

생물화학적 산소요구량

2017

(BOD, Biochemical Oxygen Demand)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 물속에 존재하는 생물화학적 산소요구량을 측정하기 위하여 시료를 20 ℃에서 5일간 저장하여 두었을 때 시료중의 호기성 미생물의 증식과 호흡작용에 의하여 소비되는 용존산소의 양으로부터 측정하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험기준은 지표수, 지하수, 폐수 등에 적용할 수 있다.

1.2.2 이 시험기준은 실험실에서 20 ℃에서 5일 동안 배양할 때의 산소요구량으로 실제 환경조건의 온도, 생물군, 물의 흐름, 햇빛, 용존산소에서는 다를 수 있어 실제 지표수의 산소요구량을 알고자 할 때에는 위의 조건을 고려해야한다.

1.2.3 시료 중 용존산소의 양이 소비되는 산소의 양보다 적을 때에는 시료를 희석수로 적당히 희석하여 사용한다.

1.2.4 공장폐수나 혐기성 발효의 상태에 있는 시료는 호기성 산화에 필요한 미생물을 식중하여야 한다.

1.2.5 탄소BOD를 측정해야 할 경우에는 질산화 억제 시약을 첨가 한다.

1.3 간섭물질

1.3.1 시료가 산성 또는 알칼리성을 나타내거나 잔류염소 등 산화성 물질을 함유하였거나 용존산소가 과포화 되어 있을 때에는 BOD 측정이 간섭 받을 수 있으므로 전처리를 행한다.

1.3.2 탄소BOD를 측정할 때, 시료 중 질산화 미생물이 충분히 존재할 경우 유기 및 암모니아성 질소 등의 환원상태 질소화합물질이 BOD 결과를 높게 만든다. 적절한 질산화 억제 시약을 사용하여 질소에 의한 산소 소비를 방지한다.

1.3.3 시료는 시험하기 바로 전에 온도를 (20 ± 1) °C로 조정한다.

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 BOD병

300 mL BOD병을 사용하는 것을 원칙으로 하나 부득이 한 경우 60 mL 이상의 BOD 병을 사용한다.

3.2 배양기

온도를 (20 ± 1) °C로 조정할 수 있는 공기 순환형 배양기 또는 물중탕조로 광합성에 의한 산소 생산을 방지하기 위해 모든 빛을 차단한 배양 장치를 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

모든 시약을 미리 준비하되 침전 또는 미생물의 증식이 관찰될 경우 버린다. 가능한 고순도의 시약을 사용하며 시약 조제 시 멸균된 정제수 사용을 권장한다.

4.1 시약

4.1.1 염산용액(1 M)

정제수 약 500 mL에 진한 염산 (hydrochloric acid, HCl, 분자량 : 36.46, 비중 : 1.18, 함량 : 36.5 % ~ 38 %) 90 mL에 흔들며 천천히 가한 후 정제수를 넣어 1,000 mL로 한다.

4.1.2 수산화나트륨용액 (1 M)

수산화나트륨 (sodium hydroxide, NaOH, 분자량 : 40.00) 40 g을 정제수에 녹여 1 L로 한다.

4.1.3 아황산나트륨용액 (0.025 N)

아황산나트륨 (sodium sulfite, Na₂SO₃, 분자량 : 126.04) 1.6 g을 정제수에 녹여 1,000 mL로 만든다. 아황산나트륨 용액은 반드시 사용할 때 조제한다.

4.1.4 염화철(III)용액 (800용)

염화철(III)-6수화물 (ferric chloride hexahydrate, FeCl₃·6H₂O, 분자량: 270.32) 0.25 g을 정제수에 녹여 1,000 mL로 한다.

4.1.5 염화칼슘용액

염화칼슘 (calcium chloride, CaCl₂, 분자량 : 110.98) 27.5 g을 정제수 녹여 1,000 mL로 한다.

