



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXX-XXXX

代替 GB/T 7488-1987

水质 五日生化需氧量 (BOD₅) 的测定 非稀释法和稀释接种法

Water quality—Determination of Biochemical oxygen demand after 5 days (BOD₅)

Method for undiluted samples and dilution and seeding Method

(征求意见稿)

200×-××-××发布

200×-××-××实施

国家质量监督检验检疫总局
环 境 保 护 部

发布

目次

前言	II
1 适用范围	1
2 规范性引用文件	1
3 方法原理	1
4 试剂和材料	2
5 仪器和设备	3
6 样品	4
7 分析步骤	4
8 结果计算	5
9 精密度和准确度	8

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》和《中华人民共和国水污染防治法》，保护环境，保障人体健康，规范水中五日生化需氧量（BOD₅）的监测方法，制定本标准。

本标准规定了地表水、工业废水和生活污水中五日生化需氧量（BOD₅）的非稀释测定法和稀释接种测定法。

本标准的技术内容参照了《水质 生化需氧量 非稀释法》（ISO 5815-2, 2003 年）和《水质 生化需氧量 稀释接种法》（ISO 5815-1, 2003 年）的相关内容。

本标准首次发布于 1989 年，本次为第一次修订，修订的主要内容：

- 增加了样品的保存方法；
- 修改了试样的制备方法；
- 增加了接种液的选择；
- 增加了稀释接种法稀释倍数的确定方法；
- 增加了溶解氧的测定方法；
- 补充了检出限的测定和计算方法。

自本标准实施之日起，《水质 五日生化需氧量（BOD₅）的测定 稀释与接种法》（GB/T 7488-1987）废止。

本标准由环境保护部科技标准司组织制订。

本标准主要起草单位：沈阳市环境监测中心站。

本标准自 20□□年□□月□□日起实施。

本标准由环境保护部解释。

水质 五日生化需氧量（BOD₅）的测定 非稀释法和稀释接种法

警告：丙烯基硫脲属于有毒化合物，操作时应按规定要求佩带防护器具，避免接触皮肤和衣服；标准溶液的配制应在通风柜内进行；检测后的残渣残液应做妥善的安全处理。

1 适用范围

本标准规定了地表水、工业废水和生活污水中五日生化需氧量（BOD₅）的非稀释和稀释接种测定方法。

本标准适用于地表水、工业废水和生活污水中五日生化需氧量（BOD₅）的测定，非稀释法可用于测定 BOD₅ 的浓度范围为 0.5~6mg/L，稀释接种法可用于测定 BOD₅ 浓度范围为 1.5~6000mg/L 的样品。

BOD₅ 浓度大于 6000 mg/L 的样品，可适当稀释后，用稀释法和稀释接种法测定。

2 规范性引用文件

本标准内容引用了下列文件中的条款。凡是不注日期的引用文件，其有效版本适用于本标准。

GB/T 6682-1992	分析实验室用水规格和试验方法
GB/T 7489-1987	水质 溶解氧的测定 碘量法
GB/T 11913-1989	水质 溶解氧的测定 电化学探头法

3 方法原理

生化需氧量是指在规定的条件下，微生物分解水中存在的某些可氧化的物质，特别是有机物所进行的生物化学过程中消耗的溶解氧。通常情况下是指水样充满完全密闭的溶解氧瓶中，在 20±1℃ 的暗处培养 5 天，分别测定培养前后水样中的溶解氧浓度，计算每升样品消耗的溶解氧量，以 BOD₅ 形式表示。

对不含或少含微生物的工业废水，如酸性废水、碱性废水、高温废水、经过氯化处理的废水或经冷冻保存的废水，在测定 BOD₅ 时应进行接种，以引进能分解废水中有机物的微生物。当废水中存在难于被一般生活污水中的微生物以正常的速度降解的有机物或含有剧毒物质时，应将驯化后的微生物引入水样中进行接种。

4 试剂和材料

本标准所用试剂除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的分析纯化学试剂，实验用水为符合 GB 6682-92 规定的 3 级蒸馏水，且水中铜离子的浓度小于等于 0.01 mg/L，不含有氯或氯胺等物质。

4.1 磷酸盐缓冲溶液：将 8.5g 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4)，21.75g 磷酸氢二钾 (K_2HPO_4)，33.4g 磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 和 1.7g 氯化铵 (NH_4Cl) 溶于水中，稀释至 1000ml。此溶液的 pH 值为 7.2。

