

生化需氧量(BOD)测定方法浅析

陶淑芸

(江苏省水文水资源勘测局 连云港分局,江苏 连云港 222004)

摘要:为了快速准确地测定生化需氧量,通过排除实验室环境条件与操作因素等众多干扰因子的影响,对比了生化需氧量的 5 种测定方法,并分析比较对比了各方法的优缺点、适用范围等,分析了各种测定方法的应用局限性与影响因素。结合适宜方法并根据样品特性,分析探讨了测定中稀释水的配置与稀释倍数的选取等技术难题的解决方法。结果表明:稀释与接种法应用最为广泛,测定结果相对准确。

关键词:BOD; 测定方法; 稀释比; 实验室环境
中图分类号:X52 **文献标志码:**A

生化需氧量又称生化耗氧量,简称 BOD,指在规定的条件下,微生物分解存在于水中的某些可氧化物质,特别是有机物所进行的生物化学过程中消耗溶解氧的量^[1]。其值越高,说明水中有机污染物质越多,污染也就越严重。

微生物分解有机物大致可分为两个阶段:①主要是碳水化合物被氧化,称为碳化阶段,在 20℃ 下需 7~20 d 才能完成;②含氮化合物在硝化细菌的作用下被氧化为氨,当水中的氧充足时,再被氧化为亚硝酸和硝酸,称为硝化阶段。此段进行缓慢,20℃ 下需 100 多天才能完成。经过 5 d 的生化过程,碳化阶段已进行了大半,并开始进入硝化阶段。对生活污水来说,相当于完全氧化分解耗氧量的 70%,因此,目前国内外均采用 20℃ 培养 5 d 的生化需氧量(简称 BOD₅),作为水体质量的重要参数。

1 测定方法

BOD₅ 自作为水质污染指标以来,其测定方法一直在不断改进完善和发展之中。目前主要以稀释和接种法作为经典方法广泛应用于水质监测、比对实验、仲裁分析中,以微生物传感器法作为快速测定法应用于快速测定分析中。此外还有测压法、增温法、活性污泥曝气降解法、检压库仑法、坪台值法等应用于特定环境或研究分析中。

1.1 稀释与接种法

稀释与接种法是指将水样经适度稀释或者接种后在 20℃ 培养 5 d,测定培养前后水样中溶解氧的质量浓度,由培养前后溶解氧的质量浓度之差,计算每升样品消耗的溶解氧量,以 BOD₅ 形式表示。作为测定 BOD₅ 的经典方法,其发展历史可追溯至 1936 年,美国公共卫生协会将 5 d 生化需氧量稀释法规定为水和废水的检验方法,从而形成了标准稀释法(BOD₅ 法),并为 ISO/TC-147 推荐,1987 年我国参照 ISO5815-1983,将此方法颁布为水质分析方法标准 GB7488-87,2009 年环境保护部对其进行修订,并颁布为 HJ505-2009 标准^[2]。

1.2 微生物传感器快速测定法

微生物传感器快速测定法原理是当含有饱和溶解氧的水样进入流通池中与微生物传感器接触,水样中溶解性可生化降解的有机物受到微生物菌膜中菌种的作用,使扩散到氧电极表面上氧的质量减少。当水样中可生化降解的有机物向菌膜扩散速度(质量)达到恒定时,此时扩散到氧电极表面上氧的质量也达到恒定,因此产生了一个恒定电流。由于恒定电流与水样中可生化降解的有机物浓度的差值与氧的减少量存在定量关系,据此可换算出水样中生物化学需氧量^[1]。1990 年日本颁布了微生物电极法(JIS K 3602-

1990),我国于2002年颁布微生物传感器快速测定法(HJ/T86-2002)^[3]。此法最大特点是水样不需要培养5d,快速测定即得结果,不仅节约了实验时间,而且可以实时掌握这一水质污染指标,大大提高了工作效率。

1.3 测压法

将水样置于密闭培养瓶中,并放入CO₂吸收剂用于吸收水样中微生物呼吸作用所产生的CO₂,微生物在降解有机物过程中消耗溶解氧造成此密闭系统内压力下降,测量此压降即可换算得生化需氧量。

1.4 活性污泥曝气降解法

在30℃~35℃时,用活性污泥强制曝气降解样品2h,经重铬酸钾消解生物降解前后的样品,测定生物降解前后的化学需氧量,其差值即为BOD,可根据与标准方法的对比实验结果换算为BOD₅。

