

Nhu cầu oxy sinh hóa, BOD

Phương pháp Pha loãng, được USEPA chấp nhận

Ứng dụng cho phân tích nước và nước thải

Trước khi bắt đầu thí nghiệm

BOD test mất thời gian 5 ngày. Tuân thủ theo các bước cẩn thận để không phải lặp lại thí nghiệm. Nước pha loãng dùng cho thí nghiệm phải không có nhu cầu oxy hay chất độc hại. Khi được ủ 5 ngày ở 20°C nồng độ oxy hòa tan trong nước pha loãng không được thay đổi hơn 0.2 mg/L. Carbonaceous BOD (CBOD) có thể được xác định bằng cách bổ sung chất ức chế sự nitrát hóa. Thí nghiệm cho CBOD được khuyến thực hiện đối với dòng ra xử lý bằng phương pháp sinh học, mẫu được mỗi với dòng ra đã xử lý bằng phương pháp sinh học hoặc nước sông.

Chuẩn bị các dụng cụ sau

Description	Quantity
BOD bottles, 300-mL, glass, with glass stoppers and plastic caps	6
Dilution water containing nutrient buffer and seed (see Dilution water preparation)	varies
Nitrification inhibitor (for CBOD only)	1 bottle
Pipet, serological	1
Incubator	1

Xem phần Các vật dụng thay thế và tiêu thụ để đặt hàng

Phương pháp 8034



1. Chuẩn bị nước dùng pha loãng mẫu với dung dịch đệm chất dinh dưỡng (**BOD Nutrient Buffer Pillow**); xem phần chuẩn bị nước pha loãng bên dưới.



2. Xác định thang đo của thể tích mẫu theo mẫu; xem phần chọn thể tích mẫu bên dưới cho phần này.

Chú ý: nếu thể tích mẫu tối thiểu là 3mL hay cao hơn, xác định oxy hòa tan



3. Dùng pipet hút mẫu theo tuần tự lượng thể tích cần pha loãng từ thấp nhất vào từng chai BOD. Khuấy mẫu bằng pipet trước khi hút mẫu vào mỗi chai.

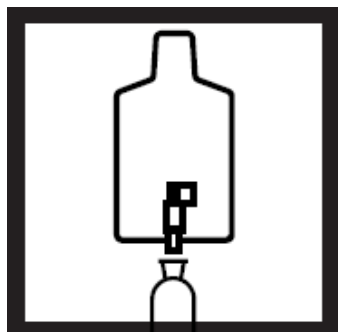


4. Cho 2 liều **Nitrification inhibitor** (khoảng 0.16g) vào mỗi chai, nếu chỉ muốn xác định CBOD.

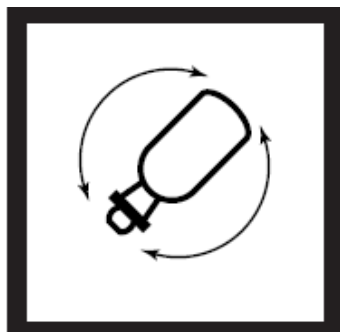
Chú ý: Việc sử dụng Nitrification Inhibitor sẽ hạn chế sự oxy hóa hợp chất nitơ

trong mẫu chưa pha loãng. Bước này có thể được bỏ qua khi phân tích nước thải bùn cống hay phân lắng đầu ra đã biết nồng độ oxy hòa tan ở mức gần 0 mg/L.

nếu chỉ cần biết nhu cầu oxy cacbon. Đặc biệt được khuyến dùng với mẫu có BOD thấp.



5. Đổ vào mỗi chai nước pha loãng có cấy chất môi vi sinh hoặc không. Khi cho nước vào, để nước chảy chậm xuống từ bên thành chai để tránh tạo bọt khí.



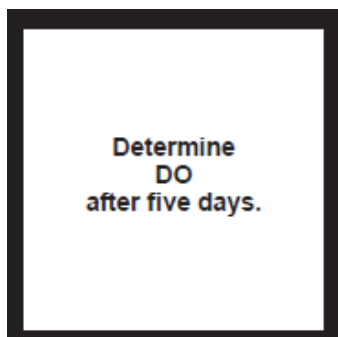
6. Đậy nút chai cẩn thận để không có bọt khí bên trong. Dùng ngón tay ấn nút chai xuống sau đó lắc ngược nhiều lần để xáo trộn mẫu.



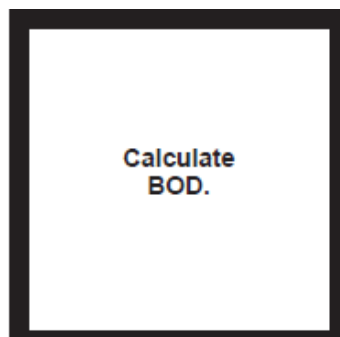
7. Đổ một lượng vừa đủ nước pha loãng lên miệng chai để đảm bảo không khí không vào bên trong.



8. Cho nắp đậy bằng nhựa che toàn bộ miệng chai (nếu không có nắp sẵn thì có thể dùng parafilm để quấn chặt bên ngoài nắp chai BOD) rồi đặt vào tủ ủ ở nhiệt độ $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Để ủ trong bóng tối trong 5 ngày.