4.2 硫酸镁溶液：将 22.5g 七水合硫酸镁 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 溶于水中，稀释至 1000ml，此溶液可稳定保存 6 个月，若发现任何沉淀或微生物生长应弃去。

4.3 氯化钙溶液：将 27.55g 无水氯化钙 (CaCl_2) 溶于水中，稀释至 1000ml，此溶液可稳定保存 6 个月，若发现任何沉淀或微生物生长应弃去。

4.4 氯化铁溶液：将 0.25g 六水合氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 溶于水中，稀释至 1000ml，此溶液可稳定保存 6 个月，若发现任何沉淀或微生物生长应弃去。

4.5 丙烯基硫脲硝化抑制剂 (ATU)：溶解 0.2g 丙烯基硫脲 ($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$) 于 200ml 水中混合，4℃ 保存，此溶液可稳定保存 14 天。

4.6 盐酸溶液 (0.5mol/L)：将 40ml 盐酸 (HCl) 溶于水中，稀释至 1000ml。

4.7 氢氧化钠溶液 (0.5mol/L)：将 20g 氢氧化钠 (NaOH) 溶于水中，稀释至 1000ml。

4.8 亚硫酸钠溶液 (0.025mol/L)：将 1.575g 亚硫酸钠 (Na_2SO_3) 溶于水中，稀释至 1000ml。此溶液不稳定，需现用现配。

4.9 洗液：2.5g 碘、12.5g 碘化钾加入到 1000ml 1% 的硫酸溶液中，混匀，存放在棕色玻璃瓶中，4℃ 保存。

4.10 葡萄糖-谷氨酸标准溶液：将葡萄糖 ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ，优级纯) 和谷氨酸 ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{COOH}$ ，优级纯) 在 130℃ 干燥 1 小时，各称取 0.15g 溶于水中，在 1000ml 容量瓶中稀释至标线。

4.11 接种液：可购买接种微生物用的商品物质，接种液的配制和使用按说明书的要求操作；也可按以下方法获得接种液：

4.11.1 未受工业废水污染的城市生活污水，化学需氧量不大于 300mg/L，总有机碳不大于 100mg/L；

4.11.2 含有城市废水的河水或湖水；

4.11.3 污水处理厂的出水；

4.11.4 分析含有难降解物质的工业废水时，在其排污口下游适当处取水样作为废水的驯化接种液。也可取中和或经适当稀释后的废水进行连续曝气，每天加入少量该种废水，同时加入少量生活污水，使适应该种废水的微生物大量繁殖。当水中出现大量的絮状物时，表明微生物已繁殖，可用作接种液。一般驯化过程需 3~8 天。

4.12 稀释水

5~20L 的细口玻璃瓶（5.6）中加入蒸馏水，每升水中加入（4.1）、（4.2）、（4.3）、（4.4）盐溶液各 1ml，混匀，在 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 保存。用曝气装置（5.4）至少曝气 1 小时，使溶解氧的浓度达到 8mg/L 以上。在曝气的过程中防止污染，特别是带入有机物、金属、氧化物和还原物。

稀释水中氧的浓度不能过饱和，使用前需开口放置 1 小时，且应在 24 小时内使用。剩余的稀释水应弃去。

4.13 接种稀释水

根据接种液的来源不同，每升稀释水（4.12）中加入适量接种液（4.11）：城市生活污水和污水处理厂出水加 1~10 ml；河水或湖水加 10~100 ml。存放在 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 的环境中，当天配制当天使用。接种的稀释水 pH 值为 7.2， BOD_5 应小于 1.5mg/L。

5 仪器和设备

本方法使用的玻璃仪器须清洁，无毒性和可生化降解的物质。

5.1 带风扇的恒温培养箱；（ $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）。

5.2 0~4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏箱：样品运输过程中保存样品。

5.3 冰箱：有冷冻和冷藏功能。

5.4 曝气装置：多通道空气泵装置；曝气带有有机物、氧化剂和金属导致空气污染，如有污染，空气应过滤清洗。

5.5 溶解氧瓶：带水封装置的 250~300mL 或 100~125mL 的玻璃瓶。

5.6 5~20L 的细口玻璃瓶。

5.7 稀释容器：1000~2000mL 的量筒或带盖容量瓶。

5.8 虹吸管：供分取水样或添加稀释水。

6 样品

6.1 采集与保存

样品采集并充满溶解氧瓶，在 0~4℃ 的暗处密封保存，并于 24 小时内尽快分析，最长可保存 48 小时；特殊情况下 48 小时内不能分析，可冷冻保存，可保存 13 天，冷冻样品分析前需解冻、均质化和接种。尽可能避免冷冻保存样品。

