

Nhu cầu oxy sinh hóa, BOD

DOC316.53.01242

Phương pháp Pha loãng¹Phương pháp 10230
Điện cực LBOD

Phạm vi ứng dụng: Nước và nước thải

¹ Tuân theo Những phương pháp chuẩn dùng cho thử nghiệm nước và nước thải và theo Klein, R.L.; Gibbs, C. Journal of Water Pollution Control Federation, 1979, 51(9), 2257. USEPA khuyến khích sử dụng trong quan trắc. Đáp ứng ASTM 888-05 (C)



Chuẩn bị cho thí nghiệm

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. Điện cực IntelliCAL™ LBOD dùng đo oxy hòa tan trong chai BOD 300 mL.

Nước pha loãng dùng cho thí nghiệm phải chắc chắn không có nhu cầu oxy hay bất kì chất độc hại. Khi được ủ 5 ngày ở 20°C nồng độ oxy hòa tan trong nước pha loãng không được thay đổi quá 0.2 mg/L.

Nhu cầu oxy cacbon BOD (CBOD) có thể được xác định bằng cách bổ sung chất ức chế sự nitrat hóa. Thí nghiệm cho CBOD được khuyến thực hiện đối với dòng ra xử lý bằng phương pháp sinh học, mẫu được mời với dòng ra đã xử lý bằng phương pháp sinh học hoặc nước sông.

Chuẩn bị các dụng cụ sau:

Mô tả	Số lượng
Chai BOD, 300mL, thủy tinh có nút chặn thủy tinh và nắp đậy bằng nhựa	6
Nước pha loãng có chứa dung dịch đệm chất dinh dưỡng và chất môi (xem phần <i>Chuẩn bị nước pha loãng</i>)	Tùy theo
Máy đo HQ40d hoặc HQ30d với điện cực IntelliCAL LBOD101	1
Chất ức chế quá trình nitrat hóa (chỉ dùng khi xác định CBOD)	1 lọ
Pipet, seriological	1
Tủ ủ	1

Xem phần [Các vật liệu bị tiêu hao và có thể thay thế](#) để biết thêm thông tin đặt hàng.



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. Chọn thể tích mẫu. Xem phần Chọn thể tích mẫu bên dưới cho phần này.



3. Khuấy nhẹ mẫu bằng pipet. Sử dụng pipet lấy mẫu theo tuần tự lượng thể tích cần pha loãng thấp nhất vào chai BOD đầu tiên.

Lấy thể tích mẫu lần lượt vào 4 chai BOD còn lại.

Khi phân tích mẫu được khử trùng hoặc đầu ra nước thải công nghiệp, tham khảo phần Chất gây nhiễu



4. Chai BOD còn lại cuối cùng chỉ đổ đầy bằng nước pha loãng. Đây sẽ là chai nước pha loãng (blank)

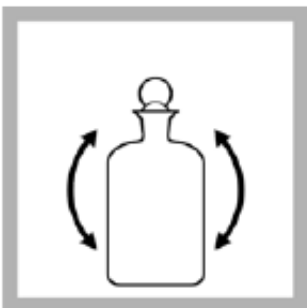


5. Nếu test CBOD, cho 2 liều chất ức chế nitrat hóa (Nitrification inhibitor), khoảng 0.16g vào mỗi chai.

Sự oxy hóa các hợp chất nitơ sẽ bị ngăn chặn. Kết quả báo cáo là CBOD.



6. Đổ vào mỗi chai nước pha loãng có cặn chất môi vi sinh hoặc không cho đến phía dưới miệng chai. Để nước chảy chậm xuống từ bên thành chai để tránh tạo bọt khí bên trong chai.



7. Đậy nút chai cẩn thận để không có bọt khí hình thành bên trong. Ấn nút chai xuống sau đó lắc ngược chai nhiều lần để xáo trộn mẫu



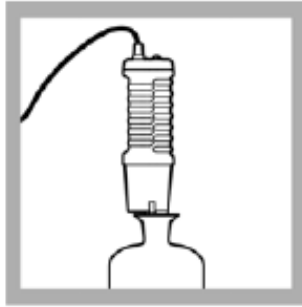
8. Đầu đo cần được hiệu chuẩn trước khi sử dụng đọc DO ban đầu và sau khi ủ 5 ngày. Tham khảo phần Hiệu chuẩn của đầu đo.

