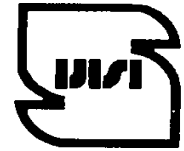




جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۸۳۹۳-۱

چاپ اول








ISIRI


8396-1

1 St- Edition

کیفیت آب – اندازه گیری اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی بعد از n روز – بخش اول: رقیق سازی و بذردار کردن با افزودن الیل تیواوره – روش آزمون

Water quality – Determination of biochemical oxygen demand after a days (BOD_n)
Part 1: Dilution and seeding method with allythiourea addition- Test method

نشانی مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران : کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵ 
دفتر مرکزی : تهران - ضلع جنوبی میدان ونک، صندوق پستی ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵
تلفن مؤسسه در کرج: ۰۲۶۱-۲۸۰۶۰۳۱-۸ 
تلفن مؤسسه در تهران: ۰۲۱-۸۸۷۹۴۶۱-۵ 
دورنگار: کرج ۰۲۶۱-۲۸۰۸۱۱۴ - تهران ۰۲۱-۸۸۸۷۰۸۰ - ۸۸۸۷۱۰۳ 
بخش فروش - تلفن: ۰۲۶۱-۲۸۰۷۰۴۵ - دورنگار: ۰۲۶۱-۲۸۰۷۰۴۵ 
پیام نگار: [Standard @ isiri.or.ir](mailto:Standard@isiri.or.ir) 
بهاء: ۲۸۷۵ ریال 

	Headquarters :	Institute Of Standards And Industrial Research Of Iran
	P.O.Box:	31585-163 Karaj – IRAN
	Tel:	0098 261 2806031-8
	Fax:	0098 261 2808114
	Central Office :	Southern corner of Vanak square, Tehran
	P.O.Box:	14155-6139 Tehran-IRAN
	Tel:	0098 21 8879461-5
	Fax:	0098 21 8887080, 8887103
	Email:	Standard @ isiri.or.ir
	Price:	2875 RLS

« بسمه تعالی »

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب قانون، تنها مرجع رسمی کشور است که عهده دار وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) میباشد.

تدوین استاندارد در رشته های مختلف توسط کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط با موضوع صورت میگیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت ها و مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فنی و فن آوری حاصل از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع شامل: تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، بازرگانان، مراکز علمی و تخصصی و نهادها و سازمانهای دولتی باشد. پیش نویس استانداردهای ملی جهت نظرخواهی برای مراجع ذینفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال میشود و پس از دریافت نظرات و پیشنهادها در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که توسط مؤسسات و سازمانهای علاقمند و ذیصلاح و با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می شود نیز پس از طرح و بررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ و منتشر می گردد. بدین ترتیب استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد مندرج در استاندارد ملی شماره (۵) تدوین و در کمیته ملی مربوط که توسط مؤسسه تشکیل میگردد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد میباشد که در تدوین استانداردهای ملی ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندیهای خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی استفاده می نماید.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون به منظور حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردها را با تصویب شورای عالی استاندارد اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آنرا اجباری نماید.

همچنین بمنظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندگان سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاهها و کالیبره کنندگان وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد اینگونه سازمانها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آنها اعطا نموده و بر عملکرد آنها نظارت می نماید. ترویج سیستم بین المللی یکاها، کالیبراسیون وسایل سنجش تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی از دیگر وظایف این مؤسسه می باشد.

**کمپسیون استاندارد" کیفیت آب – اندازه گیری اکسیژن مورد نیاز
بیوشیمیایی بعد از n روز- بفش اول – رقیق سازی و بذر دار کردن با
افزودن الیل تیواوره -روش آزمون "**

رئیس

هاشمی، سید حسین

(دکترای مهندسی محیط زیست)

سمت یا نمایندگی

پژوهشگاه صنعت نفت

اعضاء

اسماعیل پور، سوسن

(لیسانس شیمی کاربردی)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

بینای مطلق ، پروین

(فوق لیسانس مهندسی بهسازی)

مرکز سلامت محیط کار و وزارت بهداشت ، درمان

و آموزش پزشکی

غلامی، میترا

(دکترای بهداشت محیط)

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران

مطلبی ، مهنوش

(فوق لیسانس مدیریت محیط زیست)

شرکت آب و فاضلاب

ملک سیاه چشم، زهرا

(لیسانس علوم آزمایشگاهی)

سازمان حفاظت از محیط زیست

دبیر

مقتدر ، مهناز

(فوق لیسانس مدیریت محیط زیست)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران

فهرست اعضای شرکت کننده در سیصد و هفتاد و دومین کمیته ملی استاندارد

شیمیایی و پلیمر مورف ۸۴/۷/۳

سمت یا نمایندگی

دانشگاه علوم پزشکی ایران

رئیس

غلامی، میترا

(دکتری)

اعضاء

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

اسماعیل پور، سوسن

(لیسانس شیمی)

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

اکبری حقیقی، کریم

(لیسانس شیمی)

وزارت صنایع و معادن

بلوری، فریده

(لیسانس شیمی)

مرکز سلامت محیط کار و وزارت بهداشت، درمان

بینای مطلق، پروین

و آموزش پزشکی

(فوق لیسانس مهندسی بهسازی)

کارشناس بازاریابی

حریرچی، کیانوش

(لیسانس شیمی تجزیه)

دفتر محیط زیست وزارت صنایع و معادن

حوائجی، زهرا

(فوق لیسانس محیط زیست)

شرکت پارس نکو

روستا زاده، محمود

(لیسانس شیمی)

صنایع رنگ و رزین یشم	سرکیس یانس ، نویک (لیسانس شیمی)
شرکت آب و فاضلاب استان تهران	مطلبی ، مهرنوش (فوق لیسانس مدیریت محیط زیست)
اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران	مقتدر، مهناز (فوق لیسانس مدیریت محیط زیست)
سازمان حفاظت از محیط زیست	ملک سیاه چشم ، زهرا (لیسانس علوم آزمایشگاهی)
موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران	مهدوی ، آذر (کمک کارشناس)
هیئت علمی دانشگاه الزهراء	میرحبیبی، افتخارالسادات (فوق لیسانس شیمی تجزیه)
صنایع رنگینه پارس	میرزایی ، لیلا (لیسانس شیمی)
آزمایشگاه کنترل کیفیت پارس خودرو	وتر ، عبدالرضا (فوق لیسانس مهندسی شیمی)

دبیر:

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران	فتحی رشتی، ام البنین (لیسانس شیمی)
---------------------------------------	---------------------------------------

فهرست مندرجات

صفحه

هدف.....	۱
دامنه کاربرد.....	۲
مراجع الزامی.....	۳
اصطلاحات و تعاریف.....	۴
اساس روش.....	۵
مواد لازم	۶
وسایل لازم	۷
نگهداری نمونه	۸
روش اجرای آزمون	۹
محاسبه و بیان نتایج.....	۱۰
موارد خاص.....	۱۱
گزارش آزمون	۱۲
پیوست الف (اطلاعاتی).....	۱۳
پیوست ب (اطلاعاتی).....	۱۴
پیوست پ (اطلاعاتی).....	۱۵
پیوست ت (اطلاعاتی).....	۲۲
پیوست ث (اطلاعاتی).....	۲۳

پیشگفتار

استاندارد " کیفیت آب - اندازه گیری اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی بعد از n روز - بخش اول - رقیق سازی و بذردار کردن با افزودن الیل تیواوره- روش آزمون " که توسط کمیسیون های فنی مربوط تهیه و تدوین شده و در سیصد و هفتاد و دومین کمیته ملی استاندارد صنایع شیمیایی مورخ ۱۳۸۴/۷/۳ مورد تصویب قرار گرفته است ، اینک به استناد بند ۱ ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ بعنوان استاندارد ملی ایران منتشر شود .