9. Khi kết thúc 5 ngày ủ, xác định lượng oxy hòa tan còn lại trong mẫu (mg/L DO) của từng chai theo phương pháp đo DO hòa tan hoặc đo bằng điện cực DO theo



10. Xác định BOD theo cách sau: xem đồ thị ở phần tính toán kết quả.
a) Vẽ đường DO còn lại của từng mẫu hòa tan với thể tích mẫu lấy phân tích (mg/L

b) Tính BOD theo công thức sau, tương đương với cách tính BOD trong Standard Methods.
mg/L BOD = (A x 300) - B + C

Trong đó:
A = độ dốc. Độ dốc đường thẳng bằng với mg/L DO tiêu thụ trên mỗi lít mẫu. Lấy bất kì

phương pháp điện
hóa.

DO vs mL mẫu),
sau đó sẽ được
thẳng tuyến tính
đi qua các điểm
trên đồ thị.

*Chú ý: Điểm có sai số
cho dấu hiệu rõ ràng tại
thời điểm này và có thể
không được quan tâm.
Tuy nhiên, có ít nhất 3
điểm nằm trên đường
thẳng hoặc cận đường
thẳng. Đối với nước
pha loãng được cho
vào chất mỗi đường
thẳng phải đi qua mg/L
oxy còn lại tỉ lệ gần hay
dưới giá trị oxy bão hòa
theo độ cao so với mực
nước biển của phòng
lab được nêu trong
phần Chuẩn bị nước
pha loãng.*

điểm nào trên đường thẳng và
trừ đi mg/L DO còn lại tại điểm
đó từ lượng DO mà đường
thẳng đi qua trong phạm vi đo
DO (cắt trục Y, mg/L DO còn
lại). Chia độ chênh lệch cho mL
mẫu tại điểm được chọn.

300 = thể tích chai BOD

B = giá trị DO tại điểm đường
thẳng cắt trục Y (giá trị này phải
gần giá trị thực của mẫu trắng
nước pha loãng)

C = DO của mẫu. Giá trị DO của
mẫu chưa pha loãng.

*Chú ý: Nếu vẽ được đường thẳng
từ phép hồi quy tuyến tính thông
qua máy tính tay, dấu (-) của hệ số
đốc phải được đổi thành dấu (+)
trước khi nhân cho 300.*

Chuẩn bị nước dùng pha loãng

Thí nghiệm BOD đòi hỏi chất lượng nước để pha loãng rất cao. Nước phải không được có bất kì chất
độc hại như lượng nhỏ clo, đồng, thủy ngân và các chất hữu cơ. Nếu chất hữu cơ có trong nước pha
loãng thì nó sẽ làm tăng nhu cầu oxy.

Cách thực hiện phổ biến nhất để tạo nước có thành phần hữu cơ thấp là chưng cất từ alkaline
permanganate (viên NaOH và KMnO_4). Các thiết bị chưng cất thương mại cũng có loại sản xuất nước
chưng cất đạt chất lượng cao.

Việc sử dụng trực tiếp nước khử ion từ cột trao đổi ion không được khuyến khích do sự thải hồi không
đáng tin cậy các vật liệu hữu cơ mà không phát hiện được khi đo thông số độ dẫn nhưng lại gia tăng nhu
cầu oxy trong kết quả thí nghiệm. Sự phát triển của sinh vật cũng có thể hiện diện trong cột trao đổi ion.

Nước được chưng cất khi được sản xuất ra từ thiết bị chưng cất thì nóng ẩm và chưa bão hòa với oxy.
Nhiệt độ của nước dùng pha loãng phải ở 20°C khi được sử dụng và phải gần như bão hòa với oxy. Nên
bảo quản nước chưng cất trong tủ ủ BOD đến khi đạt được 20°C và nước pha loãng chỉ chuẩn bị trước
khi tiến hành thí nghiệm BOD. Nước chưng cất có thể được trữ trong các bình có tay cầm và vòi dung
tích 1gallon (~3.78L) để chứa 3L hoặc dùng bình 2 gallon để chứa 6L. Bình phải được đậy nắp kĩ và để
trong tủ ủ. Sau hơn 24 giờ, nhiệt độ sẽ ở mức 20°C và nước sẽ được bão hòa hoặc gần bão hòa với oxy
ở không khí trên mức nước trong bình hòa tan vào. Nếu sử dụng bình 5 gallon, nước cất nên được bão
hòa với oxy bằng cách thổi khí vào từ máy nén khí hoặc máy bơm bể nuôi cá.

Chú ý: thiết bị thổi khí phải được làm sạch trước và sau khi dùng.

Không cần sử dụng nước có chất môi khi phân tích nước thải bùn cống, dòng ra nhà máy nước thải (trừ khi bị khử trùng với clo) hay nước sông. Tuy nhiên, có một số mẫu từ nước thải công nghiệp hay thương mại hoặc nước được khử trùng với clo thì không có đủ sinh vật để oxy hóa chất hữu cơ có trong mẫu. Để phân tích những mẫu này, chất môi phải được bổ sung vào mẫu. Bổ sung chất môi bằng cách cho vào một lượng nhỏ thể tích nước xác định có chứa sinh vật phát triển tốt vào nước pha loãng. Nước thải bùn cống thô hay Polyseed® BOD Seed Inoculum được khuyến khích sử dụng là nguồn cấp chất môi. Chất môi này nên được giữ ở 20°C trong 24 đến 36 giờ trước khi sử dụng. Khi sử dụng nước thải sinh hoạt làm chất môi, cần để yên cho lắng hầu hết chất rắn. Dùng pipet lấy phần nước phía trên làm môi. Kinh nghiệm cho thấy cứ bổ sung 3.0 mL nước thải sinh hoạt thô vào mỗi lít nước pha loãng là dư dả. Chất môi có BOD là 200mg/L (mức phổ biến cho nước thải sinh hoạt) khi lấy 3mL cho vào 1 lít nước pha loãng sẽ tiêu thụ 0.6 mg/L DO.

