

《原位微生物膜法生化需氧量在线监测
仪技术要求(征求意见稿)》
编制说明

《原位微生物膜法生化需氧量在线监测仪技术要求》编制组

2020年9月

项目名称：2020 年中国环境科学学会标准（第一批）

承担单位：中国环境科学研究院

项目联系人：陈昱 010-62269157

编制组负责人：徐建 010-84916028

编制组联系人：吴琳琳 010-84916028

目 录

1	项目背景	4
1.1	任务来源	4
1.2	工作过程	4
2	标准制定的必要性分析	5
2.1	生化需氧量（BOD）环境影响	5
2.2	相关标准和环保工作的需要	5
3	国内外相关分析方法研究	7
4	标准制定的基本原则和技术路线	9
4.1	标准制定的基本原则	9
4.2	标准制定的技术路线	10
5	方法研究报告	10
5.1	标准编制原则	10
5.2	标准的主要内容及论据	11
5.3	仪器性能	16
6	标准实施建议	23

1 项目背景

1.1 任务来源

本标准根据中国环境科学研究院国家科技重大专项课题“流域水生态环境监测技术集成研究”（课题编号：2017ZX07302-001）进行制定。主要起草单位：中国环境科学研究院、中国科学院长春应用化学研究所、中国环境监测总站、吉林市光大分析技术有限责任公司。

计划应完成时间：2020年。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制组

为了保证标准的适用性、实用性和可操作性，2017年12月组建了以生产、科研与用户为一体的标准起草小组。

主要参加单位：中国环境科学研究院、中国科学院长春应用化学研究所、中国环境监测总站、吉林市光大分析技术有限责任公司。

起草工作小组成员的职责分工和所做的工作范围：徐建任起草小组组长，主持全面指挥与组织协调工作；刘长宇为本标准主要执笔人，负责本标准的起草和编写；刘长宇、金小伟、承学东负责进行现场的情况调研、关键技术的试验研究与技术论证工作；吴琳琳负责进行资料信息收集及反馈意见和建议的归纳整理工作。

1.2.2 准备阶段

2018年初，在《原位微生物膜法生化需氧量在线监测仪技术要求》起草初期，查阅了国内外的相关标准（包括行业标准和企业标准），结合现有水质生化需氧量在线监测仪的实际情况，对仪表各项功能和技术指标进行了分析，并在企业及行业内广泛征求意见，包括市场调查、研发、生产、质量检验和用户等。

1.2.3 起草阶段

- a) 对标准中涉及的关键技术要素，进行了专题理论与专项技术论证工作。
- b) 在标准起草过程中，对关键技术进行针对性研究，以保证标准起草编制的适用性、实用性和可操作性。
- c) 在规范国产水质生化需氧量在线监测仪的产品质量和科技创新方面进行了专

项实验研究与产品开发实践工作。

d) 2018 年 12 月完成了《原位微生物膜法生化需氧量在线监测仪技术要求》初稿工作。

2 标准制定的必要性分析

2.1 生化需氧量 (BOD) 环境影响

环境污染是我国经济发展的一个突出问题，是制约我国经济发展，人民生活水平提高的一个主要因素。近年来，我国爆发了多起水环境污染事件，给水域周边市县的生产和生活带来了极大的破坏。水环境的治理已经成为我国新一届政府的重要工作内容。水环境的治理离不开有效的监测，因此，环境检测新技术、新方法已经成为我国科学与技术，研发与产业等各个部门，各个环节关注的焦点。一般来说，水质常规五参数（包括温度、浊度、pH、电导率和溶解氧）、氨氮、总磷、总氮、化学需氧量（COD）等参数的在线监测技术相对成熟，国内外有相当数量的相关企业有各种不同的实验室用或在线用相关产品。但对于 BOD 这类生物学参数，国际上一直没有成熟的在线监测技术。

BOD 是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，它直接反应了水体的受污染程度及对周边生态的影响。

2.2 相关标准和环保工作的需要

标准 HJ/T 505-2009 《水质 五日生化需氧量 (BOD₅) 的测定 稀释与接种法》的基本原理为：水样充满完全密闭的溶解氧瓶中，在 20 ± 1 °C 的暗处培养 $5 \text{ d} \pm 4 \text{ h}$ 或 $(2+5) \text{ d} \pm 4 \text{ h}$ （先在 $0-4$ °C 的暗处培养 2d，接着在 20 ± 1 °C 的暗处培养 5 d，即培养 $(2+5) \text{ d}$ ），分别测定培养前后水样中溶解氧的质量浓度，由培养前后的溶解氧质量浓度之差，计算每升样品消耗的溶解氧量，以 BOD₅ 形式表示。水样中的环境微生物在五日培养过程中生化降解水样中耗氧污染物，然而生物降解速率受培养温度、环境微生物数量等因素限制，导致化验周期长，时效性差。标准中同时规定：“当废水中存在难以被一般生活污水中的微生物以正常的速度降解的有机物或含有剧毒物质时，应将驯化后的微生物引入水样中进行接种”，此项规定的主要目的在于考虑到接种微生物对于水样中可生物降解物质的有效生物降解，即接种微生物的对水样的适应性。

但在实际化验中，操作者极难判断待测水样是否存在难以被一般生活污水中的微生物降解，更难以判断所谓的正常的生物降解速度以及是否还有抑制或刺激生物降解的其他物质，微生物的驯化更是复杂不可控制性影响因素。

标准 HJ/T 86-2002 《水质 生化需氧量（BOD）的测定 微生物传感器快速测定法》基本原理为：微生物传感器是由氧电极和微生物菌膜构成，其原理是当含有饱和溶解氧的样品进入流通池中与微生物传感器接触，样品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，而消耗一定量的氧，使扩散到氧电极表面上的氧的质量减少。当样品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的氧的质量也达到恒定，因此产生一个恒定电流。由于恒定电流的差值与氧的减少量存在定量关系，据此可换算出样品生化需氧量。标准中规定：微生物菌膜是“将丝胞酵母在保持其生理机能的状态下封入膜中”形成固定化微生物膜。微生物传感器是“将微生物菌膜紧贴于氧电极表面，用于检测微生物在降解有机物引起的氧浓度的变化”。实际应用中，固定的丝胞酵母在与水样接触后，水样中的固有菌种会侵入菌膜，形成混合体，固定的丝胞酵母也存在活性丧失，分裂导致的数量增加等不可控因素。采用丝胞酵母菌测量水样中可生物降解物质的耗氧量与国标方法中规定的选用水样中的环境微生物或驯化的微生物菌种为接种液相矛盾，无法保证测量准确度。菌膜固定在氧电极表面形成共体，氧电极的维护直接导致菌膜损坏。与水样长期接触，固定丝胞酵母的包埋材料孔径极易堵塞导致水样与菌种接触效率、溶解氧通透性降低进而影响测量准确度。另外，所固定的微生物菌种皮状丝胞酵母仅可生物降解有机物，对于水样中某些可耗氧的还原性物质无法达到检测的目的，与国标 BOD 的定义相违背。