برای حفظ همگامی و هماهنگی با پیشرفتهای ملی جهانی در زمینه صنایع و علوم استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم مورد تجدیدنظر قرار خواهد گرفت و هرگونه پیشنهادی که برای اصلاح و یا تکمیل این استانداردها برسد در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه واقع خواهد شد. بنابراین برای مراجعه به استانداردهای ایران باید همواره از آخرین چاپ و تجدید نظر آنها استفاده نمود .

در تهیه و تدوین این استانداردها سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه حتی المقدور بین این استاندارد و استاندارد کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود . منابع و مأخذی که در تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است :

- 1- ISO5815-1:2003,water quality – Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n) – Part 1 : Dilution and seeding method with allylthiourea addition.
- 2- APHA , Standard method for the Examination of water and waste water, 19th edition , AWWA- APCF, 1998.

ب

مقدمه

زمان گرمخانه گذاری توصیه شده در این استاندارد پنج یا هفت روز است. به طور معمول گرمخانه گذاری هفت روزه نتایج BOD بالاتری نسبت به گرمخانه گذاری پنج روزه می دهد. در یک دوره گرمخانه گذاری پنج روزه تنها در صورتی که گرمخانه گذاری در روزهای دوشنبه، سه شنبه و چهارشنبه شروع شود، نیاز به کار در تعطیلات آخر هفته نیست. در روش گرمخانه گذاری هفت روزه نمونه هایی که در پنج روز اول هفته گرمخانه گذاری می شوند می توانند بدون کار آخر هفته آزمایش شوند. بنابراین دوره گرمخانه گذاری هفت روزه می تواند مناسب تر از دوره گرمخانه گذاری پنج روزه باشد.

یک روش گرمخانه گذاری هفت روزه اصلاح شده و جدید در پیوست الف آمده است. بررسی های اولیه نشان می دهد که نتایج BOD به دست آمده با این روش اصلاح شده عیناً مانند نتایج به دست آمده به روش پنج روزه که در متن اصلی این استاندارد شرح داده شده است، می باشد. انتظار می رود در طی سال های آینده داده های مقایسه ای بیشتری در مورد این دو روش گرمخانه گذاری به دست آید به طوری که روش گرمخانه گذاری اصلاح شده هفت روزه بتواند به هنگام بازنگری و تجدید نظر این استاندارد به طور کامل به کار گرفته شود. در این استاندارد حد اندازه گیری، D_L ، به صورت زیر تعریف می شود:

$$D_L = 2 \times t_{0.95(f)} S_B \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$$

که در آن:

S_B = انحراف معیار استاندارد سری داده ها

$t_{0.95(f)}$ = مقدار t-student

f = درجه آزادی برای S_B تعیین شده

n = تعداد آزمایش ها برای تعیین مقدار شاهد در یک سری آزمایش
 S_B از طریق اندازه گیری نمونه های واقعی با مقدار BOD نزدیک به مقدار D_L تخمینی، محاسبه
میشود. در مواردی که نیاز به اصلاح شاهد نیست، عبارت $\sqrt{1 + \frac{1}{n}}$ حذف می شود.

پ

کیفیت آب- اندازه گیری اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی بعد از n روز

بخش اول- رقیق سازی و بذردار کردن با افزودن الیل تیواوره - روش آزمون

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی آب ها به روش رقیق سازی و بذردار کردن با جلوگیری از نیتریفیکاسیون است .

۲ دامنه کاربرد

این روش برای تمام آب ها و پسابهای با اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی مساوی ۳ میلی گرم در لیتر یا بیشتر و کمتر از ۶۰۰۰ میلی گرم در لیتر کاربرد دارد. برای مقادیر بیشتر از ۶۰۰۰ میلی گرم در لیتر نیز این روش کاربرد دارد ولی خطاهای ناشی از رقیق کردن های مورد نیاز می تواند بر کیفیت روش آزمون تأثیر بگذارد ، بنابراین نتایج باید با احتیاط تفسیر شوند .

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن استاندارد به آنها ارجاع شده است. به این ترتیب آن مقررات، جزئی از این استاندارد محسوب می شود. در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ یا تجدید نظر اصلاحیه ها و تجدید نظرهای بعدی این مدارک مورد نظر نیست. با این وجود بهتر است کاربران ذینفع این استاندارد، امکان به کارگیری آخرین اصلاحیه ها و تجدید نظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند. در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ یا تجدید نظر، آخرین چاپ یا تجدید نظر مدارک الزامی ارجاع داده شده، مورد نظر است. استفاده از مراجع زیر برای به کارگیری این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ۱۷۲۸: سال ۱۳۸۰، آب مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

- 3-2 ISO5813: 1983, Water quality- Determination of dissolved oxygen– Iodometric method.
- 3-3 ISO5814: 1990, Water quality- Determination of dissolved oxygen– Electrochemical Probe method.
- 3-4 ISO6060: 1998, Water quality- Determination of chemical oxygen demand.
- 3-5 ISO8245: 1999, Water quality- Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC).
- 3-6 ISO8467: 1993, Water quality- Determination of permanganate index.

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاح و /یا واژه با تعریف زیر بکار می رود :

۱-۴ اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی^۱ بعد از n روز

غلظت جرمی اکسیژن محلول مصرفی در شرایط معین به وسیله اکسایش بیوشیمیایی مواد آلی و/یا غیرآلی در آب است. n نمایانگر مدت زمان گرمخانه گذاری معادل پنج یا هفت روز است. **یادآوری** - در این استاندارد اکسایش بیوشیمیایی معادل اکسایش بیولوژیکی در نظر گرفته شده است .

1) BOD =Biochemical oxygen demand

۵ اساس روش

نمونه آب مورد آزمون، پس از آماده سازی با مقادیر متفاوتی از آب رقیق سازی غنی از اکسیژن محلول که شامل بذر میکرو ارگانسیم های هوازی است، رقیق می شود. نمونه برای مدت معین پنج یا هفت روز در یک بطری دردار و کاملاً پر شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در تاریکی گرمخانه گذاری می شود. غلظت اکسیژن محلول قبل و بعد از گرمخانه گذاری اندازه گیری شده و جرم اکسیژن مصرف شده برای هر لیتر از نمونه محاسبه می شود.

یادآوری ۱- لازم است آزمون های این استاندارد توسط کارکنان با صلاحیت انجام شود.