Đọc giá trị oxy hòa tan của chai blank.

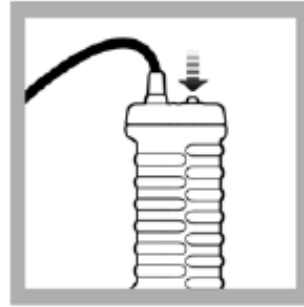
Oxy ban đầu không cần đọc khi sử dụng phương pháp đồ thị (không dùng cho mục đích báo cáo) để tính toán.



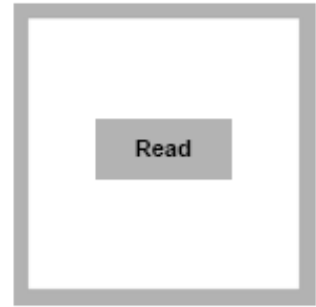
9. Rửa sạch điện cực LBOD bằng nước khử ion.



10. Đặt điện cực LBOD vào chai có chứa mẫu. Đảm bảo không có bọt khí xuất hiện dưới đầu điện cực



11. Kích hoạt cánh khuấy trên điện cực bằng cách nhấn nút trên đỉnh điện cực. Đèn chỉ thị màu xanh sẽ sáng khi cánh khuấy hoạt động.



12. Nhấn phím READ trên máy. Sau khi giá trị đọc ổn định, kết quả oxy hòa tan sẽ hiển thị trên màn hình.



13. Ghi lại giá trị đọc.

Dữ liệu sẽ được lưu lại tự động trong Data Log khi nhấn nút READ hoặc tự động ghi lại sau một chu kỳ theo cài đặt trên máy ở phần Setup Measurement. Khi chọn chế độ đọc Continuous, dữ liệu sẽ chỉ lưu lại khi nhấn nút GREEN/RIGHT dưới nút STORE.



14. Lấy điện cực LBOD ra khỏi chai và đậy miệng chai bằng nút chặn thủy tinh một cách cẩn thận để tránh bọt khí sinh ra. Để thêm lượng nước pha loãng lên từng miệng chai BOD để đảm bảo kín miệng chai bằng nước. Sau đó bịt kín đầu chai bằng nắp đậy bằng nhựa

Lặp lại bước 9-14 cho từng chai BOD.



15. Sau 5 ngày, đo lượng oxy hòa tan còn lại trong từng chai.

Ít nhất phải bị hao hụt 1.0 mg/L DO ở mỗi chai ngoại trừ chai blank.



16. Tính giá trị BOD (xem phần Tính BOD-phương pháp chuẩn hoặc Tính BOD-phương pháp đồ thị)

Hiệu chuẩn

Hiệu chuẩn bằng không khí bão hòa hơi nước

1. Đổ nước vào đầy $\frac{3}{4}$ chai BOD (225mL). Nếu cần hiệu chuẩn điểm 0%, tham khảo phần Điều chỉnh Sulfite.
2. Đậy nút chai BOD và lắc mạnh trong khoảng 1 phút để bão hòa không khí trong chai với nước.
3. Lấy nút chai ra. Đặt điện cực LBOD vào chai BOD trong vài phút để cân bằng. Kiểm tra bề mặt cảm biến của điện cực có khô hay không. Nếu bề mặt cảm biến bị ướt, lau khô cẩn thận bằng vải không bị xơ, tránh làm trầy lớp cảm quang màu đen.
4. Để máy ở chế độ đọc. Nhấn CALIBRATION

Chú ý: Đối với máy đo HQ40d sử dụng được cùng lúc 2 điện cực, cần chuyển màn hình về chế độ đọc 1 điện cực (single measurement) LDO101.

5. Nhấn READ. Khi phép đo ổn định, giá trị hiệu chuẩn sẽ được hiện trên màn hình. Giá trị chuẩn sẽ được tô sáng
6. Nhấn DONE để xem tóm tắt kết quả hiệu chuẩn. Giá trị hệ số góc được so sánh giữa lần hiệu chuẩn sau cùng với hiệu chuẩn bởi nhà sản xuất theo đơn vị %.

Chú ý: Nếu hệ số góc không đáp ứng tiêu chuẩn chấp nhận, màn hình sẽ hiện ra dòng “Slope out of range”. Để yên điện cực trong không khí bão hòa hơi nước trong vài phút. Khi điện cực đạt ngưỡng cân bằng, nhấn READ.