标准 HJ/T 505-2009 无法实现水质自动监测，且耗时长，标准 HJ/T 86-2002 也无法实现水质自动监测，且测量数据偏差较大。因此，建立水质 BOD 自动监测技术规范对于当前中国水环境监测与考核评价体系至关重要。

目前，在地表水水质有机物耗氧量监测中，通常仅以在线高锰酸盐指数(COD_{Mn})作为评价依据。首先，这取决于 COD_{Mn} 方法自身的一些优势，如，化验时间明显短于 BOD₅，而更多的原因是因为目前国际上仍没有成熟的在线 BOD 监测方法及仪器，然而，COD_{Mn} 方法带来的环境污染问题日益凸显。另一方面，以氧化剂高锰酸钾在强酸或强碱条件下氧化水中有机物反映出来的耗氧量并不客观，因为自然界地表水中

任何时候都不会存在如此高浓度的强氧化剂及反应所需的强酸强碱环境。**BOD** 是指微生物降解水中可生物降解有机物时所消耗的溶解氧的量。一旦地表水受到污染,可生物降解有机物含量升高,地表水中自身含有的庞大微生物菌群的耗氧量就会随之升高,从而导致水质溶解氧含量急剧降低,带来一系列的环境及生态问题。由此可见,生物学指标 **BOD** 相对于化学指标 COD_{Mn} 更具有监测意义;同样在污水处理厂出水的众多指标中,**BOD** 监测是最为矛盾的一项,按规定,出水 **BOD** 含量只有降低到一定范围内才允许排放,而传统 BOD_5 方法需要等待 5 日才能获得化验结果,很明显,滞后的信息反馈已经严重限制了国标法监测本身的意义。相反,在线 **BOD** 监测可以实时反应进水、出水水质有机物耗氧量,分析监测数据可以有效、及时地指导污水处理厂改进生化反应过程及净水工艺并跟踪污水团来源,避免了因超标排放而对环境造成二次污染的风险。

3 国内外相关分析方法研究

国内外测定 **BOD** 的标准方法大多沿用美国 1936 年公布的方法,称 BOD_5 法。这种传统的 BOD_5 测定法存在着严重的缺陷:需在 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温条件下培养 5 天,工作量大,操作繁琐,受干扰因素多,重复性差、有较大误差,要求相当高的专门训练,且不能及时反映水质变化情况。而在线 **BOD** 监测的最主要意义在于连续监测水环境中可生物降解有机物的耗氧量,并及时做出预警。

为了达到及时监测水质污染程度的目的,多年来科研工作者一直在寻求快速测定 **BOD** 的方法,其中大部分研究是采用微生物膜传感器方法。这种方法一般采用化学或物理方法将实验室内纯培养的微生物包埋制成微生物膜,将微生物膜紧贴于氧传感器表面。当样品流经微生物膜传感器时,微生物膜中的微生物遇到水样中的有机物时呼吸作用增强,使得到达氧传感器表面的氧浓度降低。通过计算氧传感器表面溶解氧含量的降低程度来定量样品 **BOD** 浓度。这种方法实现了水样 **BOD** 的快速检测,但也存在一系列的科学与实际问题。首先,所采用的微生物大多为实验室内人为选择的单一菌种,因其种类及数量的限制,导致其在测试过程中对有机物及氧气的消耗量微乎其微。实验数据表明,此方法对有机物的综合降解效率远远小于 1%,也就是说,水样在流过微生物膜传感器后,其溶解氧和有机物浓度未发生改变,而 **BOD** 的结果计算仅仅是依靠微生物膜传感器表面的微量的氧浓度变化得来的;其次,所包埋的微生物活性受限于包埋材料的孔径、生物相容性等多因素,往往会导致微生物的泄漏、

微生物膜的活性降低及长期稳定性不理想的问题。包埋材料同时会对微生物的摄氧过程造成阻碍，进而限制了有机物的生物降解过程。包埋的微生物膜在使用前还需要数日的活化过程，这在实际应用中造成了很大的不便；再次，微生物膜的环境适应力不理想。在实际水样检测中，水样中难免会有有毒有害离子、络合物，和/或诸多其他种群的微生物，及大量的悬浮物，藻类，泥沙等，有毒有害离子可能导致微生物失活而使 BOD 检测失败，而悬浮物等颗粒物质可能堵塞包埋材料的孔径造成微生物膜传感器的失效。最后，此类微生物膜传感器都需要缓冲介质以维持微生物膜的活性，大多采用廉价的磷酸盐缓冲溶液，废液直排会造成磷的二次污染，而废液回收处理需要额外设备及人力、物力成本。同时，连续提供磷酸盐缓冲溶液，在实际在线应用中，也增加了仪器使用成本。鉴于以上种种问题，虽然所发展的快速 BOD 测定方法在实验室内对特定种类的标样或水样有一定的应用价值，但在连续的实际水样应用中，很多问题接踵而来，导致其失去了原有的应用意义。