یادآوری ۲- در حین آزمون، از نیتریفیکاسیون جلوگیری شود.

یادآوری ۳- نتایج به دست آمده، حاصل ترکیب واکنش های شیمیایی و بیوشیمیایی هستند. نتایج نمی توانند به طور خاص نشان دهنده ویژگی های دقیق واکنش های انجام شده در حین آزمایش باشند. به عبارت دیگر نتایج، تنها شاخصی تخمینی از کیفیت آب هستند. آزمون می تواند تحت تأثیر مواد مختلف قرار گیرد. این مواد، مواد سمی برای میکرو ارگانسیم ها مانند باکتری کش ها، فلزات سمی یا کلر آزاد هستند که از اکسیایش بیوشیمیایی جلوگیری می کنند. حضور جلبک یا میکرو ارگانسیم های نیتروژن ساز می تواند نتایج غیر واقعی و بالا ایجاد کند.

۶ مواد لازم

در طول آزمون فقط از مواد شیمیایی با خلوص آزمایشگاهی مشخص استفاده کنید.

۱-۶ آب

ویژگی های آب باید مطابق آب درجه ۳ ذکر شده در استاندارد بند ۳-۱ باشد. این آب نباید بیش از ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر مس داشته باشد و باید فاقد کلر یا کلر آمین باشد.

۲-۶ آب بذر دار^۱

اگر نمونه مورد آزمون دارای مقادیر کافی میکروارگانسیم های سازگار شده نباشد آب بذر دار را از یکی از منابع زیر تهیه کنید .

۱-۲-۶ فاضلاب شهری با حداکثر ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اکسیژن مورد نیاز شیمیایی^۲ یا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کربن آلی کل^۳ که از فاضلابروهای اصلی یا از فاضلابروی های منطقه مسکونی فاقد آلودگی صنعتی مهم جمع آوری شده است. این آب را پس از ته نشینی یا عبور از صافی با منافذ درشت مورد استفاده قرار دهید.

۲-۲-۶ آب رودخانه یا دریاچه دارای فاضلاب شهری

۳-۲-۶ پساب ته نشین شده تصفیه خانه فاضلاب

۴-۲-۶ آب برداشته شده از پایین دست محل تخلیه فاضلاب یا آب دارای میکروارگانسیم های سازگار شده با نمونه که در آزمایشگاه کشت داده شده است. (در پساب های صنعتی شامل موادی که به سختی تجزیه می شوند).

۵-۲-۶ بذرهای تجاری موجود

یادآوری- برای اطلاعات بیشتر به پیوست ت مراجعه کنید.

۳-۶ مملول های نمک

این محلول ها را می توان در بطری های شیشه ای در تاریکی در صفر تا چهار درجه سلسیوس برای مدت شش ماه نگهداری کرد و در صورت ظهور اولین نشانه رسوب یا رشد بیولوژیکی (داخل بطری) آن را دور ریخت.

۱-۳-۶ مملول بافر فسفات با pH معادل ۷/۲

۸/۵ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4)، ۲۱/۷۵ گرم دی پتاسیم هیدروژن فسفات (K_2HPO_4)، ۳۳/۴ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات هفت آبه ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) و ۱/۷ گرم آمونیوم کلراید (NH_4Cl) را در حدود ۵۰۰ میلی لیتر آب حل کرده و به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید. pH این محلول باید بدون افزودن مواد دیگر معادل ۷/۲ باشد.

1-Seeding water

2- COD: Chemical oxygen demand

3- TOC: Total organic carbon

۲-۳-۶ مملول منیزیم سولفات هفت آبه (۲۲/۵ گرم در لیتر)

۲۲/۵ گرم منیزیم سولفات هفت آبه ($MgSO_4, 7H_2O$) را در آب حل کرده، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۳-۳-۶ مملول کلسیم کلراید (۲۷/۵ گرم در لیتر)

۲۷/۵ گرم کلسیم کلراید ($CaCl_2$) یا معادل آن (برای مثال مقدار $۳۶/۴$ گرم کلسیم کلراید دو آبه $CaCl_2, 2H_2O$) را در آب حل کرده، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۴-۳-۶ مملول آهن (III) کلراید شش آبه (۰/۲۵ گرم در لیتر)

۰/۲۵ گرم آهن (III) کلراید شش آبه ($FeCl_3, 6H_2O$) را در آب حل کرده، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۴-۶ آب رقیق سازی

یک میلی لیتر از هر یک از محلول های نمک (بندهای ۱-۳-۶، ۲-۳-۶، ۳-۳-۶ و ۴-۳-۶) را به حدود ۵۰۰ میلی لیتر آب اضافه کنید، محلول را به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید. محلول را به دمای 20 ± 2 درجه سلسیوس برسانید و در این دما نگهداری کنید و آن را حداقل به مدت یک ساعت با استفاده از یک وسیله مناسب هوادهی کنید. برای اطمینان از اینکه غلظت اکسیژن محلول حداقل هشت میلی گرم در لیتر باشد، احتیاط های لازم را به کار ببرید تا آب رقیق سازی به خصوص با مواد آلی، فلزات، مواد اکسید کننده یا احیا کننده آلوده نشود. برای جلوگیری از فوق اشباع شدن آب با اکسیژن، قبل از استفاده آن را به مدت یک ساعت در یک ظرف بدون در قرار دهید. این محلول تا ۲۴ ساعت بعد از تهیه قابل استفاده است و پس از آن باید دور ریخته شود مگر اینکه تجربه آزمایشگاهی و/یا آزمایش کنترل (بند ۹-۵) قابل قبول بودن آن را برای مدت زمان طولانی تر تایید کند.

۵-۶ آب رقیق سازی بذر دار

پنج تا ۲۰ میلی لیتر از آب بذر دار را با توجه به منبع تهیه آن (بند ۶-۲) به یک لیتر آب رقیق سازی (بند ۶-۴) اضافه کنید. آب رقیق سازی بذر دار را در دمای ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری کنید. بلافاصله بعد از تهیه آن را استفاده کنید و محلول باقیمانده را در پایان روز کاری دور بریزید. مگر اینکه تجربه آزمایشگاهی و / یا مقادیر کنترلی (بند ۹-۵)، قابل قبول بودن آن را برای مدت زمان طولانی تر تأیید کند. غلظت جرمی اکسیژن مصرف شده توسط آب رقیق سازی بذر دار بعد از گذشت n روز در ۲۰ درجه سلسیوس مقدار شاهد را نشان می دهد که نباید از ۱/۵ میلی گرم در لیتر تجاوز کند.