4.1.6 인산염완충용액(pH 7.2)

인산일수소칼륨 (dipotassium hydrogen phosphate, K₂HPO₄, 분자량: 174.18) 21.75 g, 인산이수소칼륨 (potassium dihydrogen phosphate, KH₂PO₄, 분자량: 136.09) 8.5 g, 인산일수소나트륨·12 수화물 (disodium hydrogen phosphate, Na₂HPO₄·12H₂O, 분자량: 358.14) 44.6 g, 염화암모늄 (ammonium chloride, NH₄Cl, 분자량: 53.49) 1.7 g을 정제수에 녹여 1,000 mL로 한다. 이 완충액의 pH는 7.2이어야 하며, 미생물이 증식하면 사용할 수 없다.

4.1.7 질산화 억제 시약

4.1.7.1 ATU 용액

ATU (allylthiourea, $C_4H_8N_2S$, 분자량 : 116.19) 40 g을 정제수에 녹여 1 L로 한다.

4.1.7.2 TCMP

순수한 TCMP (2-chloro-6 (trichloromethyl) pyridine, $C_6H_3Cl_4N$, 분자량 : 230.19)을 사용한다.

4.1.8 황산마그네슘용액

황산마그네슘·7수화물 (magnesium sulfate heptahydrate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 분자량 : 246.51) 22.5 g을 정제수에 녹여 1,000 mL로 한다.

4.1.9 BOD용 희석수

온도를 20 °C로 조절한 물을 솜으로 막은 유리병에 넣고 용존산소가 포화되도록 충분한 기간 동안 정치하거나, 물이 완전히 채워지지 않은 병에 넣어 흔들어서 포화시키거나 압축공기를 넣어 준다. 필요한 양을 취하여 유리병에 넣고 1,000 mL에 대하여 인산염완충용액 (pH 7.2), 황산마그네슘용액, 염화칼슘용액 및 염화철(III)용액 (BOD용) 각 1 mL씩을 넣는다. 이 액의 pH는 7.2이다. pH 7.2가 아닐 때에는 염산용액 (1 M) 또는 수산화나트륨용액(1 M)을 넣어 조절하여야 한다. 이 액을 (20 ± 1) °C에서 5일간 저장하였을 때 용액의 용존산소 감소는 0.2 mg/L 이하이어야 한다.

4.1.10 BOD용 식종수

하수 또는 하천수를 실온에서 24시간 ~ 36시간 가라앉힌 다음 상층액을 사용한다. 하수를 사용할 경우 5 mL ~ 10 mL, 하천수의 경우 10 mL ~ 50 mL을 취하고 희석수를 넣어 1,000 mL로 한다. 토양추출액을 사용할 경우에는 식물이 살고 있는 곳의 토양 약 200 g을 물 2 L에 넣어 교반하여 약 25시간 방치한 후 그 상

충액 20 mL/L ~ 30 mL/L을 취하여 희석수 1,000 mL로 한다. 식중수는 사용할 때 조제한다.

4.1.11 BOD용 식중 희석수

시료 중에 유기물질을 산화시킬 수 있는 미생물의 양이 충분하지 못할 때, 미생물을 시료에 넣어 주는 것을 말한다.

4.2 표준용액

4.2.1 글루코스-글루탐산 표준용액

103 ℃에서 1시간 건조한 글루코스 (glucose, $C_6H_{12}O_6$, 분자량 : 180.16) 150 mg과 글루탐산 (glutamic acid, $C_5H_9NO_4$, 분자량 : 147.13) 150 mg을 정제수로 녹여 1 L로 한다. 글루코스-글루탐산 표준용액은 사용할 때 조제한다.

5.0 시료채취 및 관리

ES 04130.1c 시료의 채취 및 보존 방법에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/AC)

6.1 정확도 및 정밀도

6.1.1 정확도 및 정밀도의 측정은 ES 04001b 정도보증/정도관리에 따른다. 글루코스-글루탐산 표준용액 (각각 150 mg/L)을 20 mL 취하여 식중 희석수로 1 L로 한 후 이를 분석절차에 따라 측정하여 평균값과 상대표준편차 (RSD)를 구하여 산출한다.

6.1.2 정확도는 첨가한 표준물질의 농도에 대한 측정 평균값의 상대 백분율로서 나타내며 그 값이 85 % ~ 115 % 이내이어야 한다.