除上述微生物膜传感器方法外，还有采用微生物反应器、媒介体方法、微生物燃料电池等方法快速测量 BOD 的。这些方法的科学目的就是要解决微生物数量少、种类单一、对有机物降解效率低及高选择性和环境适应力差等核心问题，进而希望得到与 BOD₅ 更一致的测试结果。这些方法的科学探索虽取得一系列进步，但又带来了一些传感器法未有的新问题。如媒介体方法测定 BOD，具体是将微生物菌群，媒介体溶液及样品在一定温度下恒温培育一段时间，媒介体作为电子受体接受微生物降解样品中有机物过程中产生的电子，通过检测还原态媒介体的浓度以确定样品 BOD 含量。这种方法选择数量庞大的混合微生物菌群，因此在有机物降解种类及数量上较微生物膜传感器方法具有显著提高。然而，媒介体作为电子受体替代氧气，其对微生物菌群的生物活性损害不可忽视。更为重要的是，培育时间直接关系着快速 BOD 的测试结果，使得这一结果的获得更多的依赖人为因素的影响。同时，这种方法无法摆脱微生物菌群的重复培养、清洗、培育及微电极检测等费时费力步骤，难以实现自动、在线监测。

自 1983 年日本首先将 BOD 传感器开发成商品以来，已有不少的商品化仪器问世，如日本的 BOD-3000 系列在线生物耗氧量测定仪，德国 LAR 公司的 BioMonitor BOD 在线生物反应器；在国内，上海雷磁仪器厂生产过生物化学需氧量分析仪，沈阳分析仪器厂生产过 SXI-V 型快速 BOD 测定仪，青岛天林环保公司生产过 BOD 快速测量

仪，以及天津赛普环保科技发展有限公司生产过 BOD-220 系列快速测量仪。国内出品的快速 BOD 测定仪均是借鉴于国外的八、九十年代技术，以微生物膜传感器为基本原理的，且到目前为止，未见有国产的水质自动在线 BOD 仪器在售。虽然国际上已有多款基于不同方法的商品化的实验室用或在线用快速 BOD 检测仪，但其市场普及程度非常低。据中国环境监测总站发布的国家地表水水质自动实时监测网显示，99 个国家级水质自动监测站大多采用进口设备，但毫无例外地都没有快速 BOD 监测仪。据我们调研结果显示，在中国绝大多数的城市污水处理厂中，都没有配备快速 BOD 检测仪。尽管极个别部门有实验室用 BOD 检测仪，其状态也多处于闲置状态。这些事实充分说明快速 BOD 检测仪还没有达到普及的程度，可以说，当前的商品化快速 BOD 检测仪还不能充分满足用户的要求。快速 BOD 检测仪的核心构件即微生物膜单元，与常规仪器不同，微生物膜活性的维持是获得准确可靠 BOD 的前提条件，其生物活性主要体现在长期使用稳定性及保存稳定性上。对于在线快速 BOD 仪器，因连续的 BOD 监测，微生物膜可能出现一系列问题，如微生物膜因水样中的未知因素而失活，传感器流路堵塞或复杂的日常维护导致用户的主动放弃使用等；对于实验室用快速 BOD 检测仪，因 BOD 检测时间的不确定性，如何保证微生物膜在不使用时的稳定性是最大的问题。如，在周末及节假日期间，如何维持微生物膜活性的稳定。另外，如何保证微生物膜对不同种类的样品具有非选择性的生物降解能力是获得准确可靠快速 BOD 的先决条件。此外，如 BIOX-1010 在线 BOD 监测仪，其日均消耗 720 L 纯净水，这对于现场应用来说无疑是一种负担，且其结构、管路等部件非常复杂，对于用户来说，日常维护也是一件艰辛的工作。鉴于以上阐述的种种实际情况，以当前的快速 BOD 的研究现状，快速 BOD 检测仪的低普及率及使用率也便不足为奇。

4 标准制定的基本原则和技术路线

4.1 标准制定的基本原则

本标准依据 HJ 565-2010《环境保护标准编制出版技术指南》和 HJ 168—2010《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》要求，以国内外最新的标准方法和相关文献研究成果为编制基础。同时考虑到国内现有监测机构的技术水平、管理水平、经济条件等实际情况，确保所编制标准能够在全国范围内推广应用。