Sử dụng BOD Nutrient Buffer Pillows (chất đệm dinh dưỡng)

Để chuẩn bị nước pha loãng, chọn thể tích BOD Nutrient Buffer Pillow phù hợp với lượng nước pha loãng cần sử dụng, xem bảng 1. Lắc gói dung dịch đệm, cất phần trên và đổ dung dịch bên trong vào bình có vòi đã chứa thể tích nước pha loãng. Chọn bình có dung tích sao cho phần nước pha loãng không đầy bình. Vặn nắp lại và lắc bình mạnh trong 1 phút để hòa tan dung dịch đệm, sau đó để cho nước bão hòa oxy trong bình.

Bảng 1

Description	Cat. No.
BOD Nutrient Buffer Pillows for	
preparing 300 mL of dilution water	14160-66
for preparing 3 liters of dilution water	14861-98
for preparing 6 liters of dilution water	14862-98
for preparing 19 liters of dilution water	14863-98

Theo phương pháp truyền thống

Để chuẩn bị nước pha loãng theo phương pháp truyền thống, pipet 1mL mỗi dung dịch sau vào 1 lít nước cất ở 20°C: dung dịch calcium chloride (CaCl₂), ferric chloride (FeCl₃), magnesium sulfate (MgSO₄) và dung dịch đệm phosphate. Đậy nắp chai và lắc mạnh trong 1 phút. Dung dịch đệm phosphate phải được làm lạnh để giảm tốc độ sinh vật phát triển. Sử dụng cẩn thận các dung dịch để tránh bị nhiễm bẩn.

Chọn kích cỡ mẫu

Mức thể tích mẫu được pha loãng phụ thuộc vào hai yếu tố: loại mẫu và độ cao so với mực nước biển của phòng thí nghiệm.

Nếu mẫu chứa lượng chất hữu cơ cao như nước thải từ hệ thống cống xả, BOD sẽ cao nên thể tích mẫu dùng để pha loãng sẽ thấp. Trái lại, nếu mẫu có lượng BOD thấp như nước sông bị ô nhiễm thì thể tích mẫu dùng pha loãng sẽ cao, xem bảng 2.

Độ cao so với mực nước biển cũng ảnh hưởng đến khối lượng oxy có thể hòa tan vào nước pha loãng. Tại mực nước biển và khí áp bình thường, nước có thể được bão hòa tới 9.2 mg/L DO tại 20°C. Ở độ cao cao hơn, khối lượng oxy có thể hòa tan vào nước sẽ giảm vì thế ít oxy hơn cho vi sinh vật hô hấp. Tham khảo bảng 4. Tỷ lệ mẫu lấy ít hơn để chắc chắn còn lượng oxy trong chai BOD sau 5 ngày ủ. Để cho kết quả thí nghiệm được chính xác, thể tích mẫu phải được chọn sao cho ít nhất 2.0 mg/L DO bị tiêu thụ trong thời gian ủ nhưng phải còn lại ít nhất 1.0 mg/L DO trong chai BOD (dựa vào bảng 2)

Thực hiện theo các bước sau để xác định thể tích mẫu cần pha loãng:

- Dự đoán BOD của mẫu (xem bảng 2). Nước thải từ hệ thống cống xả xấp xỉ 300 mg/L BOD; nước ở đầu ra được oxy hóa có khoảng 50 mg/L hay thấp hơn.
- Xác định thể tích tối thiểu của mẫu dựa vào lượng BOD dự đoán từ bảng 2. Ví dụ, nếu mẫu nước thải được dự đoán là 300 mg/L BOD thì thể tích tối thiểu cho phép là 2mL. Nước thải đầu ra có BOD dự đoán là 40 mg/L thì thể tích tối thiểu là 15 mL.
- Xác định độ cao của phòng thí nghiệm
- Xác định thể tích tối đa với độ cao phòng thí nghiệm từ bảng 3. Ở độ cao 1000 feet (~ 300m), BOD dự đoán là 300mg/L thì thể tích mẫu tối đa là 8mL. Đối với mẫu có 40 mg/L BOD thì thể tích tối đa cần sử dụng là 60 mL.
- Chọn 3 mức thể tích khác cho mẫu nằm trong khoảng min và max để tổng lượng mẫu phân tích là 5 hoặc nhiều hơn. Trong 2 trường hợp ví dụ nêu ở bước d), dãy thể tích mẫu đề nghị là 2, 4, 5, 6 và 8mL cho mẫu dự đoán 300mg/L BOD, với mẫu 40 mg/L BOD thì chọn 15, 25, 35, 45 và 60 mL.

Bảng 2 Xác định thể tích mẫu nhỏ nhất

Sample Type	Estimated BOD mg/L	mL of Sample*
Strong Trade Waste	600	1
	300	2
	200	3
	150	4
Raw and Settled Sewage	120	5
	100	6
	75	8
	60	10
	50	2
	40	15
Oxidized Effluents	30	20
	20	30
	10	60
Polluted River Waters	6	100
	4	200
	2	300

Bảng 3 Xác định thể tích mẫu lớn nhất

Sea Level	Estimated BOD at		mL of Sample*
	1000 ft (300 m)	5000 ft (1520 m)	
2460	2380	2032	1
1230	1189	1016	2
820	793	677	3
615	595	508	4
492	476	406	5
410	397	339	6
304	294	251	8
246	238	203	10
205	198	169	12
164	158	135	15
123	119	101	20
82	79	68	30
41	40	34	60
25	24	21	100
12	12	10	200
8	8	7	300

Bảng 4 Giá trị bão hòa oxy theo độ cao khác nhau

Oxygen Saturation Value	Sea Level	1000 ft	2000 ft	3000 ft	4000 ft	5000 ft	6000 ft
(at 20 °C)	9.2 mg/L	(300 m)	(610 m)	(915 m)	(1220 m)	(1520 m)	(1830 m)
		8.9 mg/L	8.6 mg/L	8.2 mg/L	7.9 mg/L	7.6 mg/L	7.4 mg/L

Chất cản trở

Nhiều nước thải được khử trùng với clo hoặc nước thải công nghiệp yêu cầu kiểm soát đặc biệt để chắc chắn kết quả BOD có thể tin cậy. Luôn thực hiện thí nghiệm cẩn thận với phần mẫu được phân tích để xác định những vấn đề cần điều chỉnh cho quá trình thí nghiệm.

