别	水质指数	综合水质指数	等级说明
一级	64	2^m	水质极佳,极适宜开展滨海休闲娱乐活动
二级	32	$2^{m-1} \sim 2^{m-2}$	水质优良,很适宜开展滨海休闲娱乐活动
三级	16	$2^{m-2} \sim 2^{m-1}$	水质良好,适宜开展滨海休闲娱乐活动
四级	8	2^k	水质一般,适宜开展滨海休闲娱乐活动
五级	0	0	水质差,不适宜开展人体与海水直接接触的滨海休闲娱乐活动

注: k 为参与水质指数求算的要素中一类和二类标准相同的要素数目, m 为参与水质指数求算的要素总数。

5.4 海面状况指数

5.4.1 特征要素及赋分

以水温、浪高、天气现象、气温、风力和能见度等 6 项水文、气象要素作为判断滨海旅游度假区海面状况指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表 6。

表 6 海面状况特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
水温	℃	≥ 23.0	≥ 18.0 , 且 < 23.0	< 18.0
浪高	m	≤ 1.0	> 1.0 , 且 ≤ 2.0	> 2.0
天气现象	—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风
气温	℃	≥ 20.0 , 且 ≤ 35.0	≥ 15.0 , 且 < 20.0 ; 或 > 35.0	< 15.0
风力	级	≤ 3	4~5	≥ 6
能见度	km	≥ 10	≥ 1 , 且 < 10	< 1
赋分	—	2	1	0

5.4.2 海面状况指数求算

海面状况指数采用因子相乘法求算:

$$OS = Os_1 \times Os_2 \times Os_3 \times Os_4 \times Os_5 \times Os_6 \cdots \cdots (4)$$

式中:

OS ——海面状况指数;

Os_1 ——水温的赋分;

Os_2 ——浪高的赋分;

Os_3 ——天气现象的赋分;

O_{s_4} ——气温的赋分；

O_{s_5} ——风力的赋分；

O_{s_6} ——能见度的赋分。

5.4.3 等级划分

海面状况指数的等级划分标准及相应的等级说明见表7。

表7 海面状况指数的分级说明

级别	海面状况指数	等级说明
一级	64,32	海面状况极佳,极适宜开展滨海休闲观光活动
二级	16,8	海面状况优良,很适宜开展滨海休闲观光活动
三级	4,2	海面状况良好,适宜开展滨海休闲观光活动
四级	1	海面状况一般,适宜开展滨海休闲观光活动
五级	0	海面状况差,不适宜开展滨海休闲观光活动

5.5 海底观光指数

5.5.1 特征要素及赋分

以水体透明度,令人厌恶的生物,危险的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,海底景观,水温,浪高等9项特征要素作为海底观光指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表8。

表8 海底观光指数特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
透明度	m	≥ 3	≥ 1.5 ,且 < 3	< 1.5
		且人为因素引起的透明度变化不大于20%		且人为因素引起的透明度变化大于20%
令人厌恶的生物 ^a	--	无		有
危险的生物 ^b	—	无		有
色、臭、味	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮	—	无赤潮发生		发生赤潮
漂浮物质	—	无(海面不应出现漂浮的油膜、浮沫、聚集的大型藻类和其他漂浮物质)		有(出现油膜、浮沫、聚集的大型藻类或其他漂浮物质)
海底景观	—	五级、四级、三级旅游资源	二级、一级旅游资源	未获等级旅游资源
水温	℃	≥ 23.0	≥ 18.0 ,且 < 23.0	< 18.0
浪高	m	≤ 1.0	> 1.0 ,且 ≤ 1.5	> 1.5
赋分	—	2	1	0

^a 水体中过量繁殖和堆积的大型植物、蓝绿藻、污水真菌和浮游植物等。

^b 水体中的带有传染性疾病的生物和对人体存在潜在伤害风险的生物(如,水母、海胆等)。

5.5.2 海底观光指数求算

海底观光指数采用因子相乘法求算：

$$SM = Sm_1 \times Sm_2 \times Sm_3 \times Sm_4 \times Sm_5 \times Sm_6 \times Sm_7 \times Sm_8 \times Sm_9 \dots\dots\dots(5)$$

式中：

SM ——海底观光指数；

Sm_1 ——水体透明度的赋分；

Sm_2 ——令人厌恶的生物的赋分；

Sm_3 ——危险的生物的赋分；

Sm_4 ——色、臭、味的赋分；

Sm_5 ——赤潮的赋分；

Sm_6 ——漂浮物质的赋分；

Sm_7 ——海底景观的赋分；

Sm_8 ——水温的赋分；

Sm_9 ——浪高的赋分。

5.5.3 等级划分

海底观光指数的等级划分标准及相应的等级说明见表9。

表9 海底观光指数的分级说明

级别	海底观光指数	等级说明
一级	512,256	海域环境状况极佳,海底景观优美,极适宜海底观光
二级	128	海域环境状况优良,海底景观优美,很适宜海底观光
三级	64	海域环境状况良好,适宜海底观光
四级	32	海域环境状况一般,适宜海底观光
五级	0	海域环境状况差,不适宜海底观光