7. Nhấn STORE để chấp nhận giá trị hiệu chuẩn và quay lại màn hình đọc. Kết quả hiệu chuẩn được lưu lại trong Data Log

Chú ý: Việc hiệu chuẩn thành công sẽ xuất hiện “OK” trên màn hình đọc.

Điều chỉnh Sulfite

1. Đổ nước khử ion vào đầy chai BOD
2. Cho 300mg Natri sulfite (Na_2SO_3) vào trong chai
3. Cho một lượng nhỏ tinh thể Coban Clorua (CoCl_2)
4. Đậy nút chặn chai BOD và đảo chai nhiều lần để xáo trộn hóa chất
5. Đặt điện cực vào chai và nhấn nút kích hoạt cánh khuấy. Việc khuấy giúp đẩy nhanh tốc độ hiệu chuẩn. Khi máy đạt đến giá trị đọc ổn định, nhấn nút hiệu chuẩn trên máy.
6. Sau khi dòng báo 0% bão hòa hiện ra, nhấn nút STORE. Sau khi sử dụng sulfite, cần phải làm sạch điện cực hoàn toàn.
7. Để đảm bảo sulfite không còn trên đầu điện cực, đặt điện cực vào chai BOD đã đổ đầy nước, bật cánh khuấy và để chạy 10 phút để loại bỏ lượng sulfite có thể bám trên điện cực.

Chuẩn bị nước dùng pha loãng

Nước pha loãng phải được chuẩn bị rất cẩn thận để đảm bảo không được có nguồn cần nhu cầu oxy hoặc chất độc hại hiện diện. Nước được sử dụng phải đạt chất lượng cao. Nước không được chứa chất hữu cơ hoặc bất kì hợp chất độc hại nào như là clorin, đồng và thủy ngân.

Tuân thủ các hướng dẫn sau để tạo nước pha loãng có chất lượng cao:

- Sử dụng nước chưng cất từ alkaline permanganate (viên NaOH và KMnO₄) để kết quả tốt nhất
- Không dùng trực tiếp nước khử ion từ cột trao đổi ion. Nhựa trao đổi ion (đặc biệt với cartridge mới) sẽ thường thải ra vật liệu hữu cơ có nhu cầu oxy. Ngoài ra, sinh vật có thể phát triển trong cột lọc và làm nhiễm bẩn nước pha loãng
- Bảo quản nước pha loãng trong bình sạch ở trong tủ ủ nhiệt độ 20°C. Lắc bình để bão hòa nước với không khí hoặc nắp bình để lỏng và lưu trong 24 giờ hoặc lâu hơn.
- Sử dụng bơm hồ cá nhỏ hoặc máy nén khí để làm nước bão hòa không khí. Đảm bảo khí được thanh lọc và bộ lọc không có sinh vật phát triển
- Cho chất dinh dưỡng và chất môi (nếu cần thiết) vào nước chưng cất ngay trước khi thực hiện test
- Nồng độ oxy hòa tan trong nước pha loãng phải không thay đổi quá 0.2 mg/L khi được ủ 5 ngày ở 20°C.

Các bước thực hiện:

- Chuẩn bị và bảo quản nước chưng cất ở 20°C (xem hướng dẫn ở trên)
- Chọn gói đệm chất dinh dưỡng BOD tra từ bảng thông tin Gói đệm chất dinh dưỡng BOD
- Lắc gói đệm để xáo trộn hoàn toàn
- Đổ gói đệm vào trong nước chưng cất. Đậy nắp bình chứa và lắc mạnh trong 1 phút để hòa tan chất dinh dưỡng và làm bão hòa nước với không khí
- Nếu mẫu được xác định có lượng sinh vật thấp, ví dụ nước thải công nghiệp hoặc nước bùn cống đã được khử trùng thì cho 3mL chất môi vào mỗi lít nước pha loãng. Sử dụng nước bùn cống nguyên thủy để làm chất môi. Để cho nước bùn cống yên không xáo trộn ở 20°C trong 24 đến 36 giờ trước khi sử dụng. Pipet từ phần trên của nước bùn cống. Đảm bảo thực hiện đo BOD của chất môi (seed control) để trừ ra trong kết quả tính BOD của mẫu phân tích.

