

探讨五日生化需氧量质控样的几个影响因素

邵波昌*, 张兰普#

云南省生态环境厅驻文山州生态环境监测站, 云南 文山

收稿日期: 2025年2月8日; 录用日期: 2025年3月7日; 发布日期: 2025年3月18日

摘 要

本研究针对BOD₅测定关键环节——稀释接种水制备过程中的温度控制、盐度调节、曝气方式优化、溶解氧质量浓度、接种液投加量校准及样品稀释倍数确定等影响因素进行系统探讨, 旨在建立规范化的操作方案, 为提升环境监测数据质量提供理论依据。

关键词

生化需氧量(BOD₅), 质控样, 影响因素

Discussion on Several Influencing Factors of Five-Day Biochemical Oxygen Demand Quality Control Samples

Bochang Shao*, Lanpu Zhang#

Wenshan State Environmental Monitoring Station, Yunnan Provincial Department of Ecology and Environment, Wenshan Yunnan

Received: Feb. 8th, 2025; accepted: Mar. 7th, 2025; published: Mar. 18th, 2025

Abstract

This study systematically explores the influencing factors in the preparation process of dilution and inoculation water, a key step in the determination of BOD₅, including temperature control, salinity adjustment, optimization of aeration methods, calibration of dissolved oxygen mass concentration, inoculation liquid addition volume, and determination of sample dilution ratio. The aim is to establish a standardized operation plan and provide a theoretical basis for improving the quality of

*第一作者。

#通讯作者。

environmental monitoring data.

Keywords

Biochemical Oxygen Demand (BOD₅), Quality Control Samples, Influencing Factors

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

生化需氧量(BOD₅)是指在有氧存在的条件下,微生物分解水中的可氧化性物质所进行的生物、化学反应中所消耗的溶解氧的量,是衡量水体受有机污染物污染程度的综合性重要指标之一[1]。该指标通过表征水体中有机污染物生物降解的需氧总量,客观反映水体受有机物污染程度,是评价水质安全及生态系统健康的核心参数。根据我国现行环境标准体系,BOD₅被列为多项强制性监测指标:在《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)中属于基本项目,在《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB 18918-2002)中列为基本控制项目,在《污水综合排放标准》(GB 8978-1996)中则作为第二类污染物管控。因此,BOD₅检测能力是环境监测实验室必须通过资质认证的关键技术指标[2]。为保障检测数据可靠性,实验室需采用BOD₅标准样品实施全过程质控,通过分析精密度和准确度验证同批次水样测定结果的可靠性。本研究针对BOD₅测定关键环节——稀释接种水制备过程中的温度控制、盐度调节、曝气方式优化、溶解氧质量浓度、接种液投加量校准及样品稀释倍数确定等影响因素进行系统探讨,旨在建立规范化的操作方案,为提升环境监测数据质量提供理论依据。

2. 实验部分

2.1. 方法原理

BOD₅是指在(20±1)℃恒温条件下,水体中好氧微生物通过生物氧化作用分解可降解有机物过程中,五日内所消耗的溶解氧量[3]。分别测定水样在20℃±1℃培养5 d前后的溶解氧含量,二者之差即为五日生化过程所耗的含氧量(BOD₅)。

2.2. 实验仪器

恒温培养箱;电化学探头溶解氧仪;溶解氧瓶;1 L量筒;10 L细口玻璃瓶;虹吸管;玻璃搅棒。

2.3. 实验试剂

磷酸盐缓冲溶液:将8.5 g磷酸二氢钾(KH₂PO₄),21.75 g磷酸氢二钾(K₂HPO₄),33.4 g磷酸氢二钠(Na₂HPO₄·7H₂O)和1.7 g氯化铵(NH₄Cl)溶于水中,稀释至1000 mL。