۶-۶-۱ هیدروکلریک اسید غلیظ (HCl) با پگالی ۱/۱۹ گرم بر میلی لیتر

۶-۶-۲ سولفوریک اسید غلیظ (H_2SO_4) ، با پگالی ۱/۸۴ گرم بر میلی لیتر

۶-۶-۳ هیدرو کلریک اسید ۰/۵ مول در لیتر

۴۱/۵ میلی لیتر از اسید غلیظ (بند ۶-۶) را به حدود ۵۰۰ میلی لیتر آب اضافه کنید، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۶-۶-۴ سولفوریک اسید ۰/۲۵ مول در لیتر

۱۴ میلی لیتر از اسید غلیظ (بند ۶-۷) را به آرامی و با احتیاط به حدود ۵۰۰ میلی لیتر آب اضافه کنید، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۶-۶-۵ مملول سدیم هیدروکساید (۲۰ گرم در لیتر) (NaOH)

۲۰ گرم سدیم هیدروکساید را در آب حل کنید، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۶-۶-۶ مملول سدیم سولفیت (۵۰ گرم در لیتر) (Na_2SO_3)

۵۰ گرم سدیم سولفیت را در آب حل کنید، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

۶-۶-۷ گلوکز- گلوتامیک اسید، مملول کنترل

مقداری D- گلوکز بدون آب ($C_6H_{12}O_6$) و مقداری L- گلوتامیک اسید ($C_5H_9NO_4$) بدون آب را در دمای 105 ± 5 درجه سلسیوس به مدت یک ساعت خشک کنید. 150 ± 1 میلی گرم از هر یک را وزن کنید، در آب حل کرده و به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید و به هم بزنید.

مقدار اکسیژن مورد نیاز نظری^۱ این محلول ۳۰۷ میلی گرم در لیتر است (BOD_e) تجربی معادل ۲۱۰±۲۰ میلی گرم در لیتر اکسیژن و BOD_v تجربی معادل ۲۲۵±۲۰ میلی گرم در لیتر اکسیژن). محلول را بلافاصله بعد از تهیه استفاده کنید و محلول باقیمانده را در پایان روز کاری دور بریزید. این محلول را می توان در مقادیر کم منجمد کرد. در این صورت باید بلافاصله پس از ذوب شدن استفاده شود.

۱۳-۴ مملول الیل تیواوره^۲ (یک گرم در لیتر)

۲۵۰ میلی گرم الیل تیواوره (C₄H₈N₂S) را در آب حل کنید و تا حجم ۲۵۰ میلی لیتر رقیق کنید. محلول را به هم بزنید و در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری کنید. این محلول حداقل به مدت دو هفته پایدار است. به دلیل سمی بودن محلول در جابجایی آن دقت کنید.

۷ وسایل لازم

وسایل شیشه ای مورد استفاده باید تمیز و عاری از ترکیبات تجزیه پذیر زیستی^(۳) یا سمی^(۴) باشند و در برابر آلودگی محافظت شود.

۱-۷ بطری های گرمخانه گذاری

از بطری های مخصوص BOD با در پوش و ترجیحاً به ظرفیت ۲۵۰ تا ۳۰۰ میلی لیتر یا ۱۰۰ تا ۱۲۵ میلی لیتر استفاده کنید. این بطری ها باید قبل از استفاده به طور کامل تمیز شوند. اگر برای اندازه گیری اکسیژن محلول از روش یدومتری (استاندارد بند ۳-۲) استفاده می شود، بطری را چند بار با آب شهری^(۵) و سپس با آب بدون یون بشویید. اگر از روش الکتروود (استاندارد بند ۳-۳) استفاده می شود، روش تمیز کردن مشکل تر است (برای مثال به بطری خالی، پنج تا ۱۰ میلی لیتر محلول شستشوی ۲/۵ گرم ید و ۱۲/۵ گرم پتاسیم یداید در یک لیتر سولفوریک اسید یک درصد حجمی اضافه کرده و به خوبی تکان دهید تا جداره های بطری را آغشته کند. بگذارید محلول شستشو ۱۵ دقیقه داخل بطری بماند و سپس آن را دور بریزید و بطری را کاملاً با آب شهری و سپس با آب بدون یون آبکشی کنید).

-
- 1- Theoretical oxygen demand
 - 2- ATU:Allyl thiourea
 - 3- Biodegradable
 - 4- Toxic
 - 5- Tapwater

۲-۷ ظرف آب رقیق سازی شیشه ای یا پلاستیکی

از تمیز و عاری بودن ظروف از میکروارگانیسم ها اطمینان حاصل کنید. همچنین کنترل کنید تا ظروف پلاستیکی سبب افزایش مقدار قرائت شده برای شاهد نشود (بند ۹-۳). ترجیحاً از ظروف شیشه ای استفاده کنید.

۳-۷ گرمخانه با قابلیت تنظیم در دمای 20 ± 2 درجه سلسیوس

۴-۷ وسیله اندازه گیری غلظت اکسیژن مملول بر اساس استاندارد بند ۲-۲ یا بند ۳-۳

۵-۷ وسایل سردکننده با قابلیت تنظیم دما در دمای صفر تا چهار درجه سلسیوس

برای انتقال و نگهداری نمونه

۶-۷ ظرف رقیق سازی

بالن شیشه ای دردار با ظرفیت متناسب با حجم نمونه رقیق شده و درجه بندی بین ۲/۵ و ۱۰ میلی لیتر، یا هرگونه ظرف مناسب برای رقیق سازی

۷-۷ وسیله هوادهی مانند بطری هوای فشرده یا پمپ هوا^۱

کیفیت هوا باید به گونه ای باشد که هوادهی موجب آلودگی به خصوص با مواد آلی، فلزات و اکسایش مواد احیاکننده نشود. در صورت احتمال آلودگی هوا باید از صافی عبورکننده شسته شود.

۸ نگهداری نمونه

نمونه ها را تا زمان انجام آزمون در دمای صفر تا چهار درجه سلسیوس در ظروف دردار و کاملاً پر نگهداری کنید. اندازه گیری را هرچه سریعتر و حداکثر تا ۲۴ ساعت بعد از اتمام جمع آوری نمونه شروع کنید. از یخ بستن نمونه ها جلوگیری کنید. (موارد خاص در بند ۱۱ را ملاحظه کنید.)
یادآوری - مطمئن شوید ظرف نمونه سبب افزایش مقدار قرائت شده نشود.

1- Compressor

۹ روش اجرای آزمون

۱-۹ آماده کردن نمونه

۱-۱-۹ فنتی کردن

اگر pH نمونه بعد از پیش رقیق سازی بین شش تا هشت نباشد، آن را بعد از هر نوع پیش رقیق سازی (در صورت نیاز) با افزودن حجم مورد نیاز از محلول هیدروکلریک اسید (بند ۶-۸) یا محلول سدیم هیدروکساید (بند ۶-۱۰) خنثی کنید. از رسوب تشکیل شده صرف نظر کنید.

یادآوری - مقدار هیدروکلریک اسید یا سدیم هیدروکساید مورد نیاز برای خنثی سازی را با انجام یک آزمون مجزا به دست آورید .

۲-۱-۹ حذف کلر آزاد و / یا ترکیب شده

کلر آزاد و ترکیب شده در نمونه را با افزودن مقدار لازم از محلول سدیم سولفیت (بند ۶-۱۱) خارج کنید. از افزایش بیش از حد محلول سدیم سولفیت خودداری کنید.