5.6 海上观光指数

5.6.1 特征要素及赋分

以令人厌恶的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,景观要素,浪高,天气现象,气温,风力,能见度等10项特征要素作为海上观光指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表10。

表10 海上观光指数特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
令人厌恶的生物	—	无		有
色、臭、味	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮	—	无赤潮发生		发生赤潮
漂浮物质	—	无(海面不应出现漂浮的油膜、浮沫、聚集的大型藻类和其他漂浮物质)		有(出现油膜、浮沫、聚集的大型藻类或其他漂浮物质)
景观要素	—	五级、四级、三级旅游资源	二级、一级旅游资源	未获等级旅游资源
浪高	m	≤1.0	>1.0,且≤2.0	>2.0
天气现象	—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风

表 10 (续)

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
气温	℃	≥15.0, 且 ≤35.0	≥10.0, 且 <15.0; 或 >35.0, 且 ≤38.0	<10.0, 且 >38.0; 或 ≥30.0, 且相对湿度 ≥80%
风力	级	≤3	4~5	≥6
能见度	km	≥10	≥5, 且 <10	<5
赋分	—	2	1	0

5.6.2 海上观光指数求算

海上观光指数采用因子相乘法求算:

$$MS = Ms_1 \times Ms_2 \times Ms_3 \times Ms_4 \times Ms_5 \times Ms_6 \times Ms_7 \times Ms_8 \times Ms_9 \times Ms_{10} \dots\dots\dots(6)$$

式中:

MS ——海上观光指数;

Ms_1 ——令人厌恶的生物的赋分;

Ms_2 ——色、臭、味的赋分;

Ms_3 ——赤潮的赋分;

Ms_4 ——漂浮物质的赋分;

Ms_5 ——景观要素的赋分;

Ms_6 ——浪高的赋分;

Ms_7 ——天气现象的赋分;

Ms_8 ——气温的赋分;

Ms_9 ——风力的赋分;

Ms_{10} ——能见度的赋分。

5.6.3 等级划分

海上观光指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 11。

表 11 海上观光指数的分级说明

级别	海上观光指数	等级说明
一级	1024,512	海滨环境状况极佳,海上景观优美,极适宜海上观光
二级	256,128	海滨环境状况优良,海上景观优美,很适宜海上观光
三级	64,32	海滨环境状况良好,适宜海上观光
四级	16	海滨环境状况一般,适宜海上观光
五级	0	海滨环境状况差,不适宜海上观光

5.7 海滨观光指数

5.7.1 特征要素及赋分

以令人厌恶的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,景观要素,天气现象,气温,风力,能见度等 9 项特征要素作为海滨观光指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表 12。

表 12 海滨观光指数特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
令人厌恶的生物	—	无		有
色、臭、味	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮	—	无赤潮发生		发生赤潮
漂浮物质	—	无(海面不应出现漂浮的油膜、浮沫、聚集的大型藻类和其他漂浮物质)		有(出现油膜、浮沫、聚集的大型藻类或其他漂浮物质)
景观要素	—	五级、四级、三级旅游资源	二级、一级旅游资源	未获等级旅游资源
天气现象	—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风
气温	℃	≥ 10.0 , 且 ≤ 35.0	≥ 0.0 , 且 < 10.0 ; 或 > 35.0 , 且 ≤ 38.0	< 0.0 , 或 > 38.0 ; 或 ≥ 30.0 , 且相对湿度 $\geq 80\%$
风力	级	≤ 4	5~6	≥ 7
能见度	km	≥ 10	≥ 5 , 且 < 10	< 5
赋分	—	2	1	0

5.7.2 海滨观光指数求算

海滨观光指数采用因子相乘法求算：

$$SS = S_{S_1} \times S_{S_2} \times S_{S_3} \times S_{S_4} \times S_{S_5} \times S_{S_6} \times S_{S_7} \times S_{S_8} \times S_{S_9} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