硫酸镁溶液:将22.5 g硫酸镁(MgSO₄·7H₂O)溶于水中,稀释至1000 mL。

氯化钙溶液:将27.5 g无水氯化钙溶于水,稀释至1000 mL。

氯化铁溶液:将0.25 g氯化铁(FeCl₃·6H₂O)溶于水,稀释至1000 mL。

稀释水:在10 L玻璃瓶内装入蒸馏水。向其中曝氧气一定的时间,使用电化学探头溶解氧仪测定稀释水中的溶解氧质量浓度,临用前于每升水中加入氯化钙溶液、氯化铁溶液、硫酸镁溶液、磷酸盐缓冲

溶液各 1 mL, 并混合均匀。

接种液: 用含生活污水的河流水作为接种液。

接种稀释水: 于 1 L 稀释水中加入一定量接种液, 混匀。接种稀释水配制后立即使用。

2.4. 结果与讨论

2.4.1. 温度的影响

水温 and 溶解氧质量浓度成反比关系, 水温越低, 溶解氧含量越高; 水温越高, 溶解氧含量越低。一般情况下, 水温应控制在 20℃ 左右。在冬季, 较清洁的水样或蒸馏水中溶解氧含量往往过饱和, 并且水温比较低, 应将水温升至 20℃ 左右, 充分用力振摇, 并开塞放出多余的溶解氧, 赶出过饱和溶解氧后再进行测定。而夏季, 水温一般较高, 应使水样降温到 20℃ 左右, 充分用力振摇, 使水样和空气中氧分压接近平衡[4]。

水温影响微生物活性, BOD₅ 测定要求在(20 ± 1)℃ 恒温培养, 温度直接影响微生物酶活性及代谢速率。微生物呼吸速率的温度敏感性可通过 Q₁₀ 系数表征(Davidson & Janssens, 2006)。BOD₅ 测定中, (20 ± 1)℃ 的严格控温要求是为了规避 Q₁₀ 效应引起的代谢速率偏差, 确保 BOD₅ 测定结果与标准条件的一致性[5]。温度升高会加速酶促反应, 但超过 25℃ 可能导致嗜温菌过度繁殖, 改变微生物群落结构; 温度低于 15℃ 则会显著抑制微生物活性, 导致有机物的氧化分解速率降低, 最终影响溶解氧消耗量的测定值。BOD₅ 测定中, 水温严格控制在 20℃ 左右, 确保测定结果与标准条件的一致性。

2.4.2. 曝气方式的影响

曝气目的是使稀释水中溶解氧(DO)达到饱和浓度。曝气不足会导致初始 DO 偏低, 可能无法满足五日耗氧需求; 过度曝气可能引入过多氧气或改变溶液 pH (CO₂ 逸出导致 pH 升高)。为达到饱和状态, 传统曝气需控制曝气时间(通常 ≥ 8 h)、气体流量应控制在 0.5~1.0 L/min 及气泡大小(微孔曝气头直径 < 2 mm), 该方法对曝气装置有一定要求, 且费时费力, 须提前曝气, 不利于应对突发情况, 本文通过优化曝气方式, 采用纯氧气曝气, 具体为, 在 10~20 升左右的玻璃瓶中加入一定量的蒸馏水, 在蒸馏水中通入纯氧 3 分钟左右, 氧气流量尽可能调小, 盖上盖子, 用力震摇蒸馏水, 使蒸馏水中溶解氧混匀, 用电化学探头溶解氧仪测定溶解氧含量, 若溶解氧含量过高, 可向蒸馏水中通入氮气, 反复多次, 调节到所需溶解氧浓度, 该方法具有快速曝气、精准曝气、现用现配, 应对突发情况, 提高工作效率等优点。