6.1.3 정밀도는 측정값의 % 상대표준편차 (RSD)로 계산하며 측정값이 15 % 이내

이어야 한다.

6.2 내부정도관리 주기 및 목표

6.2.1 정밀도 및 정확도는 연 1회 이상 산정하는 것을 원칙으로 하며, 분석자의 교체, 분석 장비의 수리 및 이동 등의 주요 변동사항이 생길 경우에는 다시 실시한다. 단, 장비의 청소 및 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

6.2.2 각 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표 값은 표 1과 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 pH가 6.5 ~ 8.5의 범위를 벗어나는 산성 또는 알칼리성 시료는 염산용액(1 M) 또는 수산화나트륨용액 (1 M)으로 시료를 중화하여 pH 7 ~ 7.2로 맞춘다. 다만 이때 넣어주는 염산 또는 수산화나트륨의 양이 시료량의 0.5 %가 넘지 않도록 하여야 한다. pH가 조정된 시료는 반드시 식중을 실시한다.

7.1.2 가능한 한 염소소독 전에 시료를 채취한다. 그러나 잔류염소를 함유한 시료는 시료 100 mL에 아자이드화나트륨 0.1 g과 요오드화칼륨 1 g을 넣고 흔들어 섞은 다음 염산을 넣어 산성으로 한다(약 pH 1). 유리된 요오드를 전분지시약을 사용하여 아황산나트륨용액(0.025 N)으로 액의 색깔이 청색에서 무색으로 변화될 때까지 적정하여 얻은 아황산나트륨용액(0.025 N)의 소비된 부피 (mL)를 남아 있는 시료의 양에 대응하여 넣어 준다. 일반적으로 잔류염소를 함유한 시료는 반드시 식중을 실시한다.

7.1.3 수온이 20 ℃ 이하일 때의 용존산소가 과포화 되어 있을 경우에는 수온을 23 ℃ ~ 25 ℃로 상승시킨 이후에 15분간 통기하고 방치하고 냉각하여 수온을 다시 20 ℃로 한다.

7.1.4 기타 독성을 나타내는 시료에 대해서는 그 독성을 제거한 후 식중을 실시한다.

7.2 분석방법

7.2.1 시료(또는 전처리한 시료)의 예상 BOD값으로부터 단계적으로 희석배율을 정하여 3종 ~ 5종의 희석시료를 2개를 한 조로 하여 조제한다. 예상 BOD값에 대한 사전경험이 없을 때에는 희석하여 시료를 조제한다. 오염정도가 심한 공장폐수는 0.1 % ~ 1.0 %, 처리하지 않은 공장폐수와 침전된 하수는 1 % ~ 5 %, 처리하여 방류된 공장폐수는 5 % ~ 25 %, 오염된 하천수는 25 % ~ 100 %의 시료가 함유되도록 희석 조제한다.

7.2.2 BOD용 희석수 또는 BOD용 식중희석수를 사용하여 시료를 희석할 때에는 2 L 부피실린더에 공기가 갇히지 않게 조심하면서 반만큼 채우고, 시료(또는 전처리한 시료) 적당량을 넣은 다음 BOD용 희석수 또는 식중 희석수로 희석배율에 맞는 눈금의 높이까지 채운다.

7.2.3 공기가 갇히지 않게 젖은 막대로 조심하면서 섞고 2개의 300 mL BOD병에 완전히 채운 다음, 한 병은 마개를 꼭 닫아 물로 마개주위를 밀봉하여 BOD용 배양기에 넣고 어두운 상태에서 5일간 배양한다. 이때 온도는 20 ℃로 항온 한다. 나머지 한 병은 15분간 방치 후에 희석된 시료 자체의 초기 용존산소를 측정하는데 사용한다.

7.2.4 같은 방법으로 미리 정해진 희석배율에 따라 몇 개의 희석 시료를 조제하여 2개의 300 mL BOD병에 완전히 채운 7.2.3과 같이 실험한다. 처음의 희석 시료 자체의 용존산소량과 20 ℃에서 5일간 배양할 때 소비된 용존산소의 양을 용존산소 측정법에 따라 측정하여 구한다.