1.5 增温法

增温法是适当提高反应温度,活化微生物活性,加速其分解作用,缩短培养周期,达到快速测定。研究人员根据BOD反映动力学原理,提出了增温法快速测定BOD₅培养时间计算公式,并计算出适用绝大多数水样的通用增温培养时间,通过对增温法理论上的准确性和可行性的分析,证明增温法是可行的^[4]。

1.6 方法比较

以上BOD测定方法各有优劣:稀释与接种法最为经典,应用广泛,适用于2~6000mg/L的地表水、生活污水、工业废水,但与其他方法相比,其测定过程操作复杂,需耗时5d,时效性差;测压法在此基础上改进为自动测定,操作较稀释与接种法简便,但同样需培养5d时间,难以快速通过这一指标反映水质状况,且受制于仪器灵敏度和精密度,实验结果准确度不高;微生物传感器法测定快速方便,时效性强,适用于快速测定,但适用范围较传统方法窄,且菌膜需要维护,干扰因子多,影响测定结果的准确可靠性;活性污泥曝气降解法和增温法另辟蹊径,直接作用于生化过程,缩短了培养周期,但其精密度不高,仅适用于成分稳定的特定水样长期分析研究用,其应用范围最窄(见表1)。

由于BOD反应是一个复杂的生化过程,不同的测定方法其过程原理不同,所得结果反映的含义也有所不同,需根据实际情况对数据进行分析校正。

2 影响因素

BOD是通过微生物耗氧量间接反映水中可生化有机物含量的一个指标,而微生物的生化反应是一个

复杂的过程,实验环境条件、水样本身的特性以及人员的操作等因素都会对其产生影响。

表1 BOD测定方法比较

测定方法	适用范围	培养时间	影响因素	优点	缺点
稀释与接种	2~6000mg/L的地表水、生活污水、工业废水	5d	水样本身特性、稀释比等	经典准确	操作耗时繁琐、影响因素多
微生物传感器快速测定	2~500mg/L的地表水、生活污水、不含对微生物有明显毒害作用的工业废水	1h	底液、有害金属离子、温度、pH值等	快速测定	适用性不广泛
测压	700mg/L以上需稀释	5d	仪器的灵敏度和精密度	操作简单	适用性不广泛
活性污泥曝气降解	城市污水和组成成分较稳定的工业废水	2h	能使活性污泥中毒的物质	快速测定	仅适用于特定水样
增温	组成成分稳定的水样	快速	水样本身特性	快速测定	仅适用于特定水样

2.1 实验环境条件

实验环境条件对微生物的生化过程有很大影响。样品储存运输、培养以及测定过程的时间与温度均会影响微生物的生长繁殖,从而影响测定结果。一般认为20℃~40℃是微生物生长的适宜温度,在此范围内温度提高10℃,微生物活性将提高1~2倍。温度升高加快反应速率,以致培养温度每相差1℃都会引起5%左右的误差^[5]。稀释与接种法规定样品的储存运输时间应在采集后24h内,如24h内不能分析,可冷冻保存,样品培养时间为5d±4h,测定前待测试样的温度需达到(20±2)℃,培养温度为(20±1)℃^[2]。要满足这样的实验环境条件,样品运输过程中可使用车载冰箱储存,到达实验室后,在培养之前,可通过水浴将样品快速升温至20℃,培养过程中使用误差±1℃的恒温培养箱,整个操作室内环境温度控制在20℃左右,以保证培养前后测定过程中的环境温度不会影响样品。

2.2 样品本身特性

严格控制实验环境条件,可以排除外部因素的影响,而样品本身的特性,则直接关系到微生物的生存空间,排除掉水样中对微生物生化反应有影响的干扰因子,才能更为真实地测定微生物耗氧量,从而更为准确地反映出样品中可生化有机物的含量。

水样的pH值会影响微生物的活性,过酸或过碱都会抑制其生长与反应。实验研究发现pH值为6~8时微生物氧化作用最快^[6]。HJ/T505-2009规定若样品或稀释后样品pH值不在6~8范围内,应用盐酸溶液或氢氧化钠溶液调节。《水和废水监测分析方法》

中则要求将 pH 值调节到 6.5 ~ 7.5 范围内。

由于游离氯或结合氯会影响微生物的活性,当样品中含有少量余氯时,需在采样后放置 1 ~ 2 h 使游离氯散发。对在短时间内余氯不能消失,可加入适量亚硫酸钠溶液去除样品中存在的余氯和结合氯。