Bảng 1 Thông tin gói đệm chất dinh dưỡng BOD

Thể tích nước pha loãng cần chuẩn bị	Mã hàng gói chất đệm
300 mL (1 gói vào mỗi chai BOD)	1416066
3 liters	1486166
4 liters	2436466
6 liters	1486266
19 liters	1486398

Chú ý: Để chuẩn bị nước pha loãng theo phương pháp truyền thống, pipet 1mL dung dịch sau đây vào 1 lít nước chưng cất ở 20°C: dung dịch Calcium Chloride, Ferric Chloride, Magnesium Sulfate và Phosphate Buffer. Đậy nắp chai và lắc mạnh trong 1 phút. Dung dịch đệm Photphat phải được để lạnh để giảm tốc độ phát triển vi sinh. Sử dụng các dung dịch cẩn thận để tránh bị nhiễm bẩn.

Chọn thể tích mẫu

Ước đoán thể tích mẫu là cần thiết để thực hiện test. Ít nhất 2.0 mg/L DO phải bị tiêu hao trong quá trình ủ và ít nhất giá trị DO còn lại trong chai BOD là 1.0 mg/L DO

Các mẫu như nước thải từ hệ thống cống xả, BOD sẽ cao nên thể tích mẫu dùng để pha loãng sẽ thấp vì mẫu sẽ tiêu thụ oxy cao. Trái lại, nếu mẫu có lượng BOD thấp thì thể tích mẫu dùng pha loãng phải lớn để đảm bảo đủ oxy được tiêu thụ để cho kết quả chính xác.

Độ cao của phòng thí nghiệm so với mực nước biển cũng ảnh hưởng đến khối lượng oxy có thể hòa tan vào nước (Tham khảo Giá trị oxy theo độ cao khác nhau ở 20°C). Ở độ cao cao hơn, lượng oxy có thể hòa tan vào nước sẽ giảm, do đó ít oxy có sẵn cho vi sinh vật sử dụng.

Thực hiện theo các bước sau:

1. Tham khảo bảng tra Thể tích nhỏ nhất của mẫu để chọn thể tích phù hợp. 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.
2. Tham khảo bảng tra Thể tích lớn nhất của mẫu để chọn thể tích phù hợp. Ở độ cao 1000 feet (304.8m), dự đoán là 300 mg/L BOD thì thể tích tối đa cho phép là 8mL. Đối với BOD dự đoán là 40 mg/L thì thể tích tối đa là 60 mL (cũng ở độ cao 1000 feet).
3. Chọn thêm 3 thể tích khác nhau nằm trong khoảng giữa thể tích tối thiểu và tối đa để có tổng cộng 5 mức pha loãng mẫu.

Bảng 2 Xác định thể tích mẫu nhỏ nhất

Sample type	Estimated BOD (mg/L)	Minimum sample volume (mL)
Strong trade waste	600	1
Raw and settled sewage	300	2
	200	3
	150	4
	120	5
	100	6
	75	8
	60	10
Oxidized effluents	50	12
	40	15
	30	20
	20	30
	10	60
Polluted river waters	6	100
	4	200
	2	300

Bảng 3 Xác định thể tích mẫu lớn nhất

BOD at sea level	BOD at 1000 ft	BOD at 5000 ft	Maximum sample volume (mL)
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 oxy ở độ cao khác nhau (20°C)

Altitude (ft)	Oxygen value (mg/L) in water saturated with air
Sea level	9.2
1000	8.9
2000	8.6
3000	8.2
4000	7.9
5000	7.6
6000	7.4

Tính toán giá trị BOD – theo Standard Methods

Sử dụng Standard Methods để tính toán khi kết quả cần báo cáo cho cơ quan quản lý theo luật định.