SS——海滨观光指数；

S_{S_1} ——令人厌恶的生物的赋分；

S_{S_2} ——色、臭、味的赋分；

S_{S_3} ——赤潮的赋分；

S_{S_4} ——漂浮物质的赋分；

S_{S_5} ——景观要素的赋分；

S_{S_6} ——天气现象的赋分；

S_{S_7} ——气温的赋分；

S_{S_8} ——风力的赋分；

S_{S_9} ——能见度的赋分。

5.7.3 等级划分

海滨观光指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 13。

表 13 海滨观光指数的分级说明

级别	海滨观光指数	等级说明
一级	512,256	海滨环境状况极佳,海陆景观优美,极适宜海滨观光
二级	128,64	海滨环境状况优良,海陆景观优美,很适宜海滨观光
三级	32	海滨环境状况良好,适宜海滨观光
四级	16	海滨环境状况一般,适宜海滨观光
五级	0	海滨环境状况差,不适宜海滨观光

5.8 游泳指数

5.8.1 特征要素及赋分

以粪大肠菌群,令人厌恶的生物,危险的生物,色、臭、味,赤潮,漂浮物质,溶解氧,水温,浪高,天气现象,气温,风力,能见度等 13 项特征要素作为游泳指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表 14。

表 14 游泳指数特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分		单位	分类		
			一类	二类	三类
粪大肠菌群	一次容许值	个/100 mL	≤100	>100,且≤2 000	>2 000
	月几何均值		≤100	>100,且≤200	>200
令人厌恶的生物		—	无		有
危险的生物		—	无		有
色、臭、味		—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮		—	无赤潮发生		发生赤潮
漂浮物质		—	无(海面不应出现漂浮的油膜、浮沫、聚集的大型藻类和其他漂浮物质)		有(出现油膜、浮沫、聚集的大型藻类或其他漂浮物质)
溶解氧		mg/L	>6	5~6	<5
水温		℃	≥23.0,且≤28.0	≥20.0,且<23.0; 或>28.0,且≤33.0	<20.0;或>33.0
浪高		m	≤1.0	>1.0,且≤1.8	>1.8
天气现象		—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风
气温		℃	≥25.0	≥20.0,且<25.0	<20.0
风力		级	≤3	4~5	≥6
能见度		km	≥10	≥1,且<10	<1
赋分		—	2	1	0

5.8.2 游泳指数求算

游泳指数采用因子相乘法求算:

$$SW = Sw_1 \times Sw_2 \times Sw_3 \times Sw_4 \times Sw_5 \times Sw_6 \times Sw_7 \times Sw_8 \times Sw_9 \times Sw_{10} \times Sw_{11} \times Sw_{12} \times Sw_{13} \dots\dots\dots(8)$$

式中:

- SW——游泳指数;
- Sw₁——粪大肠菌群的赋分;
- Sw₂——令人厌恶的生物的赋分;
- Sw₃——危险的生物的赋分;
- Sw₄——色、臭、味的赋分;
- Sw₅——赤潮的赋分;
- Sw₆——漂浮物质的赋分;

Sw_7 ——溶解氧的赋分；

Sw_8 ——水温的赋分；

Sw_9 ——浪高的赋分；

Sw_{10} ——天气现象的赋分；

Sw_{11} ——气温的赋分；

Sw_{12} ——风力的赋分；

Sw_{13} ——能见度的赋分。

5.8.3 等级划分

游泳指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 15。

表 15 游泳指数的分级说明

级别	游泳指数	等级说明
一级	$\geq 4\ 096$	海滨浴场环境状况极佳,极适宜游泳
二级	2 048,1 024,	海滨浴场环境状况优良,很适宜游泳
三级	512,256	海滨浴场环境状况良好,适宜游泳
四级	128,64,32	海滨浴场环境状况一般,适宜游泳
五级	0	海滨浴场环境状况差,不适宜游泳

5.9 海上休闲活动指数

5.9.1 特征要素及赋分

以色、臭、味,赤潮,漂浮物质,水温,浪高,天气现象,气温,风力,能见度等 9 项特征要素作为海上休闲活动指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表 16。

5.9.2 海上休闲活动指数求算

海上休闲活动指数采用因子相乘法求算:

$$MR = Mr_1 \times Mr_2 \times Mr_3 \times Mr_4 \times Mr_5 \times Mr_6 \times Mr_7 \times Mr_8 \times Mr_9, \dots\dots\dots (9)$$

式中:

MR ——海上休闲活动指数;

Mr_1 ——色、臭、味的赋分;

Mr_2 ——赤潮的赋分;

Mr_3 ——漂浮物质的赋分;

Mr_4 ——水温的赋分;

Mr_5 ——浪高的赋分;

Mr_6 ——天气现象的赋分;

Mr_7 ——气温的赋分;

Mr_8 ——风力的赋分;