4.2 标准制定的技术路线

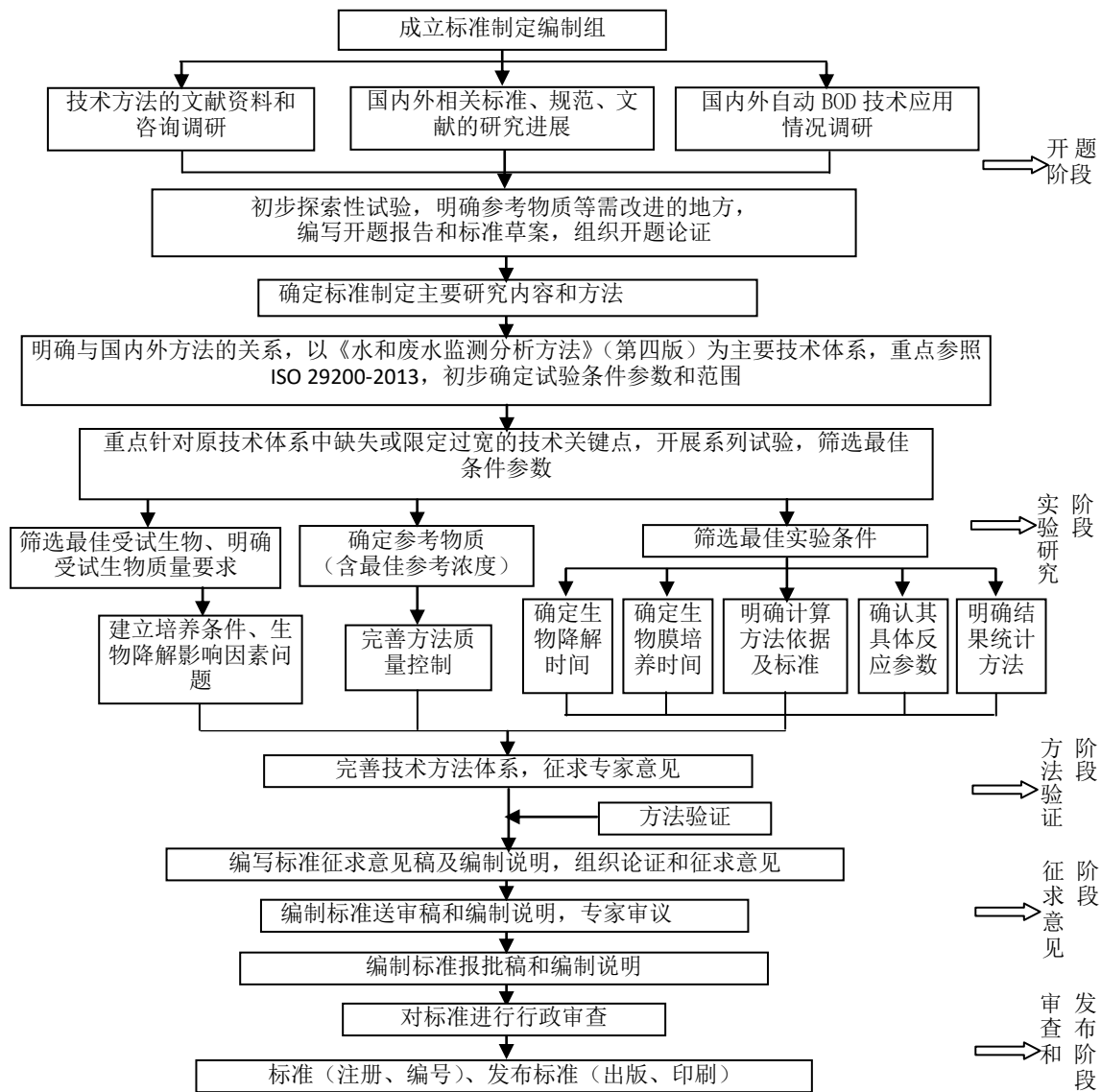


图 1 标准制订技术路线图

5 方法研究报告

5.1 标准编制原则

本标准的编制需符合国家产业政策与发展原则，本着先进性、科学性、合理性和可操作性的编制原则进行本标准的起草制定工作。

本标准在起草过程中，主要依据以下标准进行编制：

ISO 15839-2003 水用 水质在线传感器/分析设备 规范及性能检验

GB 4793.1-2007 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第1部分：通用要求
GB/T 191-2008 包装储运图示标志
GB/T 11606-2007 分析仪器环境试验方法
GB/T 13384-2008 机电产品包装通用技术条件
GB/T 13966-2013 分析仪器术语
GB/T 18268.1-2010 测量、控制和实验室用的电设备电磁兼容性要求
GB/T 34065-2017 分析仪器的安全要求
GB/T 25480-2010 仪器仪表运输、贮存基本环境条件及试验方法
HJ 168-2010 环境监测分析方法标准制修订技术导则
HJ/T 91-2002 地表水和污水监测技术规范
HJ/T 86-2002 水质 生化需氧量（BOD）的测定 微生物传感器快速测定法
HJ/T 505-2009 水质 五日生化需氧量（BOD₅）的测定 稀释与接种法

5.2 标准的主要内容及论据

5.2.1 标准的主要内容及目标

本标准规定了原位微生物膜法生化需氧量（BOD）在线监测仪的技术要求、性能指标及检测方法。本标准适用于地表水及生活污水的原位微生物膜法 BOD 在线监测仪的生产、应用选型和性能检验。参考 HJ/T91-2002 工业废水监测项目及本技术规范所涉及的分析检测原理及微生物膜成膜限制，对于矿山、焦化、无机原料、有机原料、燃料、颜料、油漆、合成洗涤剂、电镀、烧碱等行业产生的高温、强酸性、强碱性等特定种类工业废水，本标准暂不适用。

基本检测范围为 3~20 mg/L，高浓度水样可实现自动稀释测量，拓展检测范围应包含 3~1000 mg/L，以满足地表水、生活污水的监测需求。

主要内容如下：

- 1) 仪器组成：明确仪器的各个组成部分及功能。
- 2) 基本要求：对水质 BOD 在线监测仪的外观、基本功能、测量范围、安全要求、使用环境等不直接体现监测系统使用性能但对使用性能有影响的内容进行规范。
- 3) 性能要求：对水质 BOD 在线监测仪的进样/计量准确性、生物反应方式、分析与控制模块、仪器基本功能等主要技术指标以及绝缘电阻、漏电保护等安全性能进

行规范。

4) 性能指标及检测方法：明确水质 BOD 在线监测仪主要技术指标和安全性能指标的检验方法。

5) 工作条件：规定仪器必须满足的工作电压与频率、温度等条件。

6) 操作说明书：明确规定说明书必须包含的内容。

5.2.2 水质 BOD 在线监测方法的原理

本标准的基本原理为：以待测试样中的环境微生物及污染物为源，以功能化的流通式反应器为载体，借助试样与反应器表面的接触，构建种群庞大、数量丰富、性能稳定的原位微生物膜反应器。以微生物膜反应器生物氧化试样中溶解性耗氧污染物，以待测量试样经微生物膜反应器前后的溶解氧含量差值为计算依据，此生物化学氧化过程所消耗的溶解氧经标准溶液校正后为试样 BOD 含量，与五日生化需氧量相当。本标准原位培养的微生物膜最适应水体自身环境，微生物膜对污染物的生物降解体现了该水体微生物种群的本征生物化学反应过程，共存的不同微生物个体间的协同生物降解机制决定了广谱性生物降解能力，从根本上解决了现有技术因采用定向微生物所导致的测量准确度差的科学问题。基于管状微生物膜反应器研发流通式检测新方法，水样与微生物膜逐层接触并实现生物降解，解决了标准 HJ/T 86-2002 中因微生物增殖及凋亡、微生物种群数量少所导致的稳定性差、生物降解效率低的根本缺陷。同时，原位生长的微生物膜反应器因良好的环境适应力，避免使用了标准 HJ/T 505-2009 和 HJ/T 86-2002 中所必须使用的盐溶液及缓冲液，降低了磷元素对环境的二次污染风险，实现了检测过程试剂零消耗及废液零排放。

基于本标准的水质 BOD 在线监测仪主要技术特点在于：

以水体微生物种群为微生物源原位培养微生物膜反应器。原位培养的微生物膜最适应水体自身环境，微生物膜对污染物的生物降解体现了该水体微生物种群的本征生物化学反应过程，共存的不同微生物个体间的协同生物降解机制决定了广谱性生物降解能力，从根本上解决了现有国家标准方法因采用定向微生物所导致的测量准确度差的科学问题。