Khi nước pha loãng không cần châm chất môi:

$$BOD_5, \text{ mg/L} = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

Khi nước pha loãng có châm chất môi:

$$BOD_5, \text{ mg/L} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)f}{P}$$

Trong đó:

BOD₅ = giá trị BOD sau 5 ngày test

D1 = DO của mẫu pha loãng tức thì sau khi chuẩn bị, mg/L

D2 = DO của mẫu pha loãng sau 5 ngày ủ ở 20°C, mg/L

Nhu cầu oxy sinh hóa

P = tỉ lệ thể tích mẫu sử dụng với thể tích chai BOD (300mL)

B1= DO của chai seed control trước khi ủ, mg/L

B2 = DO của chai seed control sau khi ủ, mg/L

f = tỉ lệ của chất môi trong mẫu được pha loãng với chất môi trong seed control = (% chất môi trong mẫu pha loãng)/(% chất môi trong chai seed control)

Nếu chất môi được bổ sung trực tiếp vào mẫu hoặc chai seed control:

$f = (\text{thể tích của chất môi trong mẫu pha loãng})/(\text{thể tích chất môi trong chai seed control})$

Báo cáo kết quả là CBOD nếu có sử dụng chất ức chế quá trình nitrat hóa

Các kết quả tính trung bình có thể được chấp nhận nếu có hơn 1 mẫu pha loãng đáp ứng tất cả yêu cầu:

- o Lượng DO còn lại ít nhất 1mg/L
- o Giá trị DO sau cùng ít nhất 2 mg/L thấp hơn giá trị DO ban đầu
- o Không có dấu hiệu của gây độc ở các nồng độ mẫu cao hơn
- o Không thấy có dấu hiệu bất thường

Tính toán giá trị BOD – theo phương pháp đồ thị

Chú ý quan trọng: Phương pháp đồ thị không được sử dụng để báo cáo cho cơ quan quản lý theo luật định

1. Vẽ các điểm nồng độ mg/L DO còn lại trong mỗi mẫu pha loãng theo thể tích (mL) mẫu test. Vẽ đường thẳng đi qua các điểm tốt nhất. Tham khảo Lượng DO trên mỗi mL mẫu

Chú ý: Điểm nào sai lệch có thể nhìn thấy rõ trên đồ thị có thể loại bỏ. Tuy nhiên phải có ít nhất 3 điểm đạt để tạo thành đường thẳng hoặc tiệm cận nhất. Đối với nước pha loãng không dùng chất môi, đường thẳng đi qua các điểm có thể đi qua điểm mg/L DO còn lại gần hoặc thấp hơn giá trị oxy bão hòa theo độ cao của phòng thí nghiệm như đã đề cập trong phần Chuẩn bị nước dùng pha loãng.

2. Để tính BOD, sử dụng công thức sau đây tương đương với công thức tính BOD theo Standard Methods

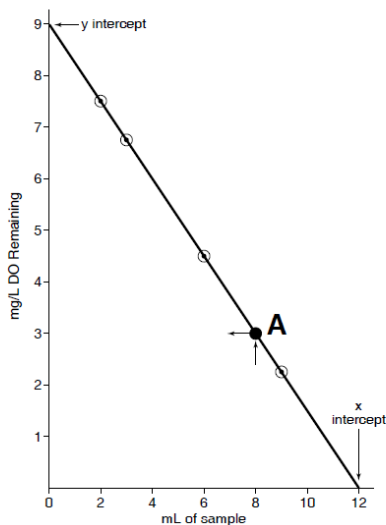
$$\text{mg/L BOD} = (A \times 300) - B + C$$

Trong đó:

A = Slope, độ dốc của đường thẳng bằng với lượng mg/L DO tiêu thụ trên mỗi mL mẫu.

B = Y intercept, giá trị cắt tại trục tung (y), giá trị này phải gần giá trị thực mẫu trắng của nước pha loãng

C = DO mẫu không bị pha loãng



Hình 1 Oxy hòa tan trên mỗi mL mẫu

Biểu diễn công thức theo cách khác:
 (slope x 300) – Y intercept + sample DO = mg/L BOD

Chú ý: Đường thẳng tốt nhất theo hồi quy tuyến tính được tính bằng máy tính, dấu cộng hay trừ của hệ số góc (slope) phải thay đổi trước khi nhân cho 300.