Chất độc hại trong mẫu sẽ tác động xấu đến vi sinh vật hiện diện trong mẫu và làm cho kết quả thí nghiệm BOD thấp.

- a) Để loại trừ lượng clo tồn dư trong mẫu, để mẫu lắng yên trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Với thể tích mẫu lớn hơn, xác định khối lượng natri thiosulfate cho vào mẫu như sau:
 1. Đong 100mL mẫu cho vào bình tam giác loại 250mL. Dùng pipet 10mL và đầu pipet hút 10mL dung dịch chuẩn Sulfuric Acid, 0.02N và 10mL dung dịch Potassium Iodide, 100g/L vào bình tam giác.
 2. Cho 3 giọt chất chỉ thị tinh bột (Starch Indicator Solution) và khuấy đều.
 3. Đổ vào buret dung tích 25mL 0.025N dung dịch chuẩn natri thiosulfate (Sodium Thiosulfate Standard Solution) và chuẩn độ mẫu từ màu xanh dương đậm sang không màu.
 4. Tính lượng Sodium Thiosulfate, 0.025N cho vào mẫu:

$$\frac{\text{mL 0.025N sodium thiosulfate required}}{100} = \frac{\text{mL titrant used} \times \text{volume of remaining sample}}{100}$$

5. Cho lượng Sodium Thiosulfate Standard Solution, 0.025 N cần thiết vào mẫu. Khuấy đều. Chờ 10 đến 20 phút trước khi bắt đầu thí nghiệm BOD.
- b) Để loại trừ ảnh hưởng của phenols, kim loại nặng hay cyanide, pha loãng mẫu với nước cất tinh khiết. Chất môi sử dụng trong nước pha loãng có thể được làm thích nghi để chống chịu với những chất độc hại này. Làm thích nghi chất môi như sau:
 1. Đổ nước thải sinh hoạt vào bình chứa bằng nhựa hoặc thép không gỉ dung tích 1 gallon (~3 lít) và sục khí trong 24 giờ. Để cho phần cặn lắng xuống.
 2. Sau khi để cặn lắng trong 1 giờ, hút ra 3 phần nước phía trên và đổ bỏ.
 3. Đổ vào bình chứa theo tỉ lệ 90% nước thải sinh hoạt và 10% chất thải có chứa chất độc hại.
 4. Sục khí trong 24 giờ. Lặp lại bước 2 và 3 nhưng tăng dần lượng chất thải cho đến khi bình chứa hoàn toàn 100% chất thải có thành phần độc hại.
- c) pH tối ưu cho thí nghiệm BOD là khoảng 6.5 đến 7.5. Điều chỉnh pH đến 7.2 bằng dung dịch đệm phosphate (Phosphate Buffer Solution) hay 1 N (hay loãng hơn) Sulfuric Acid hay Sodium Hydroxide Standard Solution nếu pH không nằm trong dãy này.
- d) Những mẫu lạnh có thể bị quá bão hòa với oxy và sẽ cho kết quả BOD thấp. Đổ ¼ chai với mẫu lạnh và lắc mạnh trong 2 phút. Để cho nhiệt độ của mẫu đạt tới 20°C trước khi thí nghiệm.

Tính toán kết quả

Nồng độ mg/L DO còn lại được xác định cho chuỗi 4 mẫu nước thải sinh hoạt pha loãng sau 5 ngày ủ. Kết quả như sau:

mL of sample taken	mg/L DO remaining
2.0	7.50
3.0	6.75
6.0	4.50
9.0	2.25

Giá trị DO được vẽ trên đồ thị tương quan với mL mẫu lấy pha loãng. Một đường thẳng được kẻ đi qua 4 điểm như hình 1. Nếu thí nghiệm BOD thực hiện đúng với mẫu đồng nhất thì đồ thị mg/L DO còn lại với thể tích mẫu sẽ là một đường thẳng. Giá trị tại điểm mà đường thẳng cắt trục y bằng với giá trị DO của nước pha loãng sau khi ủ, mặc dù thực tế không đo giá trị này. Trong trường hợp này, nó bằng 9.0 mg/L và DO trong mẫu nước được cho là bằng 0. Nếu sử dụng nguồn mẫu khác, DO của mẫu chưa pha loãng phải được xác định bằng phương pháp chuẩn độ Winkler hay phương pháp đo điện hóa.