2.4.3. 盐度的影响

样品在测定前, 应初测其盐度, 盐度通过渗透压影响微生物细胞膜的通透性。高盐环境(如 Cl⁻ 浓度 > 1000 mg/L)会导致微生物细胞脱水(渗透压失衡), 抑制其呼吸作用; 低盐环境则可能降低细胞膜稳定性。稀释接种水中需添加适量磷酸盐缓冲液(如 KH₂PO₄/Na₂HPO₄ 体系), 既维持渗透压平衡(调节溶液含盐量至 200~800 μS/cm), 又提供微生物代谢必需的元素。若含盐量低于 125 μS/cm, 应加入相同体积的硫酸镁、氯化钙、氯化铁和磷酸盐缓冲溶液, 使含盐量大于 125 μS/cm, 在日常工作中, 对于含盐量低的样品, 建议采用接种稀释法进行测定。

2.4.4. 溶解氧质量浓度的影响

溶解氧的质量浓度直接影响微生物的代谢活性和有机物的分解速率, 从而决定 BOD₅ 的准确性和可靠性, BOD₅ 的测定是基于好氧微生物在分解有机物的过程中消耗的溶解氧量, 溶解氧是微生物进行有氧呼吸所必须的物质, 溶解氧充足时, 微生物能够高效的分解有机物, 耗氧速率稳定, BOD₅ 测定稳定, 溶解氧不足时, 微生物代谢受到抑制有机物分解不完全, 导致 BOD₅ 测定值偏低, 为准确研究样品中溶解氧质量浓度对测定结果的影响, 将样品中溶解氧质量浓度分别设定为 7 mg/L、8 mg/L、9 mg/L、9.5 mg/L

左右。以质控样 200269 (47.4 ± 3.5 mg/L)、200270 (102 ± 9 mg/L)和 200272 (89.2 ± 8.3 mg/L)为例, 探讨不同的溶解氧质量浓度对质控样结果的影响。具体结果详见表 1 和表 2。

Table 1. The influence of different dissolved oxygen mass concentrations on the results

表 1. 不同的溶解氧质量浓度对结果的影响

溶解氧	质控样	稀释倍数	五天前溶解氧含量	五天后溶解氧含量	溶解氧质量浓度	溶解氧质量平均浓度
7 mg/L 左右	空白 1	——	6.66	5.93	0.73	0.72
	空白 2	——	6.65	5.94	0.71	
	2600269	200/1000	7.11	1.86	46.0	46.2
			7.21	1.92	46.4	
	2600270	100/1000	7.19	1.67	96.7	96.8
			7.30	1.77	96.9	
	2600272	100/1000	7.66	2.42	91.5	90.7
			7.65	2.47	89.9	
	空白 3	——	8.19	7.36	0.83	0.82
	空白 4	——	8.14	7.32	0.82	
	2600269	200/1000	8.19	2.79	46.6	46.3
			8.26	2.92	46.0	
8 mg/L 左右	2600270	100/1000	8.22	2.18	105	104
			8.10	2.13	104	
	2600272	100/1000	8.11	2.86	89.4	88.9
			8.10	2.90	88.4	
	空白 5	——	9.19	7.82	1.37	1.35
	空白 6	——	9.20	7.88	1.32	
	2600269	200/1000	8.89	2.82	48.6	47.9
			8.92	2.99	47.2	
	2600270	100/1000	8.72	2.41	101	101
			8.68	2.36	101	
	2600272	100/1000	8.90	3.04	91.7	92.3
			8.83	2.95	92.9	
10 mg/L 左右	空白 7	——	10.10	8.92	1.18	1.06
	空白 8	——	9.96	9.02	0.94	
	2600269	200/1000	9.44	3.54	49.6	49.6
			9.41	3.49	49.7	
	2600270	100/1000	9.37	3.15	104	104
			9.38	3.2	103	
	2600272	100/1000	9.30	3.87	88.4	88.7
			9.32	3.86	89.0	

Table 2. Impact of different concentrations of dissolved oxygen content on the relative error results of known samples
表 2. 不同浓度溶解氧含量对已知样相对误差结果的影响