现有的国家标准 HJ/T 86-2002 方法，是将实验室培养的已知种类的微生物通过固定化材料成膜，覆盖在溶解氧 (DO) 传感探头表面构成微生物传感器。测量水样 BOD 时，水样中有机物引起固定化微生物呼吸速率增加，导致渗透过微生物膜的 DO 浓度

降低。比较微生物传感器对标样与水样所测得的 DO 变化差值计算水样 BOD。微生物传感器方法在实际应用中的根本性问题是：

(1) 已知种类的微生物（种群）在实际水样测试中，无法保证种群稳定性。这些微生物（种群）在与实际水样接触过程中，其种类组成势必会因与水样自身微生物种群的不断接触而改变，进而导致测量稳定性差。

(2) 已知种类的微生物（种群）对水样中可生物降解污染物的生物降解具有选择性。对于容易降解，或者所采用的微生物含有能够降解该类污染物的生物酶时，DO 消耗多导致测量值高，反之，对于水样中较为复杂的污染物，生物降解能力较差，测量值低。

(3) 已知种类的微生物（种群）在实际水样测试中环境适应力差。这些微生物（种群）有各自最为适应的生物代谢条件，而待测量水样往往因成分复杂，物理化学指标变化较大，水样环境波动导致微生物活性不稳定，进而导致测试准确度差。

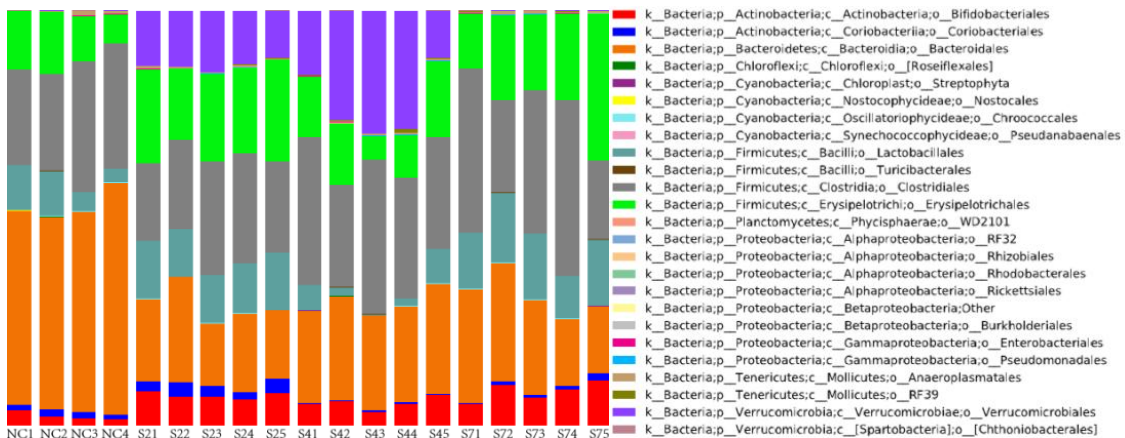


图 2 水样微生物及原位培养微生物膜菌种多样性分析

以水体微生物为微生物源原位培养微生物膜反应器，原位培养的微生物膜反应器种群组成最适应水体自身环境，微生物膜对污染物的生物降解体现了水体微生物种群的本征生物化学反应。举例来说，长期受污染水体中存在大量还原性无机物如氨基氮，及用于分解转化氨基氮为硝基氮的特有菌种硝化细菌，硝化细菌氧化氨基氮过程耗氧，且这一过程是 BOD 监测中重要的组成部分，但现行国家标准方法采用的已知菌种(菌群)普遍没有考虑硝化耗氧过程。通过对水样微生物及原位培养的微生物膜的特定长度的 16S/18S/ITS 目标区域进行高通量测序，以目水平的物种组成为例，获得的微生物菌群结构组成如图 2 所示。其中，NC 组为水样菌群对照组，S2、S4 和 S7 组分别

为培养 2 日、4 日、7 日微生物膜反应器菌种组成。从柱形图中可以明显看出，水样微生物与微生物膜具有相似的菌种结构组成、丰度和多样性，这说明原位培养的微生物膜能够最全面、最真实的模拟自然条件下污染物的分解代谢过程，具有最理想的菌种组成，最高效的生物降解效率及最优势的环境适应力。

以功能化管路内壁为基底，利用水样在管路中的流动实现水样微生物在基底表面的逐层生长，构建出比表面积大、微生物种群及数量丰富的微生物膜反应器。基于管状微生物膜反应器研发流通式检测新方法，水样与微生物膜逐层接触并实现生物降解，解决了现行国家标准方法中因微生物增殖及凋亡、微生物种群数量少所导致的稳定性差、生物降解效率低的根本缺陷。

国标方法中用固定化材料包埋已知种类的微生物在实际水样测试中，水样中污染物及 DO 向微生物膜扩散同时被微生物消耗，水样中剩余 DO 的检测直接取决于参与反应的微生物种群数量及包埋材料的致密性，这在实际应用中存在如下根本问题：

(1) 包埋微生物的网格结构易被水样中颗粒物堵塞，增加扩散阻力进而影响生物降解效率稳定性及 DO 检测的灵敏度。

(2) 微生物种群数量少，生物降解效率低（过高的微生物固载量直接显著增加扩散阻力）。

(3) 微生物自身增殖及凋亡不可控制，微生物数量的变化直接导致稳定性差。



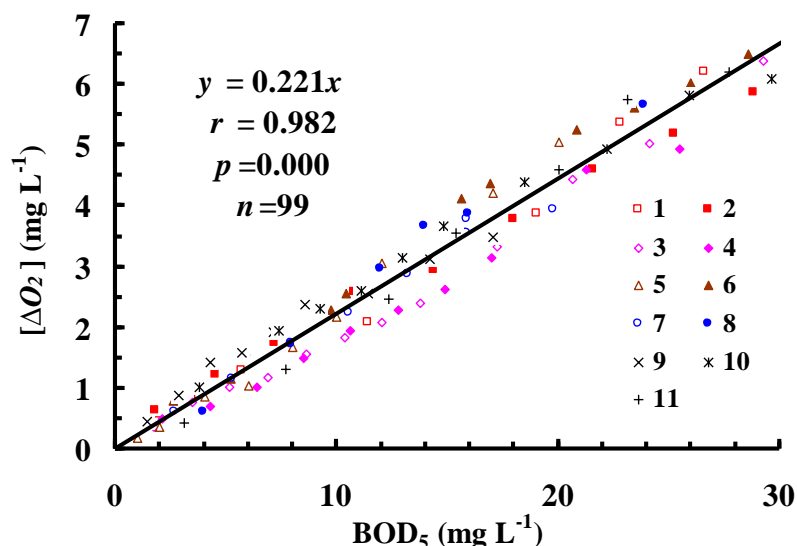
图 3 基底本底及原位培养的微生物膜反应器光学照片对比

本标准以化学修饰预处理管路内壁为基底，利用水样在管路中的流动，环境微生物与表面功能化的基底牢固结合并逐层生长增殖，构建出比表面积大、微生物种群及数量丰富的流通式微生物膜反应器，同时最大程度上保证微生物的自然生长状态（图 3）。相比于采用包埋材料固定微生物的现行国家标准方法的主要优势在于：