Hiệp hội sức khỏe cộng đồng Mỹ (APHA-American Public Health Association) cũng có thể xác định BOD theo công thức sau:

$$\frac{\begin{array}{c} \text{mg/L DO} \\ \text{remaining} \\ \text{with smaller} \\ \text{sample volume} \end{array}}{\begin{array}{c} \text{mL of larger} \\ \text{sample volume} \end{array}} - \frac{\begin{array}{c} \text{mg/L DO} \\ \text{remaining} \\ \text{with larger} \\ \text{sample volume} \end{array}}{\begin{array}{c} \text{mL of smaller} \\ \text{sample volume} \end{array}} \times 300 - \text{DO}_D + S = \text{mg/L BOD}$$

Using this formula in the above example:

mg/L DO remaining with smaller sample volume = 7.50

mg/L DO remaining with larger sample volume = 2.25

mL of larger sample volume = 9.0

mL of smaller sample volume = 2.0

300 = volume (mL) of BOD bottle

DO_D = mg/L DO of dilution water = 9.0

S = mg/L DO of sample = assumed in this case to be zero

Therefore:

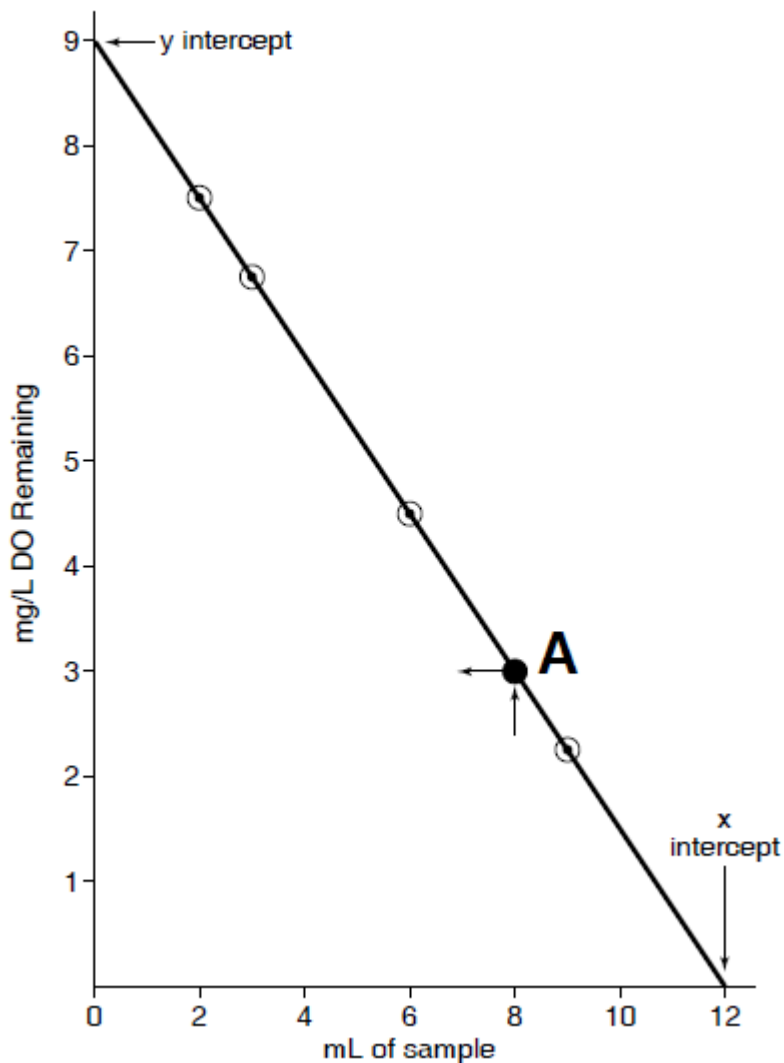
$$\frac{(7.50 - 2.25)}{(9.0 - 2.0)} \times 300 - 9 + 0 = \text{mg/L BOD}$$

$$\frac{5.25}{7} \times 300 - 9 =$$

$$0.75 \times 300 - 9 =$$

$$225 - 9 =$$

$$216 = \text{mg/L BOD}$$



Hình 1

Dùng công thức trong bước 10

$$(\text{slope} \times 300) - Y \text{ intercept} + \text{sample DO} = \text{mg/L BOD}$$

Trong đó:

Slope = ta chọn tùy ý một điểm, ví dụ như điểm A trên hình 1. Tại điểm này mg/L DO còn lại bằng 3mg/L. Thể tích mẫu tại điểm A là 8 mL. Sự chênh lệch với điểm cắt trục Y 9.0 mg/L và 3.0 mg/L bằng 6mg/L. Lấy 6 mg/L cho cho 8 mL = 0.75 mg/L /mL.

$$Y \text{ intercept} = 9.0 \text{ mg/L}$$

Sample DO = vì là mẫu nước thải sinh hoạt nên được thừa nhận bằng 0

Do đó

$$(0.75 \times 300) - 9.0 + 0 = \text{mg/L BOD}$$

$$225 - 9 + 0 =$$

$$216 = \text{mg/L BOD}$$

Kiểm tra độ chuẩn xác

Hỗn hợp chuẩn của glucose và axit glutamic được sản xuất dùng để kiểm tra độ chuẩn xác trong thí nghiệm BOD. Thực hiện theo các hướng dẫn sau:

- Làm gãy đầu ống BOD Voluette Ampule Standard Solution dùng cho phương pháp pha loãng
- Sử dụng pipet định lượng loại A và đầu hút pipet lấy 1.00, 2.00, 3.00 và 4.00 mL dung dịch chuẩn cho vào 4 chai BOD.
- Đổ đầy các chai BOD với nước pha loãng có chất môi và ủ tại 20°C trong 5 ngày.
- Xác định DO còn lại trong mỗi chai, sau đó vẽ đồ thị tương quan giữa mg/L DO còn lại với thể tích dung dịch chuẩn sử dụng.
- Vẽ đường thẳng đi qua các điểm
- Xác định BOD của dung dịch chuẩn như bước 10 trong quy trình thí nghiệm ở trên.
- Chia giá trị cho 2.