6.2 试样的制备

6.2.1 样品的中和

若样品或稀释后样品 pH 值不在 6~8 范围内，应用盐酸（4.6）或氢氧化钠（4.7）调节，使其 pH 值在 6~8 的范围内。

6.2.2 余氯和结合氯的去除

含有少量余氯的水样，一般放置 1~2 个小时，游离氯即可消失。对在短时间内不能消失的余氯，可加入亚硫酸钠去除样品中存在的余氯和结合氯。

取已中和好的水样 100ml，加入（1+1）的乙酸 10ml，10% 的碘化钾溶液 1ml，混匀。以淀粉为指示剂，用亚硫酸钠溶液滴定游离碘。由亚硫酸钠溶液消耗的体积，计算出水样中应加亚硫酸钠溶液的体积。

6.2.3 样品均质化

含有大量的颗粒物、需要较大的稀释倍数或经冷冻保存的样品测定前需将样品搅拌均质化。

6.2.4 样品中有藻类

样品中有藻类存在，BOD₅ 的测定结果会偏高。当分析结果精度要求较高时，测定前应用滤孔为 1.6μm 的滤器过滤，测定报告中注明滤器滤孔的大小。

6.2.5 非稀释样品的电导率小于 125μs/cm 时，需加入适量的（4.1）、（4.2）、（4.3）、（4.4）盐溶液，使样品的电导率大于 125μs/cm。每升样品中至少需加入各种盐的体积 V 按公式（1）计算：

$$V = 8.722 \times S - 0.103 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

V —— 需加入各种盐的体积，ml；

S —— 样品需要提高的电导率值，μs/cm。

7 分析步骤

7.1 非稀释法

如样品中的有机物含量较少， BOD_5 的浓度不大于 6mg/L ，且样品中有足够的适合微生物，用此法测定。

7.1.1 样品的准备

测定前待测样品的温度达到 $20\pm 2^\circ\text{C}$ ，若样品中溶解氧浓度低，需要曝气 15 分钟，赶走样品中残留的空气泡和过饱和氧。

7.1.2 样品的测定

7.1.2.1 碘量法测定样品中的溶解氧：按 GB/T 7489-1987 测定。

将样品（7.1.1）充满二个溶解氧瓶（5.5）中，使样品少量溢出，防止样品中的溶解氧浓度改变，使瓶中存在的气泡靠瓶壁排除。将样品分为二组，每组包括每个样品中的一瓶。将第一组盖上瓶盖，加上水封，在瓶盖外罩上一层塑料膜，防止培养期间水封水蒸发干，然后将瓶放入恒温培养箱（5.1）中，在暗处培养 5 天 \pm 4 小时。15 分钟后，测定第二组瓶中样品在培养前的溶解氧浓度。培养 5 天后，测定第一组瓶中样品的溶解氧浓度。

7.1.2.2 电化学探头法测定样品中的溶解氧：按 GB/T 11913-1989 测定。

将样品（7.1.1）充满一个溶解氧瓶（5.5）中，使样品少量溢出，防止样品中的溶解氧浓度改变；使瓶中存在的气泡靠瓶壁排除。测定培养前样品中的溶解氧浓度。

盖上瓶盖，防止样品中残留气泡，加上水封，在瓶盖外罩上一层塑料膜，防止培养期间水封水蒸发干。将样品瓶放入恒温培养箱（5.1）中，在暗处培养 5 天 \pm 4 小时。分别测定培养后样品中的溶解氧浓度。

7.2 稀释接种法

稀释接种法可分为以下三种情况：非稀释接种、稀释和稀释接种。

若样品中的有机物含量较少， BOD_5 的浓度不大于 6mg/L ，但样品中无足够的适合微生物，如酸性废水、碱性废水、高温废水或经氯化处理的废水，采用非稀释接种测定；若样品中的有机物含量较多， BOD_5 的浓度大于 6mg/L ，且样品中有足够的适合微生物，需稀释测定；若样品中的有机物含量较多， BOD_5 的浓度大于 6mg/L ，但样品中无足够的适合微生物，需采用稀释接种方法测定。