یادآوری - روش های اندازه گیری کلر آزاد و ترکیب شده^۱

۳-۱-۹ همگن کردن

همگن کردن نمونه با مخلوطکن آزمایشگاهی در موارد خاص (هنگام آزمون نمونه حاوی ذرات درشت که نیازه رقیق سازی زیاد دارد) توصیه می شود. چنانچه نمونه ها منجمد شده باشند (بند ۱۱) همگن سازی را بعد از آب شدن نمونه ها انجام دهید.

۴-۱-۹ حذف جلبک

نمونه های حاوی جلبک را به منظور جلوگیری از بروز نتایج بالای غیر عادی، صاف کنید. صافی با اندازه منافذ ۱/۶ میکرومتر مناسب است. صاف کردن می تواند نتایج BOD را به شدت تغییر دهد و فقط باید زمانی انجام شود که در ارزیابی کیفیت آب ضروری تشخیص داده شود. در صورت صاف کردن نمونه، اندازه منافذ صافی باید در گزارش آزمون ثبت شود.

۲-۹ آماده کردن مملول های مورد آزمون

نمونه (یا نمونه آماده شده) (بند ۹-۱) را به دمای 20 ± 2 درجه سلسیوس برسانید و در صورت لزوم (با توجه به منشاء نمونه) آن را در یک ظرف نیمه پر تکان دهید تا احتمال فوق اشباع شدن با اکسیژن از بین برود .

1-ISO7393:1985,water quality– Determination of Free chlorine and total chlorine part1:titrimetric method using N:N-diethyl-1,4phenylenediamine .

Part2: colorimetric method using N:N-diethyl-1,4phenylenediamine , for runtin control purpose

Part 3: Iodometric titration method for the determination of total chlorine.

حجم معینی از آن را به عنوان آزمون در ظرف رقیق سازی (بند ۶-۷) ریخته و به ازاء هر لیتر نمونه رقیق شده، دو میلی لیتر محلول الیل تیواوره (بند ۶-۱۳) به آن اضافه کنید و با آب رقیق سازی بذر دار (بند ۶-۵) به حجم برسانید. به منظور جلوگیری از ایجاد حبابهای هوا آن را به آرامی مخلوط کنید. اگر فاکتور رقیق سازی بزرگتر از ۱۰۰ استفاده می شود، رقیق سازی ها را در دو یا چند مرحله انجام دهید.

مصرف اکسیژن باید حداقل دو میلی گرم در لیتر باشد و میزان رقیق سازی باید طوری باشد که پس از گرمخانه گذاری غلظت اکسیژن محلول باقیمانده حداقل دو میلی گرم در لیتر و همچنین بین یک سوم تا دو سوم غلظت اولیه اکسیژن محلول باشد.

هنگامی که تشخیص میزان رقیق سازی صحیح مشکل باشد، توصیه می شود از رقت هایی که با توجه به فاکتور رقیق سازی و BOD_n مورد انتظار در جدول شماره یک ارایه شده، استفاده کنید.

جدول ۱- میزان رقیق سازی معمول برای اندازه گیری BOD_n

نوع آب ^(۲)	فاکتور رقیق سازی ^(۱)	BOD_n مورد انتظار (میلی گرم در لیتر اکسیژن)
R	بین ۱، ۱ و ۲	۳ تا ۶
R,E	۲	۴ تا ۱۲
R,E	۵	۱۰ تا ۳۰
E	۱۰	۲۰ تا ۶۰
S	۲۰	۴۰ تا ۱۲۰
C و S	۵۰	۱۰۰ تا ۳۰۰
C و I	۱۰۰	۲۰۰ تا ۶۰۰
C و I	۲۰۰	۴۰۰ تا ۱۲۰۰
I	۵۰۰	۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰
I	۱۰۰۰	۲۰۰۰ تا ۶۰۰۰

۱- حجم نمونه رقیق شده

حجم آزمون

۲- نوع آب:

- آب رودخانه
- فاضلاب شهری تصفیه بیولوژیکی شده
- فاضلاب شهری صاف (یا زلال) یا فاضلاب صنعتی با آلودگی کم
- فاضلاب شهری خام
- فاضلاب صنعتی با آلودگی زیاد

اندازه گیری کربن آلی کل^۱، شاخص پرمنگنات^۲ و اکسیژن مورد نیاز شیمیایی^۳ می تواند اطلاعات مفیدی در اختیار ما قرار دهد.

جدول ۲ محدوده معمول برای R (نسبت BOD_n به TOC، اندیس پرمنگنات یا COD) را با توجه به نوع نمونه نشان می دهد.

جدول ۲- مقادیر معمول برای نسبت R

اکسیژن مورد نیاز شیمیایی BOD/COD	اندیس پرمنگنات BOD/ Index	کربن آلی کل BOD/TOC	
۰/۶۵ تا ۰/۳۵	۱/۵ تا ۱/۲	۲/۸ تا ۱/۲	فاضلاب تصفیه نشده
۰/۳۵ تا ۰/۲	۱/۲ تا ۰/۵	۱ تا ۰/۳	فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی

برای محاسبه مقدار BOD_n مورد انتظار با استفاده از فرمول زیر، مقدار R مناسب باید از جدول ۲ انتخاب شود.

$$BOD_n = R \times y$$

که در این فرمول y مقدار اکسیژن مورد نیاز شیمیایی یا اندیس پرمنگنات یا مقدار TOC است. اگر احتمال حضور مواد سمی برای میکروارگانیسم ها باشد، چندین رقت متفاوت از نمونه باید استفاده شود. در صورت وابستگی نتیجه BOD به رقیق سازی، نتایج تنها در محدوده ای که عدم وابستگی BOD به رقیق سازی وجود دارد، قابل گزارش خواهد بود. ممکن است آزمون های چند تایی (پیوست ب) در این شرایط بکار برده شوند.

یادآوری ۱- در تعدادی از نمونه ها، بازدارندگی توسط کلر حتی بعد از حذف آن به دلیل وجود ترکیبات کلردار که حذف نشده اند دیده شده است.

یادآوری ۲- جلوگیری از نیتریفیکاسیون در تمام موارد قابل دستیابی نیست. افزایش الیل تیواوره بیش از دو میلی گرم در لیتر می تواند بر نیتراسیون وینلر تأثیر گذارد. (استاندارد بند ۳-۲)

1- TOC: Total organic carbon
2- Permanganate index
3- COD: Chemical oxygen demand

۳-۹ آزمون شاهد

به طور همزمان یک آزمون شاهد با استفاده از آب رقیق سازی بذر دار (بند ۶-۵) شامل دو میلی گرم در لیتر از محلول الیل تیو اوره (بند ۶-۱۳) انجام دهید.