Mr_9 ——能见度的赋分。

表 16 海上休闲活动指数特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
色、臭、味	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮	—	无赤潮发生		发生赤潮
漂浮物质	—	无(海面不应出现漂浮的油膜、浮沫、聚集的大型藻类和其他漂浮物质)		有(出现油膜、浮沫、聚集的大型藻类或其他漂浮物质)

表 16 (续)

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
水温	℃	≥23.0	≥20.0,且<23.0	<20.0
浪高	m	≤1.0	>1.0,且≤2.0	>2.0
天气现象	—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风
气温	℃	≥25.0,且≤35.0	≥20.0,且<25.0; 或>35.0,且<38.0	<20.0,或≥38.0
风力	级	≤3	4~5	≥6
能见度	km	≥10	≥1.5,且<10	<1.5
赋分	—	2	1	0

5.9.3 等级划分

海上休闲活动指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 17。

表 17 海上休闲活动指数的分级说明

级别	海上休闲活动指数	等级说明
一级	512,256	海上环境状况极佳,极适宜海上休闲活动
二级	128,64	海上环境状况优良,很适宜海上休闲活动
三级	32,16	海上环境状况良好,适宜海上休闲活动
四级	8	海上环境状况一般,适宜海上休闲活动
五级	0	海上环境状况差,不适宜海上休闲活动

5.10 沙滩娱乐指数

5.10.1 特征要素及赋分

以沙滩长度,涨潮线上宽度,前滨坡度,滩肩坡度,沙质颗粒成分,色、臭、味,赤潮,天气现象,气温,风力等 10 项特征要素作为沙滩娱乐指数的判断因子。沙滩长度、涨潮线上宽度、前滨坡度、滩肩坡度、沙质颗粒成分要素满足表 18 中一类指标要求的赋分 30,满足二类指标要求的赋分 20,满足三类指标要求的赋分 10 分;其余要素满足一类指标要求的赋分 2 分,满足二类指标要求的赋分 1 分,满足三类指标要求的赋分 0 分。

表 18 沙滩娱乐指数特征要素的分类标准

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
色、臭、味	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮	—	无赤潮发生		发生赤潮
天气现象	—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风
气温	℃	≥20.0,且≤35.0	≥15.0,且<20.0; 或>35.0,且≤38.0	<15.0,或>38.0

表 18 (续)

特征要素及赋分		单位	分类		
			一类	二类	三类
风力		级	≤3	4~5	≥6
沙滩长度		m	≥1 000	≥200,且<1 000	<200
涨潮线上宽度		m	≥200	≥30,且<200	<30
坡度	前滨	(°)	≤2	>2,且≤10	>10
	滩肩	(°)	≤10	>10,且≤30	>30
颗粒成分 (粗/中/细/粉沙比)		(%)	<5/(20~25)/ (65~70)/(10~15)	粗砂或粉砂含量较高	粗砂太高(>15%); 或粉砂太高(>30%); 或颗粒成分比例失调

5.10.2 沙滩娱乐指数求算

沙滩娱乐指数采用因子相加与因子相乘的方法组合求算:

$$BE = (Be_1 + Be_2 + Be_3 + Be_4 + Be_5) \times Be_6 \times Be_7 \times Be_8 \times Be_9 \times Be_{10} \dots\dots\dots (10)$$

式中:

BE——沙滩娱乐指数;

Be₁——沙滩长度的赋分;

Be₂——涨潮线上宽度的赋分;

Be₃——前滨坡度的赋分;

Be₄——滩肩坡度的赋分;

Be₅——沙质颗粒成分的赋分;

Be₆——色、臭、味的赋分;

Be₇——赤潮的赋分;

Be₈——天气现象的赋分;

Be₉——气温的赋分;

Be₁₀——风力的赋分。

5.10.3 等级划分

沙滩娱乐指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 19。

表 19 沙滩娱乐指数的分级说明

级别	沙滩娱乐指数	等级说明
一级	≥3 200	海滩综合状况极佳,极适宜在海滩开展各种休闲娱乐活动
二级	<3 200,且≥1 600	海滩综合状况优良,很适宜在海滩开展各种休闲娱乐活动
三级	<1 600,且≥800	海滩综合状况良好,适宜在海滩开展各种休闲娱乐活动
四级	<800,且≥200	海滩综合状况一般,适宜在海滩开展各种休闲娱乐活动
五级	0	海滩综合状况差,不适宜在海滩开展各种休闲娱乐活动