7.2.1 样品的准备

7.2.1.1 待测样品

待测样品的温度达到 20±2℃，若样品中溶解氧浓度低，需要曝气 15 分钟,赶走样品中残留的气泡；若样品中氧过饱和，将容器 2/3 体积充满样品，用力振荡赶出过饱和氧，然后根据样品中有机物和微生物含量情况确定测定方法。非稀释接种测定，每升样品中加入适量的接种液(4.11)，待测定；稀释测定，稀释倍数按表 1 和表 2 方法确定，然后用稀释水（4.12）稀释；稀释接种法测定，在稀释水(4.12)中加入适量的接种液配制稀释接种水，用来稀释样品。稀释倍数确定方法如下：

样品稀释的程度应使消耗的溶解氧不小于 2mg/L，培养后样品中剩余溶解氧浓度不小于 2mg/L，且样品中剩余的溶解氧浓度为开始浓度的 1/3～2/3 为最佳。

当不能准确地选择稀释倍数，一个样品做 2～3 个不同的稀释倍数。稀释倍数可根据样品的总有机碳（TOC）、高锰酸盐指数（COD_{mn}）或化学需氧量（COD）的测定值，按照表 1 列出的 BOD₅ 与总有机碳（TOC）、高锰酸盐指数（COD_{mn}）或化学需氧量（COD）的比值 R（R 与样品的类型有关），估计 BOD₅ 的期望值，在根据表 2 中确定稀释因子。

表 1 典型的比值 R

水的类型	总有机碳 R (BOD ₅ /TOC)	高锰酸盐指数 R (BOD ₅ /COD _{mn})	化学需氧量 R (BOD ₅ /COD)
未处理的废水	1.2~2.8	1.2~1.5	0.35~0.65
生化处理的废水	0.3~1.0	0.5~1.2	0.20~0.35

由表 1 中选择适当的 R 值，按公式（2）计算 BOD₅ 的期望值：

$$BOD_5 = R \cdot Y \dots\dots\dots (2)$$

式中：

y——总有机碳（TOC）、高锰酸盐指数（COD_{mn}）或化学需氧量（COD）的值。

由估算出的 BOD₅ 的期望值，按表 2 确定样品的稀释倍数。

表 2 BOD₅ 测定的稀释倍数

BOD ₅ 的期望值，氧 mg/L	稀释倍数	水样类型
6~12	2	河水，生物净化的城市污水
10~30	5	河水，生物净化的城市污水
20~60	10	生物净化的城市污水
40~120	20	澄清的城市污水或轻度污染的工业废水
100~300	50	轻度污染的工业废水或原城市污水
200~600	100	轻度污染的工业废水或原城市污水
400~1200	200	重度污染的工业废水或原城市污水
1000~3000	500	重度污染的工业废水
2000~6000	1000	重度污染的工业废水

按照确定的稀释倍数，将一定体积的样品或处理后的样品用虹吸法加入已加部分稀释水或接种稀释水的稀释容器中（5.7），加稀释水或接种稀释水至刻度，轻轻混合避免残留气泡，待测定。若稀释倍数超过 100 倍，可进行两步或多步稀释。

若样品会硝化反应，则生化处理废水每升稀释样品需加入 2 ml 丙烯基硫脲硝化抑制剂(4.5)。

若样品中有微生物毒性物质，应配制几个不同稀释倍数的样品，选择与稀释倍数无关的结果，并取其平均值。样品测定结果与稀释倍数的关系确定如下：

当分析结果精度要求较高或存在微生物毒性物质时，一个样品要做 2 个以上不同的稀释倍数，每个样品每个稀释倍数做二瓶样同时进行培养。测定培养过程中每瓶样品氧的消耗量，并画出氧消耗量对每一稀释倍数样品中原样品的体积曲线。空白实验样品体积为 0。

若此曲线呈线性，则此样品中不含有任何抑制微生物的物质，即样品的测定结果与稀释倍数无关；若曲线仅在低浓度范围内呈线性，取线性范围内稀释比的样品测定结果计算平均 BOD₅ 值。