Chú ý: dựa vào dung dịch chuẩn sơ cấp chứa 150 mg/L mỗi thành phần glucose và axit glutamic, Standard Methods xác định BOD 5 ngày sẽ khác nhau theo loại chất môi sử dụng và độ chính xác với từng loại chất môi được thể hiện trong bảng 5 lấy từ Standard Methods, 14th ed., 548 (1975)

Bảng 5 Ảnh hưởng của loại chất môi và chất lượng kết quả thí nghiệm BOD

Type of Seed	Mean Five-day BOD mg/L	Standard Deviation mg/L
Settled fresh sewage	218	± 11
Settled stale sewage	207	± 8
River water (4 sources)	224-242	± 7-13
Activated sludge effluent	221	± 13
Trickling filter effluent	225	± 8

Chú ý: Vì BOD chuẩn chứa 300 mg/L glucose và axit glutamic mỗi loại, nên giá trị BOD xác định từ đường thẳng phải được chia cho 2 để tương ứng với giá trị được báo cáo trong Standard Methods. Kết quả của bạn nên nằm trong độ lệch chuẩn cho từng loại chất môi sử dụng.

Tóm tắt phương pháp

Nhu cầu oxy hóa học (BOD) là phương pháp dựa kinh nghiệm đo nhu cầu oxy của nước thải hay chất thải sinh hoạt và công nghiệp. Kết quả thí nghiệm được sử dụng để tính toán ảnh hưởng của dòng thải lên nguồn oxy của nguồn nước tiếp nhận. Thí nghiệm BOD có giá trị bị giới hạn trong đo đạc thực tế nhu cầu oxy vì nhiệt độ thay đổi, quần thể vi sinh, chuyển động của nước, ánh sáng mặt

trời, nồng độ oxy và các yếu tố môi trường khác không thể tái sản xuất trong phòng thí nghiệm. Thí nghiệm BOD có giá trị tốt nhất sau khi phần oxy bị tiêu thụ bởi dòng ra đặc biệt và nước tiếp nhận được thiết lập.

Phương pháp BOD được thực hiện bằng cách ủ các mẫu trong chai kín (hay pha loãng được chuẩn bị) trong 5 ngày và sau đó xác định sự thay đổi thành phần oxy hòa tan. Giá trị BOD sau đó được tính từ kết quả thí nghiệm oxy hòa tan.

Thuốc thử và dụng cụ cần thiết cho phương pháp đo BOD bằng cách pha loãng

Description	Unit	Cat. No.
BOD Incubator, undercounter, 110 Vac	each	26162-00
BOD Incubator, undercounter, 240 Vac	each	26162-02
BOD Nutrient Buffer Pillows for preparing 3 L of dilution water	25/pkg	14861-98
Bottle, glass-stoppered, 300 mL	each	621-00
Bottle, wash, 500 mL	each	620-11
Bottle cap	6/pkg	2419-06
Clippers, large	each	968-00
Pipet filler	each	12189-00
Select One or more based on sample volume:		
Pipet, serological, 1 mL	each	532-35
Pipet, serological, 5 mL	each	532-37
Pipet, serological, 10 mL.....	each	532-38

Hóa chất phụ

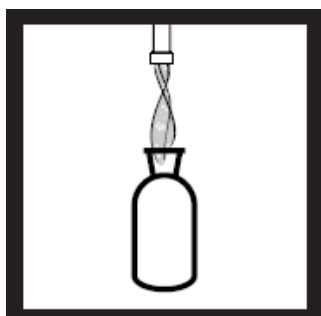
BOD Nutrient Buffer Pillows		
for preparing 300 mL of dilution water	50/pkg	14160-66
for preparing 3 L of dilution water.....	25/pkg	14861-98
for preparing 6 L of dilution water.....	25/pkg	14862-98
for preparing 19 L of dilution water	25/pkg	14863-98
BOD Standard Solution, Voluette® Ampule, 300 mg/L, 10 mL	16/pkg	14865-10
Buffer Solution, APHA, for BOD, pH 7.2, phosphate type	1000 mL.....	431-53
Calcium Chloride Solution, APHA, for BOD	1000 mL.....	428-53
Ferric Chloride, Solution, APHA, for BOD	1000 mL.....	429-53
Magnesium Sulfate Solution, APHA, for BOD	1000 mL.....	430-53
Nitrification Inhibitor	35 g	2533-35
Polyseed BOD Seed Inoculum	50 capsules	24712-00
Potassium Iodide Solution, 100 g/L	500 mL	12289-49
Potassium Permanganate	454 g	168-01
Sodium Hydroxide, pellets	500 g	187-34
Sodium Hydroxide Standard Solution, 1.00 N	100 mL* MDB	1045-32
Sodium Thiosulfate Standard Solution, 0.025 N	1000 mL.....	352-53
Starch Indicator Solution.....	100 mL* MDB	349-32
Sulfuric Acid Standard Solution, 0.020 N	1000 mL*	203-53
Sulfuric Acid Standard Solution, 1.000 N	1000 mL	1270-53

Xác định Oxy hòa tan (DO)

Phương pháp 8229

Azide Modification of Winkler Method Buret Titration*; USEPA chấp nhận

Dùng cho nước, nước thải và nước biển



1. Cho mẫu nước vào chai BOD 300mL, sạch dùng nút chặn thủy tinh.

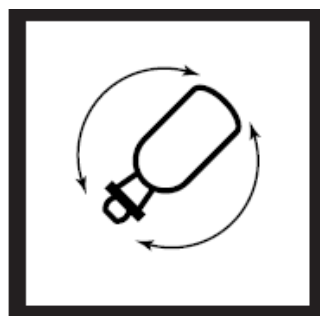
Chú ý: đổ tràn chai trong 2 đến 3 phút để lấy hết bọt khí bên trong

Chú ý: nếu mẫu không phân tích lập tức được thì xem phần Thu thập và bảo quản mẫu theo các bước sau



2. Cho bột bên trong gói Manganous Sulfate Power Pillow vào với 1 gói bột Alkaline Iodide-Azide Reagent Powder Pillow.

Chú ý: 1 mL dung dịch manganous sulfate và 1mL Alkaline Iodide-Azide có thể được thay thế gói bột tương ứng.