5.11 海钓指数

5.11.1 特征要素及赋分

以色、臭、味,赤潮,浪高,天气现象,气温,风力等 6 项特征要素作为海钓指数的判断因子。各要素的分类标准及赋分见表 20。

表 20 海钓指数特征要素的分类标准及赋分

特征要素及赋分	单位	分类		
		一类	二类	三类
色、臭、味	—	海水不应有异色、异臭、异味		海水出现令人厌恶和感到不快的色、臭、味
赤潮	—	无赤潮发生		发生赤潮
浪高	m	≤1.0	>1.0, 且 ≤1.5	>1.5
天气现象	—	晴、少云、多云、阴	轻雾、霾、烟幕和小雨	雾、中等强度以上的降水、雷暴、龙卷风
气温	℃	≥15.0, 且 ≤35.0	≥10.0, 且 <15.0; 或 >35.0, 且 ≤38.0	<10.0, 或 >38.0; 或 ≥30.0, 且相对湿度 ≥80%
风力	级	≤3	4~5	≥6
赋分	—	2	1	0

5.11.2 海钓指数求算

海钓指数采用因子相乘法求算：

$$SF = Sf_1 \times Sf_2 \times Sf_3 \times Sf_4 \times Sf_5 \times Sf_6 \dots \dots \dots (11)$$

式中：

SF——海钓指数；

Sf_1 ——色、臭、味的赋分；

Sf_2 ——赤潮的赋分；

Sf_3 ——浪高的赋分；

Sf_4 ——天气现象的赋分；

Sf_5 ——气温的赋分；

Sf_6 ——风力的赋分。

5.11.3 等级划分

海钓指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 21。

表 21 海钓指数的分级说明

级别	海钓指数	等级说明
一级	64,32	海域环境状况极佳,极适宜海钓
二级	16	海域环境状况优良,很适宜海钓
三级	8	海域环境状况良好,适宜海钓
四级	4	海域环境状况一般,适宜海钓
五级	0	海域环境状况差,不适宜海钓

6 滨海旅游度假区环境年度综合评价

6.1 年平均指数

滨海旅游度假区环境年度综合评价采用年平均指数法,某项指数的年度综合状况根据该项指数各级别的天数、级别的赋分和监测总天数确定。评价指数划分为一级的赋分 5 分,划分为二级的赋分 4 分,划分为三级的赋分 3 分,划分为四级的赋分 2 分,划分为五级的赋分 1 分,年平均指数按公式(12)求算：

$$AI = \frac{5d_1 + 4d_2 + 3d_3 + 2d_4 + d_5}{d_1 + d_2 + d_3 + d_4 + d_5} \dots\dots\dots(12)$$

式中:

AI——年平均指数;

d_1 ——评价指数划分为一级级别的天数;

d_2 ——评价指数划分为二级级别的天数;

d_3 ——评价指数划分为三级级别的天数;

d_4 ——评价指数划分为四级级别的天数;

d_5 ——评价指数划分为五级级别的天数。

6.2 年平均指数等级划分

年平均指数等级划分标准及相应的等级说明见表 22。

表 22 年平均指数的赋分和分级说明

年平均指数	级别	等级说明
5.0~4.5	极佳	非常适宜开展休闲(观光)活动
4.4~3.5	优良	很适宜开展休闲(观光)活动
3.4~2.5	良好	适宜开展休闲(观光)活动
2.4~1.5	一般	适宜开展休闲(观光)活动
1.4~1.0	较差	不适宜开展休闲(观光)活动

6.3 年平均休闲(观光)活动指数求算

年平均休闲、观光活动(运动)指数是评价在滨海旅游度假区开展各类休闲、观光活动(运动)适宜度的年度综合性评价指标,各滨海旅游度假区根据其实际开展的休闲(观光)活动的总项数和各项休闲(观光)活动的年平均指数确定,采用算术平均值求算:

$$\overline{AI} = \frac{AI_1 + AI_2 + \dots + AI_n}{n} \dots\dots\dots(13)$$

式中:

\overline{AI} ——年平均休闲(观光)活动指数;

AI_1 ——第 1 项休闲(观光)活动的年平均指数;

AI_2 ——第 2 项休闲(观光)活动的年平均指数;

AI_n ——第 n 项休闲(观光)活动的年平均指数;

n ——开展休闲(观光)活动的总项数。

年平均休闲、观光活动(运动)指数的等级划分标准及相应的等级说明见表 22。

附录 A
(规范性附录)

肠球菌检测方法——最大可能数法¹⁾

A.1 范围

本附录给出了通过液体培养来检测并计数水中肠球菌的方法。

本方法适用于任何类型的表层水以及废水,尤其适用于富含悬浮物质的水体。本方法不适用于饮用水及其他类型水体。

本方法的检出限低于 15 个/100 mL。

A.2 原理

将稀释的样品接种于含有脱水培养基的微量滴定板中,在 $44\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,培养 36 h~72 h 后,黑暗状态下在 366 nm 紫外灯下观察结果。用是否能水解 MUD 来判断肠球菌的存在与否,结果记作: MPN/100 mL。