含有大量颗粒物、需要较大稀释倍数的样品或经冷冻保存的样品,测定前均需对样品进行均质化处理,否则会产生较大误差。一般可搅拌使其混合均匀,对于高悬浊样品可使用水浴超声器对其进行超声波振荡处理,使其均质混合^[7]。

若样品中有大量藻类存在,藻类生存的呼吸作用和光合作用会改变样品中溶解氧含量,培养过程中藻类死亡后会作为有机物被微生物分解,增加耗氧量,导致 BOD₅ 测定结果偏高。当分析结果精度要求较高时,测定前应用滤孔为 1.6 μm 的滤膜过滤,检测报告中注明滤膜滤孔的大小^[2]。

若样品含盐量低,缺乏微生物生长所需的无机营养元素,限制其生长繁殖,则造成没有足够的微生物去降解样品中的有机物,使测定结果虚低。HJ/T505 - 2009 规定非稀释样品的电导率小于 125 μs/cm 时,需加入适量盐溶液,使样品的电导率大于 125 μs/cm。

样品中微生物的生存也会受到重金属等有毒物质含量的影响。某些重金属离子吸附于微生物的细胞壁后,可穿透细胞壁进入细胞质,与菌体蛋白质结合使之变性。研究人员发现重金属等有毒物质超过一定限值会对微生物活性产生影响^[8],可使用经驯化的微生物接种液稀释水对水样进行稀释,或提高稀释倍数以减少其浓度。而高浓度杀菌剂、农药类等物质还会对微生物膜内菌种产生毒害作用,造成微生物传感器测定法产生较大的误差。

一般测定水样 BOD₅ 时,主要生物氧化作用为碳化作用,硝化作用很不显著或根本不发生,但若样品中含有硝化细菌(如生物处理池出水)时,在测定 BOD₅ 时部分含氮化合物的耗氧量也计入其中,因此须加入硝化抑制剂,抑制硝化过程。需要注意的是硝化抑制剂也是有机物,加入后也会被微生物分解而耗氧,造成系统误差,需通过测定全程序空白扣除。

2.3 操作因素

除外部实验条件和样品本身特性两大影响因素之外,实验人员的操作也是关键影响因素。

样品中的溶解氧含量是一个动态平衡值,有可能受采集、保存、稀释、培养、测定等一系列操作影响。操作过程中应注意不使水样曝气,并通过快速升温或震荡方式排除过饱和氧。

操作中使用的玻璃器皿应彻底洗净,以防瓶壁沾

染有机物或对微生物有毒害作用的物质,造成测定结果的误差。

当样品无法直接培养测定时,可接种或稀释后测定。接种液的作用是向样品中提供合适的微生物以分解有机物,稀释水的作用是提供微生物生存需要的氮磷等营养元素以及足够的溶解氧,保障其新陈代谢的正常。这其中使用的接种液和接种稀释水的配制及其质量也是影响测定结果的关键因素之一。

3 技术难点分析与探讨

在 BOD₅ 实际测定过程中,常会遇到多种状况,只有排除各种干扰因素,才能测出更为真实的 BOD₅ 值。而接种液和接种稀释水的配制、稀释倍数的选取,一直是此实验操作的难点所在,且直接关系到实验成败与否。

稀释水水温要控制在 (20 ± 1) °C,曝气 1 h,使其溶解氧达到 8 mg/L 以上。使用前每升水中加入盐溶液混匀,20 °C 环境保存。在曝气的过程中防止污染,特别是防止带入有机物、金属、氧化物或还原物。研究发现稀释水的原水选用很关键,离子交换水易受到树脂床的污染,不宜采用,而用一般蒸馏水作为 BOD 稀释水源,其空白值可达到规定要求。稀释水中氧的浓度不能过饱和,使用前需开口放置 1 h,且应在 24 h 内使用,剩余的稀释水应弃之。

接种液配制的关键在于根据实际水样选取能适应该水样的微生物。一般可购买接种微生物用的接种物质配制,也可选用未受工业废水污染的生活污水、含有城镇污水的河水或湖水、污水处理厂的出水等。分析含有难降解物质的工业废水时,可在其排污口下游适当处取水样作为废水的驯化接种液。

而接种稀释水则根据接种液的来源不同,每升稀释水中加入适量接种液: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,且需存放在 (20 ± 1) °C 的环境中,现配现用。