Ví dụ:

Nồng độ mg/L DO còn lại được xác định cho 4 mẫu nước thải sinh hoạt theo 4 mức pha loãng, sau khi ủ 5 ngày kết quả đọc là:

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

Các giá trị DO được vẽ trên đồ thị tương ứng với mL mẫu thực hiện và đường thẳng đi qua các điểm theo hình **Oxy hòa tan trên mỗi mL mẫu**. Nếu một đợt pha loãng BOD chạy đúng với mẫu được đồng nhất, đồ thị của mg/L DO với thể tích mẫu sẽ là đường thẳng. Giá trị nằm trên đường thẳng cắt trục Y là lượng DO của nước pha loãng sau khi ủ mặc dù giá trị này thực tế không đo. Trong trường hợp này, giá trị là 9.0 mg/L và DO của mẫu nước thải sinh hoạt được cho là bằng 0. Nếu có loại mẫu khác được sử dụng, DO của mẫu chưa pha loãng phải được xác định bằng phương pháp chuẩn độ Winkler hoặc phương pháp điện hóa.

Tổ chức sức khỏe cộng đồng Hoa Kỳ đưa ra công thức để tính BOD như sau (không được chứng nhận dùng trong báo cáo)

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

Trong đó:

mg/L DO còn lại trong mẫu có thể tích nhỏ hơn = 7.50 (mg/L DO remaining with smaller sample volume = 7.50)

mg/L DO còn lại trong mẫu có thể tích lớn hơn = 2.25 (mg/L DO remaining with larger sample volume = 2.25)

mL thể tích mẫu lớn hơn = 9.0 (mL of larger sample volume = 9.0)

mL thể tích mẫu nhỏ hơn = 2.0 (mL of smaller sample volume = 2.0)

300 = thể tích (mL) của chai BOD

DO_D = mg/L DO của nước pha loãng = 9.0

S = mg/L DO của mẫu = được cho bằng 0 trong trường hợp này

Do đó:

$$\frac{7.50 - 2.25}{9.0 - 2.0} \times 300 - 9 + 0 = \text{mg/L BOD} = 216 \text{ mg/L BOD}$$

Sử dụng công thức bên dưới:

(slope x 300) – Y intercept + sample DO = mg/L BOD

Nhu cầu oxy sinh hóa

Để xác định hệ số góc, chọn 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 chia cho 8 mL = 0.75 mg/L /mL.

slope = (9mg/L – 3 mg/L)/8 mL = 0.75 mg/L/mL

Y intercept = 9.0 mg/L

Sample DO = 0, vì là mẫu nước thải sinh hoạt nên được cho bằng 0

Do đó:

$(0.75 \times 300) - 9.0 + 0 = \text{mg/L BOD} = 216 \text{ mg/L BOD}$

Chất gây nhiễu

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.

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:

- 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.
- Cho 3 giọt chất chỉ thị tinh bột (Starch Indicator Solution) và khuấy đều.
- 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.
- Tính lượng Sodium Thiosulfate, 0.025N cho vào mẫu:

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

- Cho lượng dung dịch chuẩn Sodium Thiosulfate, 0.025 N cần thiết vào mẫu. Khuấy đều. Chờ 10 đến 20 phút trước khi bắt đầu test BOD.

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:

- 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.
- Sau khi để cặn lắng trong 1 giờ, hút ra 3 phần nước phía trên và đổ bỏ.
- Đổ vào bình chứa theo tỉ lệ 90% nước thải sinh hoạt và 10% chất thải có chứa chất độc hại.
- Sục khí trong 24 giờ. Lặp lại bước b và c nhưng tăng dần lượng chất thải cho đến khi bình chứa hoàn toàn 100% chất thải có thành phần độc hại.

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.

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.

Kiểm tra độ chuẩn xác

Phương pháp dung dịch chuẩn

Chuẩn bị cho kiểm tra độ chuẩn xác:

- Ống chứa dung dịch chuẩn BOD, Voluette® Ampule, 300-mg/L, 10-mL (300-mg/L glucose và 300-mg/L glutamic acid)
- Nước pha loãng đã được châm môi

- 4 chai BOD
- Pipet định thể tích 1.0–4.0 mL Class A
- TenSette Pipet

1. Làm gãy đầu ống chứa dung dịch chuẩn BOD
2. Sử dụng pipet lấy 1.00, 2.00, 3.00 và 4.00 mL dung dịch chuẩn cho vào 4 chai BOD.
3. Đổ đầy các chai BOD với nước pha loãng có chất môi và xác định nồng độ DO
4. Ủ các chai ở 20°C trong 5 ngày.
5. Xác định DO còn lại trong mỗi chai
5. Tính giá trị BOD (tham khảo phương pháp tính theo Standard Methods hoặc phương pháp đồ thị)
6. Chia giá trị cho 2. Kết quả so sánh với Standard Methods phải trong khoảng 198 (± 30.5) mg/L.