7.2.1.2 空白样品

接种测定，每升稀释水中加入与样品相同量的接种液(4.11)作为空白样品。

稀释测定，空白样品为稀释水（4.12），需要时每升样品加入 2 ml 丙烯基硫脲硝化抑制剂（4.5）。

稀释接种测定，空白样品为接种稀释水（4.13），必要时加入 2 ml 丙烯基硫脲硝化抑制剂（4.5）。

7.2.1.2.1 全程序空白样品

每一批样品（最多 20 个）至少做两个全程序空白，接种法空白样品的结果不能超过 1.5mg/L，非接种法空白样品的结果不能超过 0.5mg/L，则应检查污染源。

7.2.1.2.2 运输空白：每采集一批样品，至少带一个运输空白。运输空白为实验用稀释水，同样品同时测定。

7.2.1.2.3 平行样品

每一批样品（最多 20 个）至少做一对平行样，计算相对百分偏差 RP，RP 值应不大于 10%。计算公式如下：

$$RP(\%) = \frac{2 \times (BOD_1 - BOD_2 \times 100)}{BOD_1 + BOD_2} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

BOD₁— 第一个样品的 BOD₅ (mg/L)

BOD₂-- 第二个样品的 BOD₅ (mg/L)

相对百分偏差 RP 的大小与样品的稀释倍数有关。

7.2.1.2.4 加标回收

每一批样品（最多 20 个）做一个空白加标和一个基体加标样品。

(1) 空白加标：加标后样品的浓度在 2~6mg/L，回收率在 90~110%之间。

(2) 基体加标：标准物在样品处理之前加入，添加量应尽量与样品浓度接近，且不应超过样品浓度的 3 倍。基体加标回收率不应低于 75%。

7.2.1.2.5 保证培养后剩余的溶解氧不小于 1mg/L，消耗的溶解氧大于检出限。

7.2.2 样品的测定

测定空白样品和待测样品，测定方法同 7.1.2.1 或 7.1.2.2。

7.2.3 接种液、稀释水质量的检查

每一批样品（最多 20 个）要求做一个标准样品，样品的配制方法如下：取 20ml 葡萄糖-谷氨酸标准溶液（4.10）于稀释容器中，用接种稀释水(4.13)稀释至 1000 ml,测定 BOD₅，测定结果 BOD₅ 应在(210±40) mg/L 范围内，则应检查接种液、稀释水的质量。

8 结果计算

8.1 非稀释法

按公式（4）计算样品 BOD₅ 的测定结果：

$$BOD_5(mg/L) = C_1 - C_2 \dots\dots\dots (4)$$

式中：

C₁——水样在培养前的溶解氧浓度，mg/L；

C₂——水样在培养后的溶解氧浓度，mg/L。

8.2 稀释接种法

按公式（5）计算样品的测定结果：

$$BOD_5 = \frac{(C_1 - C_2) - (B_1 - B_2) \cdot (V_t - V_s) \cdot f_1}{f_2} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

C₁ —— 接种稀释水样在培养前的溶解氧浓度，mg/L；

C₂ —— 接种稀释水样在培养后的溶解氧浓度，mg/L；

B_1 —— 空白样在培养前的溶解氧浓度, mg/L;

B_2 —— 空白样在培养后的溶解氧浓度, mg/L;

f_1 —— 接种稀释水(或接种液、稀释水)在培养液中所占的比例;

f_2 —— 原样品在培养液中所占的比例。

BOD₅测定结果以氧的 mg/L 报出, 结果小于 100mg/L, 保留一位小数; 100~1000mg/L, 取整数位; 大于 1000mg/L 以科学计数法报出。结果报告中应注明: 样品是否经过过滤、冷冻或均质化处理。

9 精密度和准确度

非稀释法实验室间的重现性标准偏差为 0.10~0.29mg/L, 相对标准偏差为 2.7~18%, 再现性标准偏差为 0.26~0.94mg/L。

稀释法和稀释接种法的对比测定结果重现性标准偏差为 11~13 mg/L, 再现性标准偏差为 3.7~24 mg/L。

标准样品和实际样品加标回收率分别为 97.5%~101%、90.6%~92.9%, 标准偏差为 0.08~4.59mg/L, 相对标准偏差为 1.51%~4.82%。