3. Đậy lập tức nút chặn để tránh khí vào trong chai. Đảo chai nhiều lần để xáo trộn.

Chú ý: bông cạn kết tủa lơ lửng sẽ hình thành, có sẽ có màu nâu nếu như có oxy hiện diện hoặc trắng nếu không có oxy. Bông cạn sẽ lắng xuống rất chậm trong nước muối và cần mất thêm 5 phút mới tiến hành bước tiếp theo.



4. Chờ đến khi bông cạn lắng xuống đáy hoàn toàn. Đảo chai lần nữa và chờ bông cạn lắng.

Chú ý: chờ bông cạn lắng đợt hai để đảm bảo phản ứng xảy ra hoàn toàn. Kết quả sẽ không bị ảnh hưởng do bông cạn không lắng.



5. Mở nút chặn và cho gói Sulfamic Acid Powder Pillow vào. Thay nút chặn sao cho không để khí vào trong chai và đảo nhiều lần để hòa tan thuốc thử (mẫu chuẩn bị)

Chú ý: Bông cotton sẽ hòa tan và để lại màu vàng nếu oxy hiện diện.

Chú ý: 1 mL axit sulfuric đậm đặc có thể thay thế cho 1 gói Sulfamic Acid Powder Pillow.



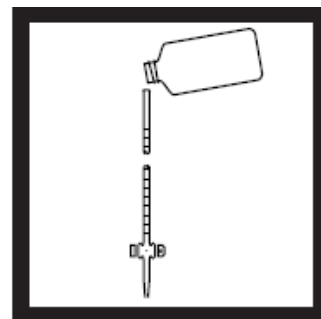
6. Đổ mẫu chuẩn bị ở bước 5 vào ống định mức đến vạch 250mL.

Chú ý: để biết chính xác, xem các bước kiểm tra độ chuẩn xác ở các bước tiếp theo.

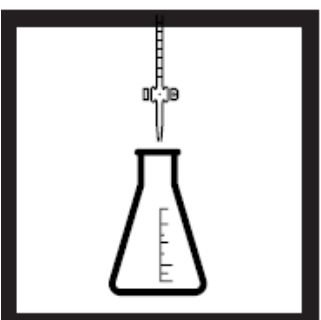


7. Đổ mẫu trong ống định mức vào bình tam giác 250mL

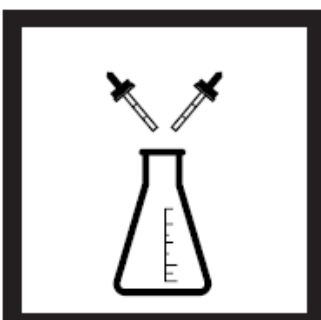
Chú ý: Chú ý: để biết chính xác, xem các bước kiểm tra độ chuẩn xác ở các bước tiếp theo.



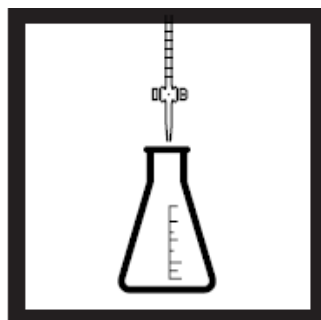
8. Đổ vào buret đến vạch 0 với 0.025N Sodium Thiosulfate Solution.



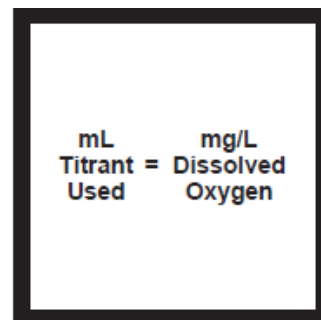
9. Chuẩn độ mẫu bằng dung dịch Sodium Thiosulfate đến khi có ánh sáng vàng.



10. Cho vào 2 giọt tinh bột chỉ thị (Starch Indicator Solution) Khuấy lên.
Chú ý: sẽ xuất hiện màu xanh dương thẫm



11. Tiếp tục chuẩn độ đến khi màu xanh biến mất, mẫu trở nên không màu.



12. Tính toán:

mL chất chuẩn sử dụng = mg/L oxy hòa tan

Thu mẫu và bảo quản

Thu thập mẫu và bảo quản mẫu rất quan trọng cần lưu ý để có kết quả ý nghĩa. Lượng oxy hòa tan trong nước được thí nghiệm có thể bị thay đổi do độ sâu, xáo trộn, nhiệt độ, lắng bùn, ánh sáng, hoạt động của sinh vật, sự khuấy, thời gian vận chuyển và các yếu tố khác. Một thí nghiệm oxy hòa tan hiếm khi phản ánh được chính xác điều kiện tổng quát cho toàn bộ chất lượng nước cần phân tích. Cần phải lấy mẫu ở nhiều vị trí, thời điểm, độ sâu khác nhau để có kết quả đáng tin cậy.