Chú ý: Kết quả phải chia cho 2 để tương ứng với các giá trị được báo cáo trong Standard Methods vì quy trình trong Standard Methods chỉ sử dụng 150mg/L glucose và glutamic acid mỗi loại.

Kiểm tra độ chuẩn xác

Các thông tin sau đây là thực đối với phép đo có oxy hòa tan dưới 10 mg/L DO và nhiệt độ được giữ trong khoảng 10 và 30 °C đối với một đầu đo.

Thiết bị	Chất chuẩn	Độ chính xác 95% giới hạn tin cậy của phân phối
LBOD101	7.94–8.06 mg/L DO	7.97–8.03 mg/L DO

Tóm tắt phương pháp

Nhu cầu oxy sinh hóa (BOD) là phép đo nhu cầu oxy của nước thải đô thị và công nghiệp và nước từ hệ thống cống thoát đô thị. Kết quả thí nghiệm được sử dụng để tính toán sự ảnh hưởng của dòng xả 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 lập một cách chính xác trong phòng thí nghiệm. Thí nghiệm BOD có giá trị lớn nhất sau khi phần oxy bị tiêu thụ bởi dòng thải đầu chuyên 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 đã 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.

Thành phần thay thế và tiêu hao

Thuốc thử cần thiết

Description	Quantity/Test	Unit	Catalog number
BOD Nutrient Buffer Pillows, for 3 liters of dilution water	1 pillow	50/pkg	1486166

Dụng cụ cần thiết

Nhu cầu oxy sinh hóa

Description	Quantity/Test	Unit	Catalog number
BOD Bottle, glass-stoppered, 300-mL	6	each	62100
BOD Bottle Cap	6	6/pkg	241906
Bottle, wash, 500-mL	1	each	62011
Clippers, large	1	each	96800
HQ40d meter	1	each	HQ40d
OR			
HQ30d meter	1	each	HQ30d
IntelliCAL LBOD probe	1	each	LBOD10101
Pipet, seriological:			
Pipet, seriological, 1-mL	1	each	919002
Pipet, seriological, 5-mL	1	each	53237
Pipet, seriological, 10-mL	1	each	53238
Pipet Filler	1	each	1218900

Dung dịch chuẩn khuyến khích sử dụng

Description	Unit	Catalog number
BOD Standard Solution, Voluette® Ampule, 300-mg/L, 10-mL	16/pkg	1486510

Thuốc thử và dụng cụ tùy chọn

Description	Unit	Catalog number
BOD Nutrient Buffer Pillows		
for 300 mL of dilution water	50/pkg	1486166
for 4 liters of dilution water	50/pkg	2436466
for 6 liters of dilution water	50/pkg	1486266
for 19 liters of dilution water	25/pkg	1486398
Buffer Solution, APHA, for BOD, pH 7.2, phosphate type	1 L	43153
Calcium Chloride Solution, APHA, for BOD	1 L	42853
Ferric Chloride Solution, APHA, for BOD	1 L	42953
Magnesium Sulfate Solution, APHA, for BOD	1 L	43053
Nitrification Inhibitor	35 g	253335
Dispenser Cap, for Nitrification Inhibitor	each	45901
Potassium Iodide Solution, 100-g/L	500 mL	1228949
Sodium Hydroxide, pellets, ACS	500 g	18734
Sodium Hydroxide Standard Solution, 1.000 N	100 mL MDB	104532
Sodium Thiosulfate Standard Solution, 0.025 N	1 L	35253
Starch Indicator Solution	100 mL MDB	34932
Sulfuric Acid Standard Solution, 0.020 N	1 L	20353
Sulfuric Acid Standard Solution, 1.000 N	1 L	127053
Up-Grade Kit, HQd Accessories, LBOD Probe	each	LBOD10130
Replacement LBOD Sensor cap, with I-button	each	5838000
Replacement Stirrer assembly	5/pkg	5850800
Field Kit, includes: protective glove, 2 standard probe holders and 5 120-mL sample cups	each	5825800
Keyboard (HQ40d meter only)	each	LZV582
Citizen PD-24 USB Handy printer, 115 VAC	each	5835800
Color Coded Probe Clips (5 color coded sets), 5 sets	10/pkg	5818400