

水质 生化需氧量 (BOD<sub>5</sub>) 的测定

非稀释法和稀释接种法

编制说明

(征求意见稿)

沈阳市环境监测中心站

二〇〇八年四月十日

## 1. 工作简况

2006 年国家质检总局（国质检财函[2006]909 号）和 2007 年国家质检总局（国质检财函[2007]971 号）下达了《水质 五日生化需氧量（BOD<sub>5</sub>）的测定》（GB 7488-87）国家环保标准制修订计划，项目统一编号为 974，任务承担单位为沈阳市环境监测中心站。

该任务下达后，沈阳市环境监测中心站立即组成标准编制组开展《水质 五日生化需氧量（BOD<sub>5</sub>）的测定》方法的修订工作。查阅国内外有关资料，进行认真研究比较，依据国际标准 ISO 5815-1、ISO 5815-2：2003 标准对我国现行标准 GB 7488-87 进行修订改进，进行实验研究验证，编写《水质 五日生化需氧量（BOD<sub>5</sub>）的测定》标准草案征求意见稿和标准编制说明。

## 2. 目的、意义及国内外标准概况

生化需氧量（BOD<sub>5</sub>）是水中有机物质在微生物的作用下，进行氧化分解所消耗的溶解氧量，以氧的 mg / L 表示。是间接表示水中有机物污染程度的一个综合性指标。

目前,我国 BOD<sub>5</sub>的测定方法为稀释接种法（GB 7488-87），该标准是 1987 年制定的，20 多年一直没有修订。原理为：样品在 20±1℃培养 5 天，用碘量法分别测定培养前后的溶解氧浓度，二者之差为 BOD<sub>5</sub>。因此，每个样品需要分两瓶，一瓶测定培养前的溶解氧，另一瓶测定培养后的溶解氧。

国际标准 ISO 5815-1、ISO 5815-2 是 2003 年制定的，是对 ISO 5815：1989 的修订。国际标准 ISO 5815-1 规定了稀释接种法并加入丙烯基硫脲 BOD<sub>5</sub>的测定方法；ISO 5815-2 规定了非稀释 BOD<sub>5</sub>的测定方法。

ISO 5815-1、ISO5815-2：2003 比我国 GB 7488-87 在很多方面有改进，如在样品的保存方法、方法的适用范围、检出限的测定方法、样品的前处理方法、接种液的选择、稀释接种法稀释倍数的确定方法、溶解氧的测定方法等方面都有所改进。

## 3. 标准修订原则和依据

本标准依据国际标准 ISO 5815-1、ISO 5815-2：2003，并做部分修改补充。

对有机物含量较低，不需要稀释的样品，且样品中不含适合的微生物或含量很少，以及样品中的营养盐含量低，电导率小于 125 μ s/cm。对这二类样品的测定，ISO 5815-1、ISO5815-2：2003 没有明确规定。本专题对上述二类样品的测

定方法进行了研究，并在方法标准中给出明确的规定。对样品冷冻保存时间进行了实验研究和规定；对加入丙烯基硫脲硝化抑制剂（ATU）的样品种类、硝化反应开始时间进行了研究；研究制定了一套有效可行的样品分析质控措施。除此之外，进一步验证了 ISO 5815-1、ISO 5815-2：2003 方法规定的一些具体内容。

#### 4 修订要点

本标准是对 GB 7488-87 的修订，与 GB 7488-87 相比，在很多方面有改进。

##### 4.1 样品的保存时间和方法

增加了样品冷冻保存方法，对冷藏和冷冻保存时间进行了实验研究。在 0~4℃ 暗处密封保存，最长可保存 48 小时；特殊情况下 48 小时内不能分析的样品，采取冷冻保存，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。

4.2 GB 7488-87 对检出限及其测定方法没有明确规定，本标准对检出限的测定和计算方法做出了具体规定。

##### 4.3 样品的前处理方法

增加了样品均质化、样品中藻类的处理，以及当样品中的营养盐含量较低时的前处理。

###### 4.3.1 样品均质化

如果样品中含有大量的颗粒物、样品需要较大的稀释倍数或样品经冷冻保存，测定前均需要将样品搅拌均匀质化；

###### 4.3.2 样品中有藻类

如样品中有藻类存在，测定前要用滤孔为 1.6μm 的滤器过滤，防止产生不正常的高结果。但过滤会改变 BOD<sub>5</sub> 的测定结果，只有在评价水质确实需要时才过滤，并在报告中注明滤孔的大小。