样品编号 溶解氧含量	7	8	9	10	保证值
空白	0.72	0.82	1.35	1.06	≤1.5
已知样 200269	46.2	46.3	47.9	49.6	47.4 ± 3.5
相对误差%	-2.5	-2.3	1.1	4.6	——
已知样 200270	96.8	104	101	104	102 ± 9
相对误差%	-5.1	2.0	-1.0	-2.0	——
已知样 200272	90.7	88.9	92.3	88.7	89.2 ± 8.3
相对误差%	1.7	-0.3	3.5	-0.6	——

通过数据可以看出, 将五天前稀释接种水的溶解氧控制在 7 mg/L 左右时, 由于不饱和, 稀释水与样品混合后, 溶解氧含量有所上升; 稀释接种水的溶解氧控制在 8 mg/L 左右时, 稀释水与样品混合后, 溶解氧含量基本保持不变; 稀释接种水的溶解氧控制在 9 mg/L 左右时, 稀释水与样品混合后, 样品中的溶解氧略微下降; 稀释接种水的溶解氧控制在 10 mg/L 左右时, 稀释水与样品混合后, 样品中的溶解氧有所下降; 将溶解氧含量控制在 7~10 mg/L 之间, 空白值均在方法规定的小于 1.5 mg/L 范围之内, 3 只已知样结果均在给定范围内。按照 HJ 505-2009 相关要求, 五天后的溶解氧剩余量应大于 2 mg/L, 溶解氧控制在 7 mg/L 左右时, 出现了五天后溶解氧含量低于 2 mg/L 情况, 综上, 建议将五天前的溶解氧含量控制在 8 mg/L 至 9 mg/L 左右, 五天前溶解氧含量低, 样品中的溶解氧不够消耗, 导致五天后的溶解氧含量低于 2 mg/L, 这时, 微生物活性显著下降, 好氧速率降低, 当溶解氧质量浓度低于 1 mg/L, 微生物可能进入休眠状态, 有机物分解几乎停止。溶解氧含量过饱和, 容易导致五天前的溶解氧不稳定。

2.4.5. 接种液加入量的影响

接种液提供具有降解能力的微生物群落。投加量不足时, 微生物数量不足以分解复杂有机物; 过量投加则可能引入外源有机物或毒性物质(如重金属)。为研究样品中接种液加入量对测定结果的影响, 样品中溶解氧质量浓度为 8 mg/L 左右, 分别加入 10 mL/L、30 mL/L、50 mL/L、70 mL/L、90 mL/L 稀释接种液, 该接种液为河流水。以质控样 200269 (47.4 ± 3.5 mg/L)、200270 (102 ± 9 mg/L)和 200272 (89.2 ± 8.3 mg/L)为例, 探讨不同接种液加入量对结果的影响。具体结果详见表 3 和表 4。

Table 3. The influence of different inoculation liquid addition amounts on the results
表 3. 不同接种液加入量对结果的影响

接种液加入量	质控样	稀释倍数	五天前溶解氧 含量	五天后溶解氧 含量	溶解氧质量 浓度	溶解氧质量平均 浓度
10 mL/L	空白 9	——	8.37	7.43	0.94	0.95
	空白 10	——	8.30	7.34	0.96	
	2600269	200/1000	8.04	2.54	46.4	47.6
			8.10	2.36	48.8	
	2600270	100/1000	8.26	2.43	98.6	97.8
			8.12	2.37	97.0	
	2600272	100/1000	8.30	3.03	87.3	86.8
			8.13	2.92	86.2	