(1) 微生物随水样流动在基底表面逐层吸附生长成膜，反应器比表面积决定了

微生物种群数量。根据水样种类及预期的生物降解效率，增加反应器长度即可简单有效的提高微生物数量及生物降解效率。

(2) 测试水样时，水样在微生物膜表面流动，污染物及 DO 向微生物扩散的同时被消耗，生物降解效率相对更为稳定。任何微生物种群都有固定的生命周期，微生物凋亡及增殖在实际应用中不可避免。逐层生长的微生物膜厚度增加而比表面积固定，越底层的微生物因扩散阻力越大，实际参与生化降解的贡献率越低。当生物膜生长平衡时，膜厚度的增加对生物降解效率的影响将微乎其微。同时，流动的水样不断的更新表层微生物种群组成，水力剪切力又可有效的清除水样中颗粒物的附着，并起到微生物膜代谢更新的重要作用。因此，微生物膜的生物降解效率不会因为微生物增殖厚度增加而引起巨大波动。



1.葡萄糖；2.谷氨酸；3.果糖；4.甘油；5.组氨酸；6.天门冬酰胺；7.马来酸；8.琥珀酸；9.柠檬酸；10.葡萄糖谷氨酸（GGA）；11.1-10等BOD混合物。

图4 以多种有机底物考察原位培养微生物膜反应器的生物降解效率

图4表示的是以化学合成的多类有机底物考察微生物膜的生物降解效率。从图中可以看出，模拟水中不同种类的有机物代谢中间体的耗氧量随有机物浓度升高而增强，且呈线性相关分布，其DO消耗量相对于国标法BOD₅达到0.22，这说明微生物膜在不到两分钟的生物氧化过程内实现了水样中22%污染物的生物降解，而现行国标HJ/T 86-2002方法的生物降解效率远远低于1%。

本标准以在线BOD检测方法在实际应用中要遵循简单、快速、低耗及准确为原则，以原位培养的流通式微生物膜反应器为生物降解污染物的核心技术，避免了现场

应用时因使用磷酸盐对环境造成二次污染的实际问题，解决了现有国标标准方法无法实现在线、原位、实时 BOD 检测的根本问题。

在国标 BOD 测试过程中，一般采用磷酸盐缓冲溶液作为空白溶液，一方面用于维持微生物的活性，另一方面，以空白溶液的 DO 含量作为计算测试水样 BOD 时 DO 初始值。在应用现场配制磷酸盐缓冲溶液消耗大量纯净水，更重要的是，高浓度的磷酸盐直接排放极易造成水体富营养化，而废液回收处理又需要较高的运维成本。本项目，原位培养的微生物膜种群源于自然界水体中，具有突出的环境适应力。以 DO 传感探头检测水样的 DO 含量为初始值（相当于国标法 BOD₅ 方法首日值），以 DO 传感探头检测经微生物膜反应器生物降解污染物后的水样 DO 含量（相当于国标法 BOD₅ 方法第 5 日值），依据两者差值定量水样 BOD 含量。仪器开发中，水样同时还作为微生物膜反应器、系统流路及 DO 传感探头的恒温介质，极大地简化了在线监测系统。在连续的应用测试中，微生物膜保持了超过一年的连续运行稳定性。以水样为空白直接降低人工维护工作量及运维成本，是一种绿色、无损的水样在线分析新仪器。

5.3 仪器性能

5.3.1 量程范围

一般情况下，BOD₅ 方法的基本检测范围为 1~6 mg/L，主要原因是受限于氧在水中的溶解度（标准情况下，20℃时，饱和水溶解氧含量为 9.09 mg/L）。更高浓度的试样则需要不同比例的稀释以获得最佳化验结果。然而，稀释会导致环境微生物浓度及试样背景发生改变，因此必要时需接种并补充盐溶液以平衡生物降解微环境。本方法通过加强环境微生物种群数量及提高生物反应温度等技术手段，全面提升了生物降解效率，使得 6~10 分钟内发生的生物降解效率等效于 BOD₅ 化验中 5 日培养的效率，但同时也丧失了方法的基本检测范围。综合生物氧化效率与基本检测范围的考虑，并结合大量测试数据，依据本方法设计的在线监测仪基本检测范围为 3~20 mg/L，该量程基本可满足绝大部分地表水水质 BOD 的监测需求。对于 BOD 浓度较高的生活污水及工业废水，仪器可通过自动稀释功能进行检测。

5.3.2 24 h 低浓度漂移

水质在线监测仪相关技术规范中一般采用零点漂移来评价仪器在测试低含量试样时的稳定性，在水质 BOD 在线监测仪测试中，采用零点漂移存在两个问题。第一，

零点漂移测试样品不像化学需氧量、氨氮等参数一样可采用蒸馏水，蒸馏水不可满足微生物膜对离子环境及渗透压的要求。第二，单纯采用自来水作为零点测试液，仪器测量结果往往大部分为零，少部分为正偏差，对于负偏差的反应不足。综合考虑，规定如下：仪器正常运行期间，测定 BOD 加标浓度值为 3.0 mg/L 的标准溶液，1 h 测试一次，连续测定 24 h。采用该时间内的初期值（最初的 3 次测定值的平均值） Z_0 ，计算 Z_i 与 Z_0 的偏差，取最大偏差为零点漂移的检测结果。计算方式见公式（3）。