测定样品的同时,需使用葡萄糖 - 谷氨酸标准溶液检查接种液、稀释水的质量,其测定结果 BOD₅ 应在 180 ~ 230 mg/L 之内。且需检查空白试样的 BOD₅,稀释水测定结果不能超过 0.5 mg/L,接种液测定结果不能超过 1.5 mg/L,否则应检查可能的污染来源。

在稀释过程中,稀释过低则没有足够的溶解氧供微生物消耗,稀释过高则样品中微生物生存环境改变太大,失去重复性和显著性,测定值不真实。合适的稀释程度需使培养过程中耗氧量不小于 2 mg/L,培养后样品中剩余溶解氧不小于 2 mg/L,且剩余的溶解氧为开始浓度的 1/3 ~ 2/3 为最佳^[2]。

由于特定样品的总有机碳(TOC)、高锰酸盐指数(COD_{Mn})、化学需氧量(COD_{Cr})、生化需氧量(BOD₅)之间存在一定的比例关系,可以通过测定其他有机物污染指标含量,间接估计 BOD₅ 值,再根据此期望值以及水样的类型等特性,确定样品的稀释倍数。但对于不同的样品,其中各种有机物的含量不一样,污染指标之间的比例关系不同,难以根据某一比例关系估计 BOD₅ 期望值。

根据实践经验,一般情况下溶解氧含量足够的清洁,地表水 BOD₅ 值较低,可不经稀释直接测定,而受污染的地表水,需根据其污染物种类与含量的不同,具体分析其稀释倍数。

稀释倍数的合理选取一直是从业人员的研究内容之一,国内外就其确定方法进行了大量的探索研究,并提出不同的经验公式。有关稀释倍数的选择方法主要有以下几种:①以高锰酸盐指数(COD_{Mn})除以 3,4,5 得稀释倍数。由于高锰酸钾的氧化率低,对有些有机物不能完全氧化或不能氧化,因而,在该法适用范围上颇受限制,只适用于污染较轻的废水和地面水等^[9];②以回归法确定稀释倍数,由于水质变化复杂,故其相关性也在变化,因此所用的回归方程也应经常校正,而且对于每一种不同的水样,其所用的回归方程也不同,因此这种方法的适用局限性更大,不具有推广价值^[9];③以化学需氧量(COD_{Cr})值乘以系数 0.075,0.15,0.225 作为 3 个稀释倍数^[1],该法适用于工业废水,也有一定的局限性。

当不能准确地选择稀释倍数时,可以多取几个不同稀释倍数培养,选择最合适的作为实验结果,如果都符合稀释与接种法标准 HJ/T505-2009 中的规定要求,则可以取其平均值。但在实际操作中,同一样品几个不同稀释倍数测定的结果有时会出现稀释倍数较大的耗氧量反而多的现象。出现这种情况有可能是试样中有微生物毒性物质,此时选择与稀释倍数无关的结果,并取其平均值。试样测定结果与稀释倍数的关系确定如下^[2]:一个试样要做 2 个以上不同的稀释倍数,每个试样每个稀释倍数做平行双样同时进行培养。测定培养过程中每瓶试样氧的消耗量,并画出氧消耗量对每一稀释倍数试样中原样品的体积曲线。若此曲线呈线性,则此试样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试样测定结果计算平均 BOD₅ 值。

出现由稀释倍数造成的较大误差也与微生物的生

长情况密切相关。稀释倍数大,水体中溶解氧就高,微生物繁殖的空间就大。因为对微生物而言,如果各方面条件满足,它将以几何速度繁殖^[10]。据有关资料表明,大肠杆菌每一代的平均繁殖时间为 17 min,5 d 培养期间,大肠杆菌可以繁殖 400 多代,当天 1 个菌落第 5 天可以繁殖成 2 个菌落,因此,即使当天的微生物群落数有很大差异,经过 5 d 繁殖,到第 5 天,水体中的微生物总数就趋于相近^[10]。稀释倍数不同,导致微生物数量和群落结构的变化,稀释倍数越高,水体中生态结构改变越大,微生物生存空间越大,测定值偏离真值越大。研究发现用“半数倍”代替“整数倍”,尽量减少稀释倍数,据此思路测得的 BOD₅ 值较为理想^[11]。

