

生化需氧量标准样品的有效期探究

黄艳贞

广东省东莞生态环境监测站 广东东莞 523000

摘要: 对生化需氧量的标准样品有效期进行分析, 通过控制变量法, 对不同生产厂家, 不同标准值及扩展不确定度进行横向分析, 对同一生产厂家, 安瓿瓶开封放置不同时间后培养测定进行纵向分析, 并得出实验结论, 力求在确保监测质控达到标准要求的前提下尽量节约标准样品的使用。

关键词: 五日生化需氧量; 有效期; 控制变量法

引言:

生化需氧量是指在规定的条件下, 微生物分解水中的某些可氧化的物质, 特别是分解有机物的生物化学过程消耗的溶解氧, 它是反映水中有机污染物含量的一个综合指标。标准样品作为监测的质控手段, 对监测数据的准确性至关重要, 而标准样品证书只规定了安瓿瓶未打开状态下的有效使用期限, 但一瓶标准样品(稀释后为250ml)每次只需要使用10~100ml, 如用一次就弃掉相对浪费。本文从标准样品的有效期进行探究, 力求在确保监测质控达到标准要求的前提下尽量节约标准样品的使用。

一、研究方法

1. 实验原理

本实验的生化需氧量测定是让水样充满完全密闭的溶解氧瓶中, 在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的恒温培养箱中培养 $5d \pm 4h$, 测定第一天及第五天水样中溶解氧的质量浓度, 由第一天及第五天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^[1]。

2. 试剂材料

(1) 主要试剂。磷酸盐缓冲溶液: 将0.85g磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、2.18g磷酸氢二钾(K_2HPO_4)、3.34g七水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)和0.17g氯化铵(NH_4Cl)溶于水中, 稀释至100ml。硫酸镁溶液, $\rho(\text{MgSO}_4) = 11.0\text{g/L}$: 将2.25g七水合硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)溶于水中, 稀释至100ml。氯化钙溶液, $\rho(\text{CaCl}_2) = 27.6\text{g/L}$: 将2.76g无水氯化钙(CaCl_2)溶于水中, 稀释至100ml。氯化铁溶液, $\rho(\text{FeCl}_3) = 0.15\text{g/L}$: 将0.025g六水合氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)溶于水中, 稀释至100ml。

(2) 稀释水: 在10L的龙头瓶中加入5L的水, 控制室温在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, 用多通道空气泵曝气6小时。使用

前加入上述四种盐溶液各5ml, 混匀, 20°C 保存, 开口放置1小时后使用。

(3) 标样:

生产厂家	批号	定值日期	有效期限	标准值及扩展不确定度
生态环保部标准样品研究所	200255	2018.10	2023.09	$74.7 \pm 4.9 \text{ mg/L}$
生态环保部标准样品研究所	200257	2019.05	2024.04	$33.3 \pm 3.9 \text{ mg/L}$
生态环保部标准样品研究所	200258	2019.05	2024.04	$98.8 \pm 7.1 \text{ mg/L}$
生态环保部标准样品研究所	200261	2020.05	2025.04	$40.9 \pm 5.5 \text{ mg/L}$
生态环保部标准样品研究所	200262	2020.11	2025.10	$86.0 \pm 5.2 \text{ mg/L}$
坛墨质检科技股份有限公司	B202040303	2022.06	2025.06	$106 \pm 8 \text{ mg/L}$

3. 仪器和设备

- (1) 溶解氧瓶: 带瓶塞及瓶盖, 容积250 ~ 300 ml。
- (2) 稀释容器: 1L的量筒
- (3) 溶解氧测定仪(品牌型号: YSI-5000)。
- (4) 带风扇的恒温培养箱: $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。(品牌: 上海智诚分析仪器制造有限公司, 型号: ZSD-1430)
- (5) 多通道空气泵(品牌: 上玻, 产品型号: XH-BOD5, 规格: 4孔, 气量: $4 \times 4\text{L/min}$)

- (6) 移液枪(品牌: 普兰德, 量程: 1.00~10.00ml)

4. 分析步骤^[2]

(1) 标样稀释方法: 小心打开安瓿, 用10mL干燥洁净移液管从安瓿中准确量取10mL浓样至250mL容量瓶中, 用纯水稀释定容至刻度, 混匀后使用。

(2) 按照确定的稀释倍数, 用移液枪将一定体积的标样加入已加部分稀释水的稀释容器中, 加稀释水至刻度, 轻轻混合避免残留气泡, 待测定。

(3) 稀释法测定, 空白试样为稀释水。

(4) 试样的测定:

电化学探头法测定试样中的溶解氧

①先用部分试样润洗溶解氧瓶一次, 再将试样充满一个溶解氧瓶中, 用洗耳球轻敲溶解氧瓶, 使瓶中存在的气泡排除。测定第一天试样中的溶解氧的质量浓度。

②盖上瓶塞, 此时试样会浸没部分瓶塞, 形成了水封的效果, 再盖上瓶盖, 防止培养期间水封水蒸发干。将试样瓶放入恒温培养箱中培养 $5d \pm 4h$ 。测定培养后试样中溶解氧的质量浓度。

③溶解氧的测定按 GB/T 11913 进行操作^[4]。

④空白试样的测定方法同上。

5. 结果计算^[3]

稀释法按以下公式计算样品 BOD₅ 的测定结果:

$$\rho = \frac{(\rho_1 - \rho_2) - (\rho_3 - \rho_4) \cdot f_1}{f_2}$$

式中: ρ ——五日生化需氧量质量浓度, mg/L;

ρ_1 ——待测样在第一天的溶解氧质量浓度, mg/L;

ρ_2 ——待测样在第五天的溶解氧质量浓度, mg/L;