$$ZD = Z_i - Z_0 \quad (3)$$

式中：ZD——仪器的零点漂移；

Z_i ——第 i 次测量值，mg/L；

Z_0 ——最初 3 次测定值的平均值，mg/L。

参与验证的三台 BOD 水质自动在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 1 所示：

表 1 24 h 低浓度漂移实验数据表

样品浓度	仪器A	仪器B	仪器C
3.0 mg/L	-0.7 mg/L	0.6 mg/L	0.8 mg/L

综合数据分析结果，本标准提出 24h 低浓度漂移的技术指标为 ± 1 mg/L 以内。

5.3.3 24 h 高浓度漂移

仪器正常运行期间，测定 BOD 浓度值为 16 mg/L 的标准溶液，1 h 测试一次，连续测定 24 h。采用该时间内的初期值（最初的 3 次测定值的平均值） R_0 ，计算 R_i 与 R_0 误差绝对值的平均值相对于检测范围上限值的百分率为量程漂移 RD。计算方法见公式（4）。

$$RD = \frac{\sum_{i=1}^n |R_i - R_0|}{nR} \times 100\% \quad (4)$$

式中：RD——24 h 量程漂移；

R_i ——第 i 次测量值，mg/L；

R_0 ——最初 3 次测量值的平均值，mg/L；

R——检测范围上限值，mg/L；

n——测量次数。

参与验证的三台 BOD 水质自动在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 2 所示：

表 2 24 h 高浓度漂移实验数据表

样品浓度	仪器 A	仪器 B	仪器 C
16 mg/L	5.3 %	- 0.5 %	2.7 %

综合数据分析结果，本标准提出 24h 高浓度漂移的技术指标为±10 %。

5.3.4 重复性

不同浓度的试样仪器重复性往往不同，为全面评价仪器重复性，需考虑多种检测浓度。仪器正常运行期间，分别测定 BOD 浓度值约为 4 mg/L、16 mg/L 的标准溶液，每种标准溶液连续测定 6 次，按公式(5)计算 6 次测定值的相对标准偏差 S_r ，取两次相对标准偏差最大值作为仪器重复性的检测结果。

$$S_r = \frac{\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}{\bar{x}} \times 100\% \quad (5)$$

式中： S_r ——重复性；

\bar{x} ——6 次测量平均值，mg/L；

x_i ——第 i 次测量值，mg/L；

n ——测定次数。

参与验证三台 BOD 水质自动在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 3 所示：

表 3 重复性实验数据表

标样浓度	仪器A	仪器B	仪器C
4 mg/L	5.6 %	3.7 %	-4.3 %
16 mg/L	2.7%	4.8%	-3.3%

综合数据分析结果，本标准提出生化需氧量水质自动在线监测仪重复性为±10%。

5.3.5 实际水样比对试验

鉴于标准所列BOD在线分析仪的基本原理，每台仪器具有各自的微生物生态体系以保证测试准确度，因此，实际水样测试要求仪器正常运行期间，参与比对的仪器每台测试一种实际水样，连续测量*i*次（ $i \geq 5$ ）每次测量值记为 X_i ，采用实验室标准方法 HJ505对该水样分析*n*（ $n \geq 3$ ）次，*n*次测量平均值记为 \bar{B} 。

当 $BOD \geq 10\text{mg/L}$ 时，计算每种水样相对误差绝对值的平均值（ \bar{A} ），计算方法见公式（6），取最大 A 值为实际水样比对试验的值。

$$\bar{A} = \frac{\sum_{i=1}^n |X_i - \bar{B}|}{n\bar{B}} \times 100\% \quad (6)$$

当水样浓度 BOD<10 mg/L 时，计算水样误差绝对值的平均值 (\bar{a})，计算方法见公式 (7)。

$$\bar{a} = \frac{\sum_{i=1}^n |X_i - \bar{B}|}{n} \quad (7)$$

式中： \bar{A} ——水样相对误差绝对值的平均值，mg/L；

\bar{a} ——水样绝对误差绝对值的平均值，mg/L；

X_i ——BOD水质在线在线监测仪测定水样第 i 次的测量值，mg/L；

\bar{B} ——手工方法测定水样的平均值，mg/L；

n——每种水样测试所得数据的总个数；

i——比对试验次数。

参与验证的三台 BOD 水质在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 4 所示：

表 4 实际水样比对实验数据表

水样种类	仪器A	仪器B	仪器C
地表水<10 mg/L	1.8 mg/L	-	-
地表水<10 mg/L	-	-1.1 mg/L	-
地表水<10 mg/L		-0.2 mg/L	
地表水<10 mg/L	-1.1 mg/L		
地表水<10 mg/L		-0.2 mg/L	
地表水<10 mg/L		0.5 mg/L	
地表水<10 mg/L		-0.6 mg/L	
地表水<10 mg/L		0.3 mg/L	
地表水<10 mg/L		-0.4 mg/L	
地表水<10 mg/L		0.5 mg/L	
地表水<10 mg/L		-0.6mg/L	
地表水<10 mg/L	0.6 mg/L		
地表水<10 mg/L	1.6 mg/L		
地表水<10 mg/L	-1.2 mg/L		
地表水<10 mg/L	0.8 mg/L		
地表水<10 mg/L	1.6 mg/L		
地表水<10 mg/L	-1.1 mg/L		
污水≥10mg/L			-12.1%

污水≥10mg/L			3.1%
污水≥10mg/L			-18.0%
污水≥10mg/L			0.7%
污水≥10mg/L			7.9%
污水≥10mg/L			8.7%
污水≥10mg/L	-	-	-13.6%

综合数据分析结果,本标准提出 BOD 水质在线监测仪实际水样对比实验指标为:当水样 BOD 浓度为 $3 \text{ mg/L} \leq \text{BOD} < 10 \text{ mg/L}$ 时,误差应 $\leq \pm 2 \text{ mg/L}$,当水样 BOD 浓度为 $\geq 10 \text{ mg/L}$ 时,误差应 $\leq 20.0\%$ 。

5.3.6 示值误差

示值误差应根据样品浓度分别考虑,浓度越低,误差越大,相对于真值的误差率也就越大。仪器正常运行期间,分别测定 BOD 浓度值为 4 mg/L 、 10 mg/L 、 16 mg/L 的三种标准溶液,每种溶液连续测定 6 次,6 个测定值的平均值相对于真值的相对误差。按公式(8)计算各次示值误差 R_e 。

$$R_e = \frac{\bar{x}-C}{C} \times 100\% \quad (8)$$

式中: R_e ——示值误差;