۴-۹ اندازه گیری

۱-۴-۹ اندازه گیری اکسیژن مملول با استفاده از روش یدومتری

برای هر رقت (بند ۹-۲) دو بطری گرمخانه گذاری (بند ۷-۱) را پر کنید و اجازه دهید تا به آرامی سرریز شوند. در هنگام پرکردن بطری ها دقت کنید میزان اکسیژن در نمونه تغییر نکند. اجازه دهید حباب های هوای چسبیده به دیواره ها خارج شود. در بطری ها را بسته و مراقب باشید در داخل آنها حباب های هوا جمع نشوند. بطری ها را به دو دسته تقسیم کنید به طوری که هر دسته شامل یک بطری از هر رقت و حداقل یک بطری محلول شاهد باشد. اولین سری بطری های حاوی محلول های مورد آزمون رقیق شده (بند ۹-۲) را در گرمخانه بند (۷-۳) قرار داده و بگذارید n روز \pm ساعت در تاریکی بمانند. در دومین سری بطری های دارای محلول های مورد آزمون رقیق شده، غلظت اکسیژن محلول را در زمان صفر با استفاده از روش مشخص شده در استاندارد (بند ۳-۲) با افزودن معرف آزید در آزید- یداید قلیایی اندازه بگیرید. بعد از گرمخانه گذاری، غلظت اکسیژن محلول را در هر یک از بطریها با استفاده از روش مشخص شده در استاندارد (بند ۳-۲) اندازه بگیرید.

۲-۴-۹- اندازه گیری اکسیژن مملول با استفاده از پروب الکتروشیمیایی^۱

برای هر رقت بند (۹-۲) یک بطری گرمخانه گذاری بند (۷-۱) را پر کنید و اجازه دهید به آرامی سرریز شود. هنگام پرکردن بطری ها دقت کنید میزان اکسیژن نمونه تغییر نکند و اجازه دهید حباب های هوای چسبیده به دیواره ها خارج شود. غلظت اکسیژن محلول را در هر یک از بطری ها در زمان صفر با استفاده از روش مشخص شده در استاندارد (بند ۳-۳) اندازه بگیرید. در بطری ها را ببندید و مراقب باشید داخل آن ها حباب های هوا جمع نشوند. بطری های حاوی محلول های مورد آزمون رقیق شده بند (۹-۲) را به مدت n روز \pm ساعت در گرمخانه (بند ۷-۳) و تاریکی قرار دهید. بعد از گرمخانه گذاری، غلظت اکسیژن محلول را در هر یک از بطری ها با استفاده از روش مشخص شده در استاندارد (بند ۳-۳) اندازه بگیرید.

1- Electro-chemical probe

۵-۹ آزمون کنترل

به منظور کنترل آب رقیق سازی بذردار (بند ۶-۵)، آب بذردار (۶-۲) و روش آزمایش، در هر سری از نمونه ها یک آزمون کنترلی به ترتیب زیر انجام دهید .
در ظرف رقیق سازی ۲۰ میلی لیتر محلول کنترلی گلوکز- گلوتامیک اسید (بند ۶-۱۲)، دو میلی لیتر محلول الیل تیواوره بریزید، با آب رقیق سازی بذردار تا ۱۰۰۰ میلی لیتر رقیق کنید و مانند (بند ۹-۴) عمل کنید. براساس محدوده [(انحراف استاندارد * ۲) ± مقدار میانگین] که از داده های بین آزمایشگاهی حاصل شده است ، مقدار BOD_5 باید در محدوده 40 ± 210 میلی گرم در لیتر اکسیژن و برای BOD_7 باید در محدوده 40 ± 225 میلی گرم در لیتر اکسیژن باشد .
برای تعیین دقیق حدود کنترل در هر آزمایشگاه، باید حداقل ۲۵ اندازه گیری در طی یک دوره چند هفته ای انجام شود. پس از آن مقادیر میانگین و انحراف معیارهای استاندارد می توانند برای محاسبه حدود کنترل در بررسی های کنترل کیفیت استفاده شوند. اگر چنین نبود آب بذردار و در صورت لزوم روش آزمایش را بررسی کنید.
شاهد (بند ۹-۳) نباید بیش از ۱/۵ میلی گرم در لیتر اکسیژن مصرف کند. در غیر این صورت احتمال آلودگی را بررسی کنید.

۱۰- محاسبه و بیان نتایج

۱۰-۱- بررسی اعتبار میزان مصرف اکسیژن در طی آزمون

میزان BOD_n در صورتی که شرایط زیر مهیا باشد، محاسبه می شود:

$$\frac{\rho_1}{3} \leq (\rho_1 - \rho_2) \leq \frac{2\rho_1}{3}$$

که در آن:

ρ_1 غلظت اکسیژن محلول یکی از محلول های مورد آزمون در زمان صفر، به میلی گرم در لیتر

ρ_2 غلظت اکسیژن محلول همین محلول مورد آزمون بعد از n روز، به میلی گرم در لیتر است

۲-۱۰. محاسبه اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی بعد از n روز (BOD_n)

اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی (BOD_n) بر حسب میلی گرم در لیتر اکسیژن را با استفاده از معادله زیر محاسبه کنید.

$$BOD_n = \left[(\rho_1 - \rho_2) - \frac{V_t - V_{sam}}{V_t} (\rho_3 - \rho_4) \right] * \frac{V_t}{V_{sam}}$$

که در آن:

ρ_1 و ρ_2 (به بند ۱۰-۱ مراجعه کنید .)

ρ_3 غلظت اکسیژن محلول شاهد در زمان صفر، به میلی گرم در لیتر

ρ_4 غلظت اکسیژن محلول شاهد بعد از n روز، به میلی گرم در لیتر

V_{sam} حجم نمونه استفاده شده برای تهیه محلول مورد آزمون، به میلی لیتر

V_t حجم کل محلول مورد آزمون، به میلی لیتر

اگر چندین رقت در محدوده مورد قبول قرار گیرد، باید متوسط نتایج به دست آمده برای این رقت ها را محاسبه کنید.

نتایج باید بر حسب میلی گرم در لیتر اکسیژن و مطابق جدول ۳ گزارش شوند.

جدول ۳- دقت گزارش نتایج

دقت	نتیجه بر حسب میلی گرم در لیتر اکسیژن
میلی گرم در لیتر	کمتر از ۱۰
دو رقم معنی دار	بین ۱۰ و ۱۰۰۰
سه رقم معنی دار	بالای ۱۰۰۰

دقت و درستی نتایج آزمون های مقایسه ای بین آزمایشگاهی در پیوست پ آمده است.

۱۱ موارد خاص

اگر به دلیل طولانی شدن زمان حمل و نقل یا به واسطه شرایط جغرافیایی، فاصله زمانی بین نمونه برداری و شروع آزمایش بیش از ۲۴ ساعت باشد انجماد نمونه ها مجاز است. نمونه ها پس از آب شدن باید همگن شوند و باید در تمام موارد آب بذر دار استفاده شود. در صورت امکان توصیه می شود به منظور کوتاه کردن مدت زمان حمل و نقل از آزمایشگاه های محلی استفاده شود.