A.3 仪器设备

除提供的设备无菌外,玻璃仪器的灭菌按 ISO 8199 中的相关规定执行。

所需仪器和设备如下:

- 灭菌设备:烘箱或高压灭菌器;
- 恒温培养箱:要求培养温度为 $44\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 管道干燥器或立式分层空气流动箱(P II 级);
- 通风橱;
- 生物安全柜;
- 紫外观察箱(钨灯 366 nm);
- 便携式折光盐度计(可选择的);
- 酸度计($\pm 0.1\text{ pH}$);
- 试管(16 mm×160 mm 和 20 mm×200 mm)或体积相同的瓶子;
- 八道可调式微量移液器或可以定量加 200 μL 的加样器;
- 微量移液器配用吸头(无菌);
- 膜过滤设备(包括过滤液体培养基的孔径为 0.2 μm 的膜过滤器);
- 96 孔平底微量滴定板(每孔体积为 350 μL);
- 覆盖微量滴定板用的无菌吸附板;
- 无菌培养皿;直径为 90 mm。

A.4 样品采集

样品采集及运输按 ISO 8199,ISO 5667-1,ISO 5667-2 和 ISO 5667-3 中的相关规定执行。

A.5 培养基及稀释液

A.5.1 简介

为保证检测结果具较好的重现性,在配制培养基及稀释液时应选择成分和质量一致的化学试剂,用

1) 本附录采用了《ISO 7899-1:1998 水质 表层水和废水中肠球菌的检测和计数 第 1 部分:最大可能数法》中的主要技术方法。

蒸馏水或去离子水配制培养基。所配制的培养基可在黑暗状态, $5\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存 1 个月。

注: 使用其他级别的化学试剂时应注明其在检测中具有相同的作用。

A.5.2 稀释液

A.5.2.1 特殊稀释液(SD)

- 人工海盐: 22.5 g;
- 溴酚蓝溶液: 10 mL;
- 去离子水或蒸馏水: 1 000 mL, $121\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下高压灭菌 15 min~20 min;
- 溴酚蓝溶液: 将 0.04 g 溴酚蓝溶于 100 mL 50% 乙醇溶液中制成, 其目的为使特殊稀释液(SD)变蓝, 使其与去离子水和蒸馏水区分开。

A.5.2.2 去离子水或蒸馏水

稀释所用水必须经蒸馏或去离子, 以免培养时其中的成分影响实验结果。

$121\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下高压灭菌 15 min~20 min。

A.5.3 培养基(MUD/SF 培养基)

A.5.3.1 组成

A 液:

- 胰蛋白胨: 40 g;
- KH_2PO_4 : 10 g;
- D(+)-半乳糖: 2 g;
- 聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温 80): 1.5 mL;
- 去离子水和蒸馏水: 900 mL;

将上述胰蛋白胨、 KH_2PO_4 、D(+)-半乳糖和吐温 80 加入至 900 mL 水中, 常温下磁力搅拌, 然后加热沸腾至完全溶解, 自然冷却。

B 液:

- NaHCO_3 : 4 g;
- 萘啶酮酸: 250 mg;
- 去离子水或蒸馏水: 50 mL;

将上述 NaHCO_3 和萘啶酮酸加入至 50 mL 水中, 常温下搅拌, 溶解。

C 液:

- 乙酸铊: 2 g;
- 2,3,5-三甲基氯化四氮唑: 0.1 g;
- 去离子水或蒸馏水: 50 mL;

将上述乙酸铊和 2,3,5-三甲基氯化四氮唑加入至 50 mL 水中, 常温下搅拌, 溶解。

D 液:

- MUD: 150 mg;
- N,N-二甲基甲酰胺: 2 mL;

将上述 MUD 溶于 2 mL N,N-二甲基甲酰胺中。

乙酸铊和 N,N-二甲基甲酰胺均属有毒物质, 应在通风橱中操作。

A.5.3.2 配制

将 A、B、C 和 D 四种溶液混合, 调节 pH 值为 7.5 ± 0.2 , 用孔径为 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤。每个微量滴板孔中加入 $100\text{ }\mu\text{L}$, 在管道干燥器或立式通风箱内脱水。

A.6 步骤

A.6.1 稀释液的选择

根据待测水体污染程度来选择不同的稀释度,如表 A.1 所示。

表 A.1 不同水样的稀释度示例

水样来源	稀释度数	稀释液孔数	测量范围 个/100 mL
游泳用水	2	64 孔加 1/2 32 孔加 1/20	$15\sim 3.5\times 10^4$
其他表层水	4	24 孔加 1/2 24 孔加 1/20 24 孔加 1/200 24 孔加 1/2 000	$40\sim 3.2\times 10^6$
废水及其他处理水	6	16 孔加 1/2 依次类推到 16 孔加 1/200 000	$60\sim 6.7\times 10^8$