\bar{x} ——6 次测量平均值, mg/L ;

C ——BOD 标准溶液的浓度值, mg/L 。

参与验证的三台 BOD 水质自动监测仪按照此方法进行检测,检测结果如表 5 所示:

表 5 示值误差实验数据表

浓度	仪器A	仪器B	仪器C
4 mg/L	6.6%	-10.1%	-17.6%
10 mg/L	10.3%	-7.9%	-12.8%
16 mg/L	6.4%	-4.2%	-7.6%

综合各数据分析结果,本标准提出生化需氧量水质在线监测仪示值误差为:20%检测范围上限值标准溶液示值误差 $\pm 20\%$,50%检测范围上限值标准溶液示值误差 $\pm 15\%$,20%检测范围上限值标准溶液示值误差 $\pm 10\%$ 。

5.3.7 定量下限

按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)定义,定量下限

为在限定误差能满足预定要求的前提下，用特定方法能够准确定量测定待测物质的最低定量检测限，按照样品分析的全部步骤，重复 n (≥ 7) 次空白试验，计算 n 次平行测定结果的标准偏差，按照规定的公式和表格计算检测限，4 倍检测限为定量下限。

标准编制组通过调研化学需氧量、氨氮等水质在线监测仪现场运行情况发现仪器监测数据全为大于零的值，定量下限采用零点校正液（不含有机物、氨的蒸馏水）检测时，负漂移将被视为零值，不能反映仪器测定结果的负偏差。

参考 ISO 标准《水用 水质在线传感器/分析设备 规范及性能检验》（ISO 15839-2003），规定仪器连续测定检测范围 5% 的标准溶液 6 次，测定结果标准偏差的 10 倍为仪器的定量下限。

由于检测范围上限 5% 的标准溶液浓度显著低于仪器的检测范围下限值，所以本标准规定定量下限检测方法采用浓度大于零值且浓度较低的检测范围下限值的标准溶液连续测量 7 次，在保证示值误差满足 $\pm 30\%$ 的前提下，测量结果标准偏差的 10 倍为仪器的定量下限。具体检测方法为：

仪器正常运行期间，连续测定 BOD 浓度值约为 3 mg/L 的标准溶液 7 次，按照公式（7）计算 7 次测定值的示值误差 Re ，按照公式（9）计算 7 次测定值的标准偏差 S ，按照公式（10）计算仪器的定量下限 LOQ。

$$S = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (9)$$

$$LOQ = 10 \times S \quad (10)$$

式中： S ——7 次测定值的标准偏差；

n ——测量次数；

x_i ——第 i 次测定值；

\bar{x} ——标准溶液测量值的平均值。

LOQ——定量下限。

参与验证的三台生化需氧量水质在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 6 所示：

表 6 定量下限实验数据表

项目	仪器 A	仪器 B	仪器 C
最大示值误差	30%	23.3%	30%
标准偏差	0.219	0.179	0.161

定量下限	2.2 mg/L	1.8 mg/L	1.6 mg/L
------	----------	----------	----------

综合数据分析结果，本标准提出定量下限的技术指标为满足示值误差 $\pm 30\%$ 的情况下，定量下限为 3 mg/L。

5.3.8 一致性

在维护间隔检测时，抽取至少三台仪器获得多组数据 $C_{i,j}$ （其中 i 是仪器编号， j 是水样编号），按照公式（11）计算第 j 时段浓度数据的相对标准偏差 S_j ，再按照公式（12）计算。

$$S_j = \frac{\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (C_{i,j} - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_{i,j})^2}}{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_{i,j}} \times 100\% \quad (11)$$

$$S = 1 - \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m (S_j)^2}{m}} \quad (12)$$

式中： n ——仪器的总台数， $n \geq 3$ ；

m ——水样编号总数；

$C_{i,j}$ ——第 i 台仪器 j 水样数据 $C_{i,j}$ ，其中 $i=1, 2, 3, \dots, n$ ， $j=1, 2, 3, \dots,$

m ；

S_j ——第 j 时段数据的相对标准偏差；

S ——一致性。

参与验证的三台 BOD 水质在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 7 所示：

表 7 一致性实验数据表

时段	仪器A、B、C
1	99.3%
2	95.0%
3	98.5%

本标准提出生化需氧量水质自动在线监测仪一致性指标为 $\geq 90.0\%$ 。

5.3.9 数据有效率

数据有效率是综合性指标，对于仪器效率有很好的描述。针对仪器不断重复测量、

不断的换量程、其他原因致使的无效数据或者重测而对仪器测量的耽误和由此带来的低效，数据有效率相当于无故障运行时间可以更好的衡量。这也更加强调仪器对数据的及时捕捉能力，也是对有效实时监控的有力保障。更加关键的是，这个指标在现场的可操作性要比无故障运行时间好的多。

在整个仪器检测周期中，有效的数据为：

当仪器在进行本标准中规定的项目检测（不包含环境温度干扰）时，运行测量的显示值满足本标准表 1 中各项指标（不包括数据有效率指标）的要求；

当仪器在进行本标准中规定的项目检测之外时，仪器应测定某特定浓度标准溶液，测量值应满足本标准表 1 中示值误差的要求。

不满足上述两条或缺失数据为无效值。实际有效数据的数目相对于检测周期内应得到的有效数据的数目的百分比，即为数据有效率。

$$D = \frac{D_e}{D_t} \times 100\% \quad (13)$$

式中：D ——数据有效率；

D_e ——有效数据；

D_t ——所有数据。

参与验证的三台 BOD 水质自动在线监测仪按照此方法进行检测，检测结果如表 8 所示：

表 8 数据有效率实验数据表

指标	仪器A	仪器B	仪器C
数据有效率	98.6%	99.0%	98.9%

本标准提出生化需氧量水质自动在线监测仪数据有效率为 $\geq 90\%$ 。

6 标准实施建议

建议本标准的性质为推荐性团体标准。企业可依据本标准的规定和要求在企业内部建标或对原标准进行修订，并根据标准实施时间要求制定企业整改和其它过渡措施。