4 结 论

因生化反应的复杂性, BOD₅ 各种测定方法影响因素众多,且都存在一定局限性。经典方法稀释与接种法应用最为广泛,测定结果相对准确,在测定过程中,通过排除实验环境条件与操作因素等众多干扰因子影响,根据样品特性,配制合适稀释水,选用合适稀释倍数,才能更为准确地测定 BOD₅ 值,更为真实地反映水中的有机污染情况。

参考文献:

- [1] 国家环境保护总局.水和废水监分析办法(4版)[M].北京:中国环境科学出版社,2002.
- [2] 环境保护部.HJ/T505-2009 水质 五日生化需氧量(BOD₅)的测定-稀释与接种法[S].北京:中国环境科学出版社,2009.
- [3] 环境保护部.HJ/T86-2002 水质 五日生化需氧量(BOD₅)的测定 微生物传感器快速测定法[S].北京:中国环境科学出版社,2002.
- [4] 张金华.升温快速法测定 BOD 及其准确性的评价[J].环境保护,1995,(11).
- [5] 张静,崔建升,刘辉,等.生化需氧量(BOD₅)测定方法进展[J].河北化工,2006,(1).
- [6] Heukelekian H, Gellman I. Sewage and Wastes[J]. 1951,(23):1546-1563.
- [7] 刘力.生化需氧量快速测定法的样品预处理[J].中国环境监测,2007,23(5).
- [8] 陈素华,孙铁珩,周启星,等.微生物与重金属间的相互作用及其应用研究[J].应用生态学报,2002,13(2).
- [9] 王爱一,周涛涛.在 BOD₅ 分析中水样稀释比确定方法的研究[J].环境工程,2003,21(2).
- [10] 齐文启.环境监测实用技术(1版)[M].北京:中国环境科学出版社,2006.
- [11] 胡文翔,陈铁熔,陈元,等.地表水 BOD₅ 测定中确定稀释倍数的新思路[J].中国环境监测,2004,20(4).

(编辑:邓玲)

Analysis on measurement method of biochemical oxygen demand

TAO Shuyun

(*Lianyungang Branch, Jiangsu Hydrology and Water Resources Survey Bureau, Lianyungang 222001, China*)

Abstract: In order to measure the BOD rapidly and accurately, the five measurement methods of biochemical oxygen demand (BOD) are compared through excluding the impact of many disturbing factors such as laboratory environmental conditions and operating factors. After the comparison of advantages, disadvantages and application scope of each method, it can be found that each method has its limitations and the influential factors. The solutions to technical difficulties such as the preparation of diluted water and the selection of dilution multiple are analyzed and discussed according to the characteristics of samples. The results show that the dilution and inoculation method is most widely used because of the relatively accurate measurement results.

Key words: BOD; measurement method; dilution ratio; environmental conditions of laboratories

(上接第 73 页)

Design and application of online high – density shipboard water quality monitoring system

LIU Yunbing, LIU Hui, ZHUO Haihua, WU Yunli

(*Water Environment Monitoring Center of Yangtze River Basin, Yangtze River Valley Resources Protection Bureau, Wuhan 430010, China*)

Abstract: The design scheme and application of online high – density shipboard water quality monitoring system are introduced. The system consists of a variety of automatic monitoring devices of water quality, data acquisition and processing system, Global Positioning System (GPS), and 3G wireless communication systems. In addition, the design details of each subsystem are briefly described. The practical application shows that the system can quickly obtain the water quality monitoring data with a precise temporal and spatial orientation when the speed reaches 30 km/h, which is significant to the monitoring of water environment and pollution zones.

Key words: shipboard; high – density monitoring; water environment monitoring; integrating technology

(上接第 73 页)

Research on state quo and progress of sediment monitoring method and quality standard

LAN Jing, ZHU Zhixun, FENG Yanling, ZHENG Yanhong

(*Water Environment Monitoring Center of Yangtze River Basin, Yangtze River Valley Resources Protection Bureau, Wuhan 430010, China*)

Abstract: The state quo and progress of sediment monitoring method and quality standard of China, America, Canada and ISO etc. are introduced. In the light of the problems of imperfect monitoring system on sediment of surface water, immature study of sediment quality standard in fresh water, not unified evaluation basis, the state quo of sediment quality in water body can not be reflected objectively. Therefore, the suggestions are proposed including conducting investigation on sediment pollution of surface water, setting up sediment monitoring method system in line with the national conditions, establishing the environmental quality standard of sediment, implementing target management of sediment quality etc.

Key words: sediment; monitoring method; standard; target management