续表

30 mL/L	空白 11	—	8.15	7.28	0.87	0.82
	空白 12	—	8.17	7.40	0.77	
	2600269	200/1000	8.16	2.72	47.0	47.0
			8.17	2.74	46.9	
	2600270	100/1000	8.22	2.44	100	100
			8.23	2.42	101	
	2600272	100/1000	8.24	2.94	90.4	90.6
			8.26	2.94	90.8	
50 mL/L	空白 13	—	8.00	6.85	1.15	1.08
	空白 14	—	7.96	6.94	1.02	
	2600269	200/1000	7.98	2.31	47.0	46.8
			8.08	2.44	46.7	
	2600270	100/1000	8.00	1.97	100	100
			8.08	2.02	101	
	2600272	100/1000	8.14	2.47	92.9	92.9
			8.06	2.29	92.9	
70 mL/L	空白 15	—	8.70	7.69	1.01	1.01
	空白 16	—	8.80	7.79	1.01	
	2600269	200/1000	8.64	2.76	49.7	49.2
			8.63	2.86	48.6	
	2600270	100/1000	8.68	2.40	106	106
			8.66	2.43	105	
	2600272	100/1000	8.54	3.09	89.8	90.7
			8.73	3.19	91.6	
90 mL/L	空白 17	—	8.38	7.33	1.05	1.02
	空白 18	—	8.33	7.34	0.99	
	2600269	200/1000	8.32	2.65	47.5	47.8
			8.34	2.62	48.0	
	2600270	100/1000	8.23	2.07	104	104
			8.28	2.05	105	
	2600272	100/1000	8.32	2.87	89.6	89.5
			8.34	2.90	89.4	

Table 4. The influence of different inoculation liquid addition amounts on the relative error results of known samples
表 4. 不同接种液加入量对已知样相对误差结果的影响

样品编号 接种液加入量	10 mL	30 mL	50 mL	70 mL	90 mL	保证值
空白	0.95	0.82	1.08	1.01	1.02	≤1.5
已知样 200269	47.6	47.0	46.8	49.2	47.8	47.4 ± 3.5
相对误差%	0.4	-0.8	-1.3	3.8	0.8	——
已知样 200270	98	100	100	103	104	102 ± 9
相对误差%	-3.9	-2.0	-2.0	1.0	2.0	——
已知样 200272	86.8	90.6	92.9	90.7	89.5	89.2 ± 8.3
相对误差%	-2.7	1.6	4.1	1.7	0.3	——

通过以上数据可以看出, 样品中溶解氧质量浓度为 8 mg/L 左右, 分别加入 10 mL/L、30 mL/L、50 mL/L、70 mL/L、90 mL/L 稀释接种液(河水), 空白值均小于 1.5 mg/L, 3 支已知样均在给定范围内, 相对误差均小于±5%。说明选用河流水作为稀释接种液可行, 加入该接种液 10 mL 至 90 mL 稀释接种液均可满足要求, 在日常的工作中, 选择合适的稀释接种液是做好已知样和盲样的关键因素, 接种稀释液一般为花园土浸出液、活性污泥上清液和城镇污水处理厂出口水等, 无论选择市场售卖的接种液还是自行选择的稀释接种液, 在使用前, 都应进行空白和已知样的试测, 以确定该接种液是否满足实验室监测的要求。河流水作为常见地表水, 极易获取, 节约监测成本, 但选用河流水作为稀释接种液应避免出现连续下雨出现水中微生物不足的现象, 建议加入稀释接种液的量按最大剂量加入, 避免微生物不足的现象。

2.4.6. 稀释倍数的确定

在测定 BOD₅ 时, 非稀释法最高浓度只能测到 6 mg/L, 若样品高于 6 mg/L, 就必须进行稀释, 如何确定稀释倍数的确定成为了关键, 其原理就是预估最大值是 6 mg/L 的倍数。详见下表 5。

Table 5. Relationship between BOD₅ estimated value and dilution multiplier
表 5. BOD₅ 预估值与稀释倍数的关系

BOD ₅ 预估值	稀释倍数	最大预估值是 6 的倍数
6~12	2	2
10~30	5	5
20~60	10	10
40~120	20	20
100~300	50	50
200~600	100	100
400~1200	200	200
1000~3000	500	500
2000~6000	100	100

BOD₅ 预估值与稀释倍数的关系是一个大概稀释倍数, 在测定已知样时, 直接根据已知样的浓度确定其稀释倍速, 但在盲样考核的过程中, 往往不知道其浓度, 这时, 我们可以先测定化学需氧量, 再预估