۱۲ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید شامل اطلاعات زیر باشد:

- ۱-۱۲ ارجاع به شماره این استاندارد ملی
- ۲-۱۲ ذکر این ویژگی که آزمون با جلوگیری از نیتریفیکاسیون انجام شده است .
- ۳-۱۲ تعداد روزهای گرمخانه گذاری
- ۴-۱۲ نتیجه بر حسب میلی گرم در لیتر اکسیژن بند (۱۰-۲)
- ۵-۱۲ برای نتایج کمتر از محدوده کاری این روش ارائه مدارک برای یک حد تشخیص مناسب.
- ۶-۱۲ هرگونه جزئیات خاصی که ممکن است در طی آزمون مورد توجه قرار گرفته باشد .
- ۷-۱۲ جزئیات هرگونه عملیاتی که در این استاندارد بیان نشده یا به طور اختیاری رعایت شده باشد مانند صاف کردن (بند ۹-۱-۴)، انجماد و همگن سازی (بند ۱۱)، به کارگیری نوع دیگر گرمخانه گذاری (BOD_{2+5}) (پیوست الف) و آزمون چندتایی (پیوست ب).

پیوست الف

(اطلاعاتی)

انواع روش های گرمخانه گذاری

نظر به اینکه نرخ اکسیداسیون کربن طی اولین مرحله آزمون BOD توسط قانون فلپ^۱ با فرمول زیر بیان می شود:

$$\log_{10} \frac{L}{L-X} = kt$$

که در آن:

$BOD = L$ BOD نهایی در یک زمان نامحدود بر حسب میلی گرم در لیتر اکسیژن

$BOD = X$ BOD در زمان t بر حسب میلی گرم در لیتر اکسیژن

$t =$ زمان بر حسب روز

$k =$ ثابت نرخ بر حسب روز است

و به دلیل اینکه رابطه ذکر شده لگاریتمی می باشد، تغییرات بعد از ۵ روز قابل توجه نبوده و تفاوت عمده ای بین BOD_{20} و BOD_{20+} بعد از رقیق سازی نمونه مشاهده نشده است.

برای یک نوع ماده آلی و بذریکروبی معین، تاثیر دما روی ثابت نرخ (k) و مقدار L می تواند با یک تقریب اولیه پیش بینی شود. این کار ممکن است به هنگام انجام آزمون BOD در آب و هوای گرم یا در مطالعه رودخانه های طویل که از چندین منطقه آب و هوایی عبور می کنند مفید باشد. توجه به چنین ارتباطاتی ضروری است.

نتیجه BOD استاندارد، بعد از پنج یا هفت روز گرمخانه گذاری در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به دست می آید.

با گرمخانه گذاری دو روزه در دمای صفر تا ۴ درجه سلسیوس و به دنبال آن گرمخانه گذاری پنج روزه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس، BOD_{20+} حاصل می شود.

ارتباط بین مقادیر BOD_0 و BOD_7 و مقادیر BOD_0 و BOD_{20+} تعیین شده است که نتایج اندازه گیری مقادیر BOD_0 و BOD_{20+} در جدول الف-۱ آمده است.

جدول الف-۱: مقایسه بین آزمایشگاهی BOD_{20} و BOD_5

فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی		فاضلاب تصفیه شده مکانیکی		محلول گلوکز- گلوتامیک اسید		نوع نمونه	
F	E	D	C	B	A		
۱۷/۲	۱۸/۲	۴۶	۵۸	۱۸۴	۲۰۳	مقدار میانه (میلی گرم در لیتر اکسیژن)	BOD_5
۱۷/۲	۱۸/۱	۴۶	۵۸	۱۸۰	۲۰۱	مقدار میانه میلی گرم در لیتر اکسیژن	BOD_{20}
ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	تفاوت عمده با BOD_5 ^(۱)	
۸۷	۸۹	۸۶	۸۹	۸۵	۹۱	تعداد آزمایشگاه ها	

(۱) سطح اهمیت $\alpha = 0.05$

نتایج جدول براساس مقادیر به دست آمده از ۹۵ آزمایشگاه در ۱۱ کشور اروپایی در سال ۱۹۹۲ است. در عمل هیچ تفاوتی بین BOD_5 و BOD_{20} وجود ندارد. به هنگام اندازه گیری BOD_{20} ، پاراگراف ۴ بند (۹-۴-۱) را به ترتیب زیر تغییر دهید. اولین سری بطری های حاوی محلولهای مورد آزمون رقیق شده (بند ۹-۲) را به مدت دو روز ± 2 ساعت در تاریکی در صفر تا چهار درجه سلسیوس قرار دهید. سپس آنها را برای مدت پنج روز ± 2 ساعت در گرمخانه (بند ۷-۳) در تاریکی در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس قرار دهید^(۱). پاراگراف ۵ (بند ۹-۴-۲) را به ترتیب زیر تغییر دهید: بطری های حاوی محلولهای مورد آزمون رقیق شده (بند ۹-۲) را به مدت دو روز ± 2 ساعت در تاریکی در صفر تا چهار درجه سلسیوس قرار دهید. آنگاه آنها را به مدت پنج روز ± 2 ساعت در گرمخانه (بند ۷-۳) در تاریکی در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس بگذارید. به هنگام جایگزینی BOD_5 توسط BOD_{20} ، تایید آزمایشگاه در معادل بودن مقادیر BOD_{20} با BOD_5 ضروری است.

۱- در صورتی که برای هر دو دما از یک گرمخانه استفاده شود، ممکن است نیاز به گرمخانه مجهز به فن باشد تا تغییر در دمای گرمخانه گذاری را در فاصله زمانی تا ۲ ساعت تضمین کند.

پیوست ب (اطلاعاتی) آزمون چندتایی

آزمون چندتایی عبارت از آزمایش یک نمونه در دو یا چند رقت متفاوت است. از این روش ممکن است هنگامی که دقت زیاد مورد نظر باشد یا احتمال حضور مواد سمی برای میکروارگانیسم ها وجود داشته باشد استفاده شود.

نمونه طبق بند (۸-۴) آزمایش می شود با این تفاوت که برای هر رقت یک بطری اضافی پر شده و هر دو بطری BOD گرمخانه گذاری می شوند.

مصرف اکسیژن در طی گرمخانه گذاری برای هر بطری BOD تعیین می شود و نمودار مصرف اکسیژن بر حسب حجم نمونه در هر رقت رسم می شود. مصرف اکسیژن در آزمون شاهد به عنوان مقدار حجم صفر در نظر گرفته می شود. اگر نمودار خطی باشد، نمونه فاقد ترکیباتی است که از فعالیت میکروارگانیسم ها جلوگیری می کنند. در صورتی که نمودار فقط برای غلظت های کم نمونه خطی باشد، برای تعیین BOD_n تنها رقت های نمونه در محدوده خطی باید مورد استفاده قرار گیرد. مقدار BOD_n طبق بند ۱۰ محاسبه می شود و برابر مقدار متوسط تمام اندازه گیری ها در محدوده خطی است .

پیوست پ
(اطلاعاتی)
درستی و صحت

درستی و انحراف معیار استاندارد تکرارپذیری و تجدیدپذیری اندازه گیری‌های BOD_n در سال ۱۹۹۲ توسط یک مقایسه بین آزمایشگاهی تعیین شد. در این مورد، سه جفت نمونه توسط ۹۵ آزمایشگاه از ۱۱ کشور آزمایش شد که نتایج در جدول پ-۱ آمده است.