A.6.2 稀释

稀释加样时会有气体产生,操作应在生物安全柜中进行。

A.6.2.1 淡水和半咸(废)水(盐度 <30)

按照选择的稀释度准备无菌试管,于每管中加入 9 mL SD。

充分混匀水样后,迅速用无菌移液器取 9 mL 水样,加入到第一个盛有 9 mL SD 的试管中(稀释度为 1/2)。

混匀后,用另一无菌吸头取 1 mL 加入到第二个试管中(稀释度为 1/20),依此类推,直至所需稀释度。

A.6.2.2 海水(盐度 ≥ 30)

方法同 A.7.2.1。

A.6.3 接种及培养

A.6.3.1 接种

将第一个试管(1/2 稀释度)中液体移入到一个直径为 90 mm 的空无菌培养皿中。

用 8 道移液器向每个微量滴定板孔中加入 200 μ L 稀释液。

其他稀释度(1/20,1/200 等)操作同上(每次需更换新的吸头)。

同样也可选择其他可移 200 μ L 稀释液的操作系统加样。

注:应避免稀释液在微量滴定板孔间的溢流所引起的样品污染。

A.6.3.2 培养

接种后用一次性无菌吸附板盖好微量滴定板。

44 \pm 0.5 $^{\circ}$ C 下培养 36 h~72 h。

注:微量滴定板应轻拿轻放,不可晃动。

A.6.4 结果观察

将微量滴定板连同吸附板一起放入紫外观察室,有蓝色荧光的孔记为阳性。

注:荧光不随时间的变化而改变,可以在培养 36 h 后的任何时间观察。

A.7 结果表征(特征值的确定)

记录每一个稀释度阳性孔数目。

例 1 游泳用水

1/2 32+/64

1/20 5+/32

记为:32/5

例 2 其他表层水

1/2 24+/24

1/20 18+/24

1/200 5+/24

1/2 000 1+/24

记为:18/5/1

例 3 废水

1/2 16+/16

1/20 16+/16

1/200 12+/16

1/2 000 5+/16

1/20 000 0+/16

1/200 000 0+/16

记为:12/5/0

按照 ISO 8199 的相关规定,三个以上稀释度时,取其中三个特征值,应尽可能以 0 作为最后值。

A.8 检测报告

检测报告应包括所有能说明水样特性的任何详细情况。

报告中也注明,检测过程中出现的特殊现象以及可能对结果造成影响的操作。

附录 B
(规范性附录)

肠球菌的检测与计数——滤膜法²⁾

B.1 范围

本附录给出了通过膜过滤检测和计数水中肠球菌的方法。除富含悬浮物质或干扰微生物的水体外,本部分内容适用于饮用水,游泳池水体及其他消过毒的水或纯净水,尤其适用于肠球菌含量较低的水体的检测。

B.2 原理

B.2.1 过滤、培养和计数

用能截留细菌的膜过滤器(孔径为 0.45 μm)过滤水样,滤膜置于含叠氮钠(用于抑制有害菌的生长)和 2,3,5-三苯基氯化四氮唑的固体媒质上,若水样中含有肠球菌,可使无色的 2,3,5-三苯基氯化四氮唑变为红色的甲月替。

典型培养的菌落,中心全部都呈红色、栗色或粉红色。

B.2.2 确认

如果观察到典型菌落,确认是必要环节,用滤膜将菌落移到七叶苷叠氮化物琼脂培养基上,肠球菌可在 2 h 内水解七叶苷。最终产物 6,7-二氧香豆素,与三价铁离子结合生成棕褐色到黑色的化合物弥散到培养基中。

B.3 仪器设备

所使用的玻璃仪器均需通过无菌处理,玻璃仪器的无菌处理应按 ISO 8199 中的相关规定执行。

所需仪器和设备如下:

- 膜过滤装置;
- 无菌滤膜,孔径 0.45 μm;
- 培养箱(36 °C ± 2 °C);
- 培养箱(44 °C ± 0.5 °C);
- 高压灭菌器(120 °C ± 3 °C);
- 无菌钳;
- 加热板或水浴锅(100 °C)。

B.4 培养基和试剂

B.4.1 基本材料

所选择的培养基中含有叠氮钠。叠氮钠剧毒且不稳定,所以在实验中要尽量避免直接接触,尤其要避免在准备用于商业用途的完全脱水培养基的过程中吸入粉尘,含有叠氮化合物的培养基严禁与强无机酸混合,否则会产生有毒的叠氮化氢。