Mẫu được thu thập trong chai BOD sạch như mô tả ở bước 1. Nếu cần bảo quản, thực hiện từ bước 1 đến bước 5 và giữ trong bóng tối ở nhiệt độ bằng với nhiệt độ nguồn nước hoặc giữ ở 10 đến 20°C. (làm kín bằng nước bằng cách đổ một ít nước ngập trên miệng bình sau khi đã đầy nút, dùng nắp đầy kín toàn bộ). Mẫu được bảo quản theo cách này có thể giữ được trong 4 đến 8 tiếng. Bắt đầu với bước 6 khi tiến hành phân tích.

Các chất cản trở

Các chất nitrite được loại bỏ bởi azide có trong thuốc thử. Các chất oxy hóa và khử khác có thể gây cản trở. Nếu có, sử dụng phương pháp thay thế như phương pháp đo oxy hòa tan mức cao (so màu) hoặc dùng điện cực đo oxy hòa tan.

Xử lý mẫu là cần thiết đối với mẫu là bùn hoạt tính theo cách sau:

- Cho 10mL Copper Sulfate-Sulfamic Acid Inhibitor Solution vào ống đong 1000mL.
- Đổ mẫu vào ống đong bằng ống hút và để cho mẫu chảy tràn khoảng 200mL
- Khuấy trộn đều và để chất rắn lơ lửng ổn định
- Hút lớp hỗn hợp phía trên vào chai BOD thông qua ống siphon đặt sát đáy chai. Rút ống hút ra trong khi nước đang chảy, để đảm bảo không có không khí đi vào chai. Tiếp tục bước 2 đến bước 12.

Dung dịch APHA

Các dung dịch chuẩn của APHA dùng cho oxy hòa tan để thể sử dụng thay thế thuốc thử trong gói bột bằng cách thay 1mL Manganous Sulfate Solution và 1 mL Alkaline Iodide-Azide Reagent, tương ứng trong bước 2 và 1mL Sulfuric Acid (đậm đặc) trong bước 5. Những dung dịch này phải được phân tán dưới bề mặt chất lỏng.

Phương pháp thay thế

Một phương pháp thay thế để xác định oxy hòa tan là phương pháp điện cực có màng. Không cần sử dụng thuốc thử và hầu hết các chất cản trở gặp phải với các phương pháp khác để ít ảnh hưởng điện cực xác định.

Kiểm tra độ chuẩn xác

Kiểm tra với dung dịch chuẩn

Chất lượng của dung dịch Sodium Thiosulfate có thể được kiểm tra như là một chất chuẩn cho oxy hòa tan bằng cách sử dụng Iodate-Iodide Standard Solution tương đương với 10mg/L DO. Việc kiểm tra được thực hiện bằng cách cho 1 gói Sulfamic Acid Powder Pillow vào 200-mL Iodate-Iodide

Standard Solution (0.00125 N) và chuẩn độ như mô tả ở bước 7 đến bước 11. Thể tích dùng chuẩn độ phải là 10mL. Nếu dùng hơn 10.5 mL mới đạt tới điểm cuối, thì cần phải đổ bỏ thay chất chuẩn mới.

Tóm tắt phương pháp

Azide Modification trong phương pháp Winkler là thí nghiệm chuẩn để xác định oxy hòa tan. Thí nghiệm sử dụng buret và chất chuẩn là sodium thiosulfate 0.025N. Thuốc thử chuẩn APHA trong thể lỏng có bán sẵn. Trong phân tích, ion mangan phản ứng với oxy hòa tan trong môi trường kiềm tạo thành bông cặn mangan (IV) oxit hydroxit. Azide được cho vào lúc này để giảm sự cản trở của nitrite nếu có sẽ phản ứng với iot. Dung dịch sau đó được axit hóa và bông cặn mangan (IV) bị khử bởi iot để sinh ra iot tự do dạng I_3^- tỉ lệ thuận với nồng độ oxy. Iot được giải phóng sau đó được chuẩn độ tới điểm cuối tinh bột iot.

REQUIRED REAGENTS AND APPARATUS FOR THE DISSOLVED OXYGEN METHOD

Description	Unit	Cat. No.
Alkaline Iodide-Azide Reagent Powder Pillows	25/pkg	1072-68
Bottle, glass-stoppered, BOD, 300 mL	each	621-00
Buret Clamp, double	each	328-00
Buret, Class A, 25 mL	each	14681-40
Clippers, for opening powder pillows	each	968-00
Cylinder, graduated, 250 mL	each	508-46
Flask, erlenmeyer, 250 mL	each	505-46
Manganous Sulfate Powder Pillows	25/pkg	1071-68
Sodium Thiosulfate Standard (titrant), 0.025 N	1000 mL	24093-53
Starch Indicator Solution	100 mL* MDB	349-32
Sulfamic Acid Powder Pillows	100/pkg	1073-99
Support Stand	each	563-00

APHA REQUIRED REAGENTS

Alkaline Iodide-Azide Reagent Solution	500 mL	277-49
Manganous Sulfate Solution	500 mL	275-49
Sodium Thiosulfate Standard Solution, 0.025 N	1000 mL	352-53
Starch Indicator Solution	100 mL* MDB	349-32
Sulfuric Acid, ACS	500 mL	979-49

APHA REQUIRED APPARATUS

Buret Clamp, double	each	328-00
Support Stand	each	563-00

OPTIONAL REAGENTS AND APPARATUS

Iodate-Iodide Standard Solution, 0.00125 N	500 mL	401-49
Bottles, BOD	6/pkg	2419-06

*Contact Hach for larger sizes.