جدول پ-۱ نتایج مقایسه بین آزمایشگاهی

خطاها	تعداد نتایج	انحراف معیار استاندارد تکرار پذیری اختلافها (میلی گرم اکسیژن در لیتر)	میانگن اختلافها (میلی گرم اکسیژن در لیتر)	انحراف معیار استاندارد تجدید پذیری (میلی گرم اکسیژن در لیتر)	میانگن (میلی گرم اکسیژن در لیتر)	اختلاف مقادیر محاسبه شده (میلی گرم اکسیژن در لیتر)	نمونه	
۵	۹۱	۱۱	-۱۸	۲۲	۲۰۳	-۱۹ { ۱۹۹ ۱۸۰	A محلول گلوکز / گلو تامیک اسید	BOD _۵
				۱۹	۱۸۴		B محلول گلوکز / گلو تامیک اسید	
				۷/۷	۵۸/۳		C فاضلاب تصفیه شده مکانیکی	
۵	۹۵			۵/۰	۴۶		D فاضلاب تصفیه شده مکانیکی	
				۴/۵	۱۸/۲		E فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی	
۵	۹۵			۳/۷	۱۷/۲		F فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی	
۲	۸۸	۱۱	۱۷	۲۴	۲۰۱	-۱۹ { ۱۹۹ ۱۸۰	A محلول گلوکز / گلو تامیک اسید	BOD _{۲+۵}
				۲۴	۱۸۰		B محلول گلوکز / گلو تامیک اسید	
				۸/۹	۵۸/۰		C فاضلاب تصفیه شده مکانیکی	
۴	۹۰			۶/۰	۴۵/۵		D فاضلاب تصفیه شده مکانیکی	
				۴/۹	۱۸/۱		E فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی	
۳	۹۱			۴/۲	۱۷/۲		F فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی	
۳	۸۸	۱۳	-۱۹	۲۲	۲۱۰	-۲۰ { ۲۱۳ ۱۹۳	A محلول گلوکز / گلو تامیک اسید	BOD _۷
				۱۹	۱۹۰		B محلول گلوکز / گلو تامیک اسید	
				۸/۶	۶۴/۴		C فاضلاب تصفیه شده مکانیکی	
۶	۹۱			۶/۷	۵۱/۶		D فاضلاب تصفیه شده مکانیکی	
				۵/۰	۱۹/۳		E فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی	
۴	۹۲			۴/۳	۱۷/۸	F فاضلاب تصفیه شده بیولوژیکی		

۱- به پیوست الف مراجعه شود.

تعیین ضرایبی برای تبدیل داده های BOD_v و BOD_e برای یک نوع آب امکان پذیر است. مقدار این ضرایب را می توان با آزمایش همزمان BOD_v و BOD_e نمونه های یکسان بدست آورد. در صورت عدم دسترسی به ضریب مذکور نسبت بین BOD_v و BOD_e ممکن است از نتایج مقایسه های بین آزمایشگاهی به دست آمده، تخمین زده شود. نتایج در جدول پ-۲ آمده است.

جدول پ-۲ مقایسه بین آزمایشگاهی BOD_v و BOD_e

BOD_v BOD_e	تعداد آزمایشگاه ها	اختلاف ^(۱) معنی دار	میانه BOD_v	میانه BOD_e	نوع نمونه	
			(میلی گرم اکسیژن در لیتر)	(میلی گرم اکسیژن در لیتر)		
۱/۰۴	۹۰	دارد	۲۱۰	۲۰۳	A	محلول گلوکز /
۱/۰۳	۸۷	دارد	۱۹۰	۱۸۴	B	گلو تامیک اسید
۱/۱۰	۸۸	دارد	۶۴	۵۸	C	فاضلاب تصفیه شده
۱/۱۲	۸۸	دارد	۵۲	۴۶	D	مکانیکی
۱/۰۶	۸۷	دارد	۱۹,۳	۱۸,۲	E	فاضلاب تصفیه شده
۱/۰۳	۸۹	دارد	۱۷,۸	۱۷,۲	F	بیولوژیکی
(۱) سطح اهمیت $\alpha = ۰/۰۵$						

پیوست ت
(اطلاعاتی)
الزامات رقیق سازی

غلظت BOD در بیشتر فاضلاب‌ها، از غلظت اکسیژن محلول^۱ موجود در یک نمونه اشباع از هوا بیشتر است. بنابراین ضروری است به منظور به تعادل رساندن اکسیژن مورد نیاز و اکسیژن موجود، نمونه قبل از گرمخانه گذاری رقیق شود. مواد افزودنی مانند نیتروژن، فسفر و فلزات به منظور تأمین مواد مغذی برای رشد میکروارگانیسم‌ها و اطمینان از باقی ماندن pH نمونه گرمخانه گذاری شده در محدوده مناسب برای رشد میکروبی به آب رقیق سازی اضافه می‌شوند.

جهت تثبیت کامل نمونه دوره زمانی طولانی گرمخانه گذاری مورد نیاز است. بنابراین پنج روز به عنوان دوره گرمخانه گذاری استاندارد پذیرفته شده است.

چنانچه آب رقیق سازی کیفیت مطلوبی نداشته باشد، BOD آب رقیق سازی بر مقدار BOD نمونه تأثیر می‌گذارد. فاکتور رقیق سازی، این تأثیر را افزایش داده و یک خطای مثبت حاصل می‌شود. بررسی کیفیت قابل قبول آب رقیق سازی بذر دار از طریق اندازه گیری مصرف اکسیژن توسط یک مخلوط آلی معین گلوکز و گلوتامیک اسید قابل اجراء است.

1- Dissolved oxygen

پیوست ث
(اطلاعاتی)
تهیه بذر سازگار شده

بعضی نمونه ها ممکن است شامل موادی باشند که با مقادیر معمول میکروارگانیسم های فاضلاب خانگی ته نشین شده، تجزیه پذیر نمی شوند . چنین نمونه هایی را با یک جمعیت میکروبی سازگار بدست آمده از پساب قبل از گندزدایی یا آب حوضچه هوادهی یک فرآیند بیولوژیکی تصفیه فاضلاب ، بذریابی کنید . در صورت عدم دسترسی به موارد مذکور بذر را از پایین دست آب دریافتی محل تخلیه (حدود ۳ تا ۸ کیلومتری) بدست آورید . اگر این منبع نیز در دسترس نبود، یک بذر سازگار را در آزمایشگاه توسط هوادهی مداوم یک نمونه فاضلاب خانگی ته نشین شده و افزودن روزانه مقادیر کمی از فاضلاب، تهیه کنید . در صورت نیاز می توان از مایع رویی خاک ته نشین شده، لجن فعال یا بذر تجاری به منظور بدست آوردن جمعیت میکروبی اولیه استفاده کرد . تعیین میزان کافی جمعیت میکروارگانیسم ها توسط آزمون BOD امکان پذیر است .

افزایش خطی مقادیر BOD با زمان سازگاری نمایانگر موفقیت سازگاری بذر است .