添加过量的亚硝酸盐饱和溶液后,叠氮化合物能安全分解。

为了使产物达到均一化,在准备培养基的过程中,培养基需完全脱水,或者使用匀质成分和同一化学等级的化学药品。叠氮钠会变质,因此,脱水培养基的使用寿命是有限的。

注:亦可使用等效的化学药品。

2) 本附录采用了《ISO 7899-2:2000 水质 肠球菌的检测和计数 第 2 部分:滤膜法》中的主要技术方法。

B.4.2 培养基**B.4.2.1 Slanetz & Bartley 培养基****B.4.2.1.1 基本培养基**

- 胰蛋白胨:20.0 g;
- 酵母液:5.0 g;
- 葡萄糖:2.0 g;
- 磷酸氢二钾:4.0 g;
- 叠氮钠:0.4 g;
- 琼脂:8 g~18 g;
- 水:1 000 mL。

将上述成分加入沸水中,溶解完全后继续加热 5 min,然后冷却至 50 ℃~60 ℃。

B.4.2.1.2 TTC 溶液

- 2,3,5-氯化三苯基四氮唑:1 g;
- 水:100 mL。

将 2,3,5-氯化三苯基四氮唑加入至水中,搅拌溶解。用孔径为 0.2 μm 的滤膜过滤除菌。溶液要避免光照,若颜色变为粉红色则已变质。

B.4.2.1.3 完全培养基

- 基本培养基(B.4.2.1.1):1 000 mL;
- TTC 溶液(B.4.2.1.2):10 mL。

将 TTC 溶液加入到基本培养基中冷却至 50 ℃~60 ℃。

必要时用碳酸钠溶液(100 g/L),或氢氧化钠溶液(40 g/L),或盐酸(36.5 g/L)调节 pH 值至 7.2±0.1(灭菌后 25 ℃时)。

将 20 mL 培养基倒入直径为 9 cm 培养皿中,冷却后水平放置。

倒好的平板在 5 ℃±3 ℃下能保存 2 周。

B.4.2.2 胆-七叶树素-叠氮化物琼脂

- 胰蛋白胨:17.0 g;
- 蛋白胨:3.0 g;
- 酵母液:5.0 g;
- 脱水牛胆:10.0 g;
- 氯化钠:5.0 g;
- 七叶树素:1.0 g;
- 柠檬酸铵铁:0.5 g;
- 氮叠钠:0.15 g;
- 琼脂:8 g~18 g;
- 水:1 000 mL。

在沸水中溶解上述成分,调节 pH 值,121 ℃±3 ℃灭菌 15 min,使其灭菌后在 25 ℃下为 7.1±0.1。冷却到 50 ℃~60 ℃后,倒平板。平板可在 5 ℃±3 ℃下保存 2 周。

B.5 取样

取样按照 ISO 5667-1、ISO 5667-2 和 ISO 5667-3 中的相关规定执行。

B.6 测定步骤

B.6.1 样品准备

样品过滤后接种于分离培养基上。取出试样后迅速进行实验。如果试样与周围环境保持同温,实验就要在取出试样后的6 h内开始。特殊情况下,实验开始前试样可在 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存24 h。

如果实验需要稀释,则要依据ISO 8199中的相关规定执行。

B.6.2 过滤和培养

关于膜过滤技术的详细描述见ISO 8199。

把滤膜放置到Slanetz & Bartley培养基上,于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养(44±4)h。

B.6.3 确认和计数

培养后,典型的菌落中心或整个菌落都呈红色、栗色、粉红色。

如果有典型菌群,用消毒的镊子将膜和菌群移到已预加热至 $44\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的胆盐-七叶苷-叠氮化合物的平板上。于 $44\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培育2 h。观察平板。

所有典型的菌群发生反应后,在周围培养基中都呈棕色到黑色,记录肠球菌的数量。

注:菌群的不平均或过高的本底数量会干扰可能菌群的差异,导致相关菌群的颜色的扩散。

参 考 文 献

- [1] United States Environmental Protection Agency. National beach guidance and required performance criteria for grants. Washington,DC; US EPA Office of Water,2002.
- [2] United States Environmental Protection Agency. Time-relevant beach and recreational water quality *monitoring and reporting*. Cincinnati;US EPA Office of Research and Development,2002.
- [3] Commission of the European Communities. Proposal for a directive of the European parliament and of the council concerning the quality of bathing water. Brussels;EC,2002.
- [4] World Health Organization. Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1, Coastal and fresh waters. Geneva;WHO,2003.
-