ρ_3 ——空白样在第一天的溶解氧质量浓度, mg/L;

ρ_4 ——空白样在第五天的溶解氧质量浓度, mg/L;

f_1 ——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。

二、实验结果

1. 实验 1

标样配制日期: 2023.06.05

标样配制后保存条件: 4℃

实验时间: 2023.06.05~2023.06.10

培养温度: 20℃

表 1 第一次实验稀释水结果

名称	ρ_3	ρ_4
稀释水 1	8.75	8.37
稀释水 2	8.78	8.42

表 2 第一次实验标样结果

标样	ρ_1	ρ_2	f_1	f_2	ρ	是否在标准值范围内
200255	8.70	4.52	0.95	0.05	76.0	是
200257	8.71	5.09	0.90	0.10	32.6	是
200258	8.70	4.11	0.96	0.04	105.2	是
200261	8.68	4.63	0.90	0.10	36.9	是
200262	8.72	4.05	0.95	0.05	85.8	是
B202040303	8.73	3.89	0.96	0.04	111	是

2. 实验 2

标样配制日期: 2023.06.05

标样配制后保存条件: 4℃

实验时间: 2023.06.06~2023.06.11

培养温度: 20℃

表 3 第二次实验稀释水结果

名称	ρ_3	ρ_4
稀释水 1	8.82	8.41
稀释水 2	8.80	8.47

表 4 第二次实验标样结果

标样	ρ_1	ρ_2	f_1	f_2	ρ	是否在标准值范围内
200255	8.81	4.60	0.95	0.05	76.6	是
200257	8.81	4.98	0.90	0.10	34.7	是
200258	8.79	4.32	0.96	0.04	102	是
200261	8.77	4.86	0.90	0.10	35.5	是
200262	8.82	3.94	0.95	0.05	90.0	是
B202040303	8.79	4.12	0.96	0.04	107	是

3. 实验 3

标样配制日期: 2023.06.05

标样配制后保存条件: 4℃

实验时间: 2023.06.07~2023.06.12

培养温度: 20℃

表 5 第三次实验稀释水结果

名称	ρ_3	ρ_4
稀释水 1	8.82	8.53
稀释水 2	8.76	8.45

表 6 第三次实验标样结果

标样	ρ_1	ρ_2	f_1	f_2	ρ	是否在标准值范围内
200255	8.79	4.54	0.95	0.05	79.3	是
200257	8.79	4.93	0.90	0.10	35.9	是
200258	8.78	4.52	0.96	0.04	99.3	是
200261	8.79	4.70	0.90	0.10	38.2	是
200262	8.81	4.11	0.95	0.05	88.3	是
B202040303	8.73	4.26	0.96	0.04	105	是

4. 实验 4

标样配制日期: 2023.06.05

标样配制后保存条件: 4℃

实验时间: 2023.06.08~2023.06.13

培养温度: 20℃

表 7 第四次实验稀释水结果

名称	ρ_3	ρ_4
稀释水 1	8.65	8.46
稀释水 2	8.66	8.46

表8 第四次实验标样结果

标样	ρ_1	ρ_2	f_1	f_2	ρ	是否在标准 值范围内
200255	8.63	4.66	0.95	0.05	75.6	是
200257	8.60	5.12	0.90	0.10	33.0	是
200258	8.62	4.39	0.96	0.04	101	是
200261	8.63	4.41	0.90	0.10	40.4	是
200262	8.61	4.09	0.95	0.05	86.6	是
B202040303	8.62	4.16	0.96	0.04	107	是

5. 实验5

标样配制日期: 2023.06.05

标样配制后保存条件: 4℃

实验时间: 2023.06.09~2023.06.14

培养温度: 20℃

表9 第五次实验稀释水结果

名称	ρ_3	ρ_4
稀释水1	8.77	8.45
稀释水2	8.77	8.48

表10 第五次实验标样结果

标样	ρ_1	ρ_2	f_1	f_2	ρ	是否在标准 值范围内
200255	8.75	4.72	0.95	0.05	74.9	是
200257	8.77	5.40	0.90	0.10	31.0	是
200258	8.77	4.68	0.96	0.04	95.1	是
200261	8.75	4.71	0.90	0.10	37.7	是
200262	8.76	4.42	0.95	0.05	81.1	是
B202040303	8.70	4.35	0.96	0.04	102	是

三、实验结论

1. 通过对比同一生产厂家(生态环保部标准样品研究所)的同一标样, 经安瓿瓶开封后放置时间不同(开封第一天到第五天), 而进行培养测定, 发现安瓿瓶开封后放置5天后培养, 测定值仍然在标准值及扩展不确定度范围内;

2. 通过对比同一生产厂家(生态环保部标准样品研究所)的不同浓度标样, 经安瓿瓶开封后放置时间不同(开封第一天到第五天), 而进行培养测定, 测定值仍符合3.1结论;

3. 通过对比不同生产厂家(生态环保部标准样品研究所和坛墨质检科技股份有限公司)的相近浓度标样, 安瓿瓶开封后放置时间不同(开封第一天到第五天), 而进行培养测定, 测定值仍符合3.1结论。

参考文献:

[1] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会编. 水和废水监测分析方法(第四版增补版). 北京: 中国环境科学出版社, 2009(11): 227-231.

[2] 环境保护部环境监测司 中国环境监测总站 编. 国家地表水环境质量监测网 监测任务作业指导书(试行). 北京: 中国环境出版集团, 2018(4): 30-36.

[3] HJ 505-2009 水质 五日生化需氧量(BOD₅)的测定 稀释与接种法[S].

[4] GB 11913-89 水质 溶解氧的测定 电化学探头法[S].