4.3.3 如果非稀释样品的电导率小于 125 μ s/cm（每升稀释水中 4 种盐的加入量均为 1 ml 时溶液的电导率为 125 μ s/cm），需加入适量的营养盐使样品的电导率大于 125 μ s/cm。每升样品中至少需加入各种盐的体积 V 由下式计算：

$$V (\text{ml}) = 8.722 \times S - 0.103$$

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（μ s/cm）。

##### 4.4 接种液的选择

增加了一种接种液来源，由购买的接种菌种稀释配制接种液；

#### 4.5 稀释接种法稀释倍数的确定方法

根据废水类型确定样品的 BOD<sub>5</sub> 与总有机碳 (BOD<sub>5</sub>/ TOC)、高锰酸盐指数 (BOD<sub>5</sub>/COD<sub>mn</sub>) 和化学需氧量 (BOD<sub>5</sub>/COD<sub>cr</sub>) 的比值 R，由此估算出 BOD<sub>5</sub> 的浓度范围，确定稀释倍数。

4.6 用碘量瓶在培养箱中培养样品，在瓶口外罩一层塑料薄膜，防止水封水蒸发，影响测定结果。

#### 4.7 溶解氧的测定方法

增加了电化学探头测定溶解氧的方法，此法样品用量少，不需要化学试剂，分析简便、快速。

### 5 验证结果

#### 5.1 样品保存时间的确定

##### 5.1.1 样品冷藏保存时间的确定

将采集的实际样品混匀并充满 5 个瓶，一瓶测定当天的 BOD<sub>5</sub>，其余四瓶在 0~4℃ 的冷藏箱中暗处密封保存，并分别于保存 1 天、2 天、3 天和 4 天取样测定 BOD<sub>5</sub> 值。然后对测得的五组数据在 95% 的置信概率条件下，用 Cochran 和 Grubbs 检验法进行检验，判断这五天的 BOD<sub>5</sub> 分析结果是否存在显著性差异，结果见表 1。

表 1：不同冷藏时间样品的测定结果

冷藏时间(天)	0	1	2	3	4
BOD <sub>5</sub> (mg/L)	2.33 2.13 2.10	2.10 2.26 2.09	2.10 2.14 2.03	1.64 1.32 1.56	1.49 1.37 1.35
平均 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	2.19	2.15	2.09	1.51	1.40
显著性差异	无	无	无	有	有

由此可见，当天、冷藏保存 1 天、2 天 BOD<sub>5</sub> 测定所得的三组数据结果的方差无显著差别，平均值也无差异；保存 3 天和 4 天的测定结果与前三天的结果的平均值有显著差异。所以样品在 0~4℃ 的条件下可冷藏保存 48 小时。

##### 5.1.2 样品冷冻保存时间的确定

将采集的实际样品混匀并充满几个样品瓶，一瓶测定当天的 BOD<sub>5</sub>，其余在低于 -15℃ 的冷冻箱中暗处密封冷冻保存，并分别于保存 6 天、13 天、21 天取样测定 BOD<sub>5</sub> 值。然后对测得的四组数据在 95% 的置信概率条件下，用 Cochran 和 Grubbs 检验法进行检验，判断这四天的 BOD<sub>5</sub> 分析结果是否存在显著性差异，结

果见表 2。

表 2: 不同冷冻时间样品的测定结果

冷冻时间(天)	0			6			13			21		
BOD <sub>5</sub> (mg/L)	47.1	49.0	49.9	49.7	49.0	48.9	48.0	49.0	49.0	38.1	40.1	44.0
平均 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	48.7			49.2			48.7			40.1		
显著性差异	无			无			无			有		

由上表结果可见：样品在当天、冷冻保存 6 天、13 天 BOD<sub>5</sub>测定所得的三组数据结果的方差无显著差别，平均值也无差异；保存 21 天与当天、冷冻保存 6 天、13 天的测定结果的平均值有显著差异。所以样品在冷冻的条件下可至少保存 13 小时。

### 5.2 非稀释法测定含盐量低的样品的处理方法

在测定生化需氧量时，如果样品中的营养盐含量低，电导率小于 125 μ s/cm，（每升稀释水中 4 种盐的加入量均为 1 ml 时溶液的电导率为 125 μ s/cm），可能由于营养盐不足而影响菌种活性，因此影响 BOD<sub>5</sub>的测定结果。此时，需向样品中加入营养盐，四种盐的加入量与电导率的关系见表 3。

表 3 盐的加入量与电导率的测定结果

加入体积 (ml)	0.10	0.25	0.50	0.75	1.00
电导率 (μ s/cm)	20.1	43.1	75.5	95.3	125.5

由以上数据可得到每升样品中至少需加入各种盐的体积 V 与电导率的线性关系式，由此式可计算每升样品中至少需加入各种盐的体积 V (ml)。

$$V(\text{ml}) = 8.722 * S - 0.103$$

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 (μ s/cm)。

### 5.3. 加与不加丙烯基硫脲硝化抑制剂的测定结果

选仙女河生化处理出口污水和用葡萄糖-谷氨酸标准物质配制的标样，每个水样分二组，一组加丙烯基硫脲硝化抑制剂，另一组不加丙烯基硫脲硝化抑制剂，每组培养多瓶样品，分别测定不同培养时间的 BOD<sub>5</sub>。对比加与不加丙烯基硫脲硝化抑制剂二组的测定结果。仙女河样品测定结果见表 4，标样测定结果见表 5。