BOD₅ 值, 传统 BOD₅ 稀释比的计算公式为: 稀释比($f\%$) = $100/(\text{COD}_{\text{Cr}} \times A)$, A 为稀释系数(一般一有 3 个稀释系数, 分别是 0.075、0.150 和 0.225) [6]。这种方法确定的是一个大概稀释比, 稀释倍数可能为小数, 一些稀释倍数不易操作, 在日常工作中操作繁琐, 增加工作量, 根据日常监测和能力考核经验提出, BOD₅ 预估值 = $0.68 \times \text{COD}_{\text{Cr}}$ 值。根据预估值, 再查 BOD₅ 预估值与稀释倍数的关系快速确定稀释倍数, 采用该预估值的方法在日常考核和参加 2021 年和 2024 年国家能力验证均取得了令人满意的结果。

3. 结语

稀释与接种法测定水样中 BOD₅ 是一种经验方法, 该方法是利用微生物分解水中有机物过程中消耗溶解氧的量来测定的, 所以该方法与微生物有密切关系, 微生物生长繁殖又与环境因素息息相关 [7]。本文从稀释接种水制备过程中的温度控制、盐度调节、曝气方式优化、溶解氧质量浓度、接种液投加量校准及样品稀释倍数确定等影响因素进行系统探讨, 并给出相应的建议。BOD₅ 测定中, (1) 水温严格控制在 20℃ 左右, 确保测定结果与标准条件的一致性。(2) 曝气方式可采用纯氧曝气, 与传统曝气方法相比, 此方法具有快速曝气、精准曝气、现用现配, 应对突发情况, 提高工作效率等优点。(3) 含盐量低于 125 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 的样品, 建议直接采用接种稀释法进行测定。(4) 五天前溶解氧含量控制在 8 mg/L 至 9 mg/L 左右, 五天前溶解氧含量低, 样品中的溶解氧不够消耗, 导致五天后的溶解氧含量低于 2 mg/L, 这时, 微生物活性显著下降, 好氧速率降低, 当溶解氧质量浓度低于 1 mg/L, 微生物可能进入休眠状态, 有机物分解几乎停止。溶解氧含量过饱和, 容易导致五天前的溶解氧不稳定。(5) 提供了河水作为稀释接种液的可行性验证, 河流水作为常见地表水, 极易获取, 节约监测成本, 但加入稀释接种液(河水)的量建议按最大剂量加入, 避免微生物不足的现象。(6) 预估 BOD₅, 可采用 $0.68 \times \text{COD}_{\text{Cr}}$ 值快速确定, 对实际测定 BOD₅ 质控样有一定的指导意义。

参考文献

- [1] 于静洁, 顾国维, 张志峰, 等. 废水 BOD₅ 测定的探讨[J]. 环境科学与技术, 2008, 31(1): 80-85.
- [2] 吴晓凤, 吕怡兵, 李盛, 等. 水中生化需氧量检测能力实验室比对结果分析[C]//中国环境科学学会. 第三届环境监测与预警技术大会论文集, 2024: 446-456.
- [3] 沈阳市环境监测中心站. 五日生化需氧量的测定 稀释接种法: HJ505-2009 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [4] 李献文. 水质溶解氧的测定碘量法: GB 7489-87 [S]. 北京: 中国环境出版社, 1987.
- [5] Davidson, E.A. and Janssens, I.A. (2006) Temperature Sensitivity of Soil Carbon Decomposition and Feedbacks to Climate Change. *Nature*, **440**, 165-173. <https://doi.org/10.1038/nature04514>
- [6] 范月娥, 贾剑峰. 分析五日生化需氧量标准样品的几点经验[J]. 山西化工, 2022(1): 73-74.
- [7] 石向红. 浅析五日生化需氧量测定的影响因素[J]. 广州化工, 2014(13): 132-133.