表 4 仙女河样品测定结果

培养时间(天)		5			9			17			
BOD <sub>n</sub> (mg/L)	不加	63.2	68.0	73.6	81.2	83.6	86.0	320	332	334	334
	加	70.8	70.0	67.6	82.8	87.2	81.6	165	159	166	170
平均 BOD <sub>n</sub> (mg/L)	不加	68.3			83.6			330			
	加	69.5			83.9			165			
不加 BOD <sub>n</sub> /加 BOD <sub>n</sub>		0.98			1.00			2.00			
差异		无			无			有			

表 5 标样测定结果

培养时间(天)		5		7		9		12		18	
BOD <sub>n</sub> (mg/L)	不加	5.00	5.19	5.56	5.67	6.01	5.89	7.18	6.97	8.62	8.64
	加	5.28		5.57 5.58		6.00		6.81		8.64	
平均 BOD <sub>n</sub> (mg/L)	不加	5.33	5.20	5.57	5.58	5.98	6.01	6.49	6.43	6.41	6.74
	加	5.26		5.58		6.00		6.81		6.61	
平均 BOD <sub>n</sub> (mg/L)	不加	5.16		5.62		5.95		7.08		8.63	
	加	5.26		5.58		6.00		6.58		6.59	
不加 BOD <sub>n</sub> /加 BOD <sub>n</sub>		0.98		1.01		0.99		1.08		1.31	
差异		无		无		无		稍有		有	

由上表结果可知：上述二种样品在培养 9 天之前，加与不加丙烯基硫脲硝化抑制剂对 BOD<sub>5</sub>的测定结果无影响，培养 12 天稍有不同，17、18 天有显著的差异。初步证明测定 BOD<sub>5</sub>可不加硝化抑制剂，对测定结果无影响。

#### 5.4 方法检出限

非稀释法的检出限测定，平行测定浓度约为 0.4mg/L 的实际样品 8 个，根据测定结果的标准偏差计算方法的检出限，结果见表 6。计算公式如下：

$$MDL = t_{0.95(f)} * 2 * SD$$

式中：t<sub>0.95(f)</sub> -- 是显著性水平为 0.05，自由度为 7 时的临界值为 2.37 (双侧)；

f -- 计算 SD 时的自由度；

n -- 空白值的测定次数；

SD -- 浓度接近于检出限的真实样品测定结果的标准偏差。

表 6 非稀释法的检出限

化合物	实测值	$\bar{X}$	SD	MDL
BOD <sub>5</sub> (mg/L)	0.29 0.32 0.20 0.54 0.21 0.27 0.29 0.36	0.31	0.11	0.52

## 5.5 方法的精密度和准确度

### 5.5.1 标准样品和实际样品的测定结果

测定国家标准样品、用葡萄糖-谷氨酸配的标样及地表水、污水处理厂出口废水实际水样，每个样品平行测定 6~7 次，测定结果见表 7。

表 7 标准样品和实际样品的测定结果

样品	期望值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	实测值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	平均值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	标准偏差 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	相对标准偏差 (%)
标样	67.6±5.9	64.4 67.4 66.2 65.4 63.8 68.4	65.9	95.3 99.7 97.9 96.7 94.3 101	97.5	1.76	2.67
标样	96.2±5.7	95.2 97.8 99.2 91.8 92.8 100	96.1	99.0 102 103 95.4 96.5 104	99.9	3.40	3.54
葡萄糖-谷氨酸标样	210±40	209 213 213 207 211 216	212	99.5 101 101 98.6 100 103	101	3.21	1.51
地表水	--	2.47 2.23 2.30 2.36 2.26 2.34 2.37	2.33	--	--	0.08	3.43
污水处理厂排水	--	103 99.7 94.7 93.1 91.4 95.0 90.1	95.3	--	--	4.59	4.82

### 5.5.2 基体加标

将地表水和污水处理厂出口废水经适当的均质化处理，进行基体加标实验，测定结果见表 8。

表 8 实际样品基体加标测定结果

样品	期望值 (mg/L)	原样测定值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	原样平均值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	加标样测定值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	加标样平均值 BOD <sub>5</sub> (mg/L)	平均回收量 (mg/L)	平均回收率 (%)
地表水	2.88	2.47 2.23 2.30 2.36 2.26 2.34	2.33	4.86 4.81 5.03 5.07 4.92 4.97	4.94	2.61	90.6
污水处理厂排水	52.5	51.5 49.9 47.4 46.6 45.7 47.5	48.1	95.7 97.1 96.2 94.9 98.7 97.4	96.7	48.6	92.6

由上述结果可知，标准样品和实际样品加标的回收率分别为 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%。

**6 标准主要起草人：**李春颖 丛丽 张丽辉 窦志强

7 本标准于 XXXX 年 XX 月 XX 日起实施，同时，《水质 五日生化需氧量 (BOD<sub>5</sub>) 的测定》(GB 7488-87) 废止。