7.2.5 5일 저장기간 동안 산소의 소비량이 40 % ~ 70 % 범위의 희석 시료를 선택하여 초기용존산소량과 5일간 배양한 다음 남아 있는 용존산소량의 차로부터 BOD를 계산한다.

7.2.6 시료를 식중하여 BOD를 측정할 때는 실험에 사용한 식중액을 희석수로 단계적으로 희석한 이후에 위의 실험방법에 따라 실험하고 배양후의 산소 소비량이 40 % ~ 70 % 범위 안에 있는 식중 희석수를 선택하여 배양전후의 용존산소량과 식중액 함유율을 구하고 시료의 BOD 값을 보정한다.

7.2.7 BOD용 희석수 및 BOD용 식중희석수의 검토

7.2.7.1 시료(또는 전처리한 시료)를 BOD용 희석수(또는 BOD용 식중희석수)를 사용하여 희석할 때에 이들 중에 독성물질이 함유되어 있거나 구리, 납 및 아연 등의 금속이온이 함유된 시료(또는 전처리한 시료)는 호기성 미생물의 증식에 영향을 주어 정상적인 BOD값을 나타내지 않게 된다. 이러한 경우에 다음의 시험을 행하여 적정여부를 검토한다.

7.2.7.2 글루코오스 및 글루탐산 각 150 mg씩을 취하여 정제수에 녹여 1,000 mL로 한 액 5 mL ~ 10 mL를 3개의 300 mL BOD병에 넣고 BOD용 희석수(또는 BOD용 식중희석수)를 완전히 채운다음 이하 BOD시험방법에 따라 시험한다.

7.2.7.3 이때 측정하여 얻은 BOD 값은 (200 ± 30) mg/L의 범위 안에 있어야 한다. 얻은 BOD 값의 편차가 클 때에는 BOD용 희석수(또는 BOD용 식중희석수) 및 시료에 문제점이 있으므로 시험전반에 대한 검토가 필요하다.

7.2.8 질산화 억제 시약의 첨가

7.2.8.1 TCMP

희석된 시료 1 L 당 순수한 고체 TCMP 10 mg(300 mL BOD병에 직접 넣을 경우 3 mg을 첨가함)을 가하여 충분히 혼합한다. TCMP는 BOD병을 시료로 2/3 이상 채운 후 가한다.

7.2.8.2 ATU 용액

ATU 용액 1 mL을 1 L 희석시료에 가한다.(300 mL BOD병에 0.3 mL 첨가) ATU 용액은 용기를 2/3 이상 채운 후 첨가한다.

[주 1] TCMP 사용을 권장하나 ATU 용액을 사용하여도 무방하다.

[주 2] 질산화 억제 시약을 첨가 후에는 반드시 식중을 해야 한다.

8.0 결과보고

8.1 농도계산

8.1.1 식종하지 않은 시료

$$\text{생물화학적산소요구량 (mg/L)} = (D1 - D2) \times P \quad (\text{식 1})$$

여기서, D1 : 15분간 방치된 후의 회석(조제)한 시료의 DO (mg/L)

D2 : 5일간 배양한 다음의 회석(조제)한 시료의 DO (mg/L)

P : 회석시료 중 시료의 회석배수 (회석시료량/시료량)

8.1.2 식종회석수를 사용한 시료

$$\text{생물화학적산소요구량 (mg/L)} = [(D1 - D2) - (B1 - B2) \times f] \times P \quad (\text{식 2})$$

여기서, D1 : 15분간 방치된 후의 회석(조제)한 시료의 DO(mg/L)

D2 : 5일간 배양한 다음의 회석(조제)한 시료의 DO (mg/L)

B1 : 식종액의 BOD를 측정할 때 회석된 식종액의 배양전 DO (mg/L)

B2 : 식종액의 BOD를 측정할 때 회석된 식종액의 배양후 DO (mg/L)

f : 회석시료 중의 식종액 함유율 (x %)과 회석한 식종액 중의 식종액 함유율 (y %)의 비 (x/y)

P : 회석시료 중 시료의 회석배수 (회석시료량/시료량)

8.2 결과보고

분석결과는 소수첫째자리 까지 표기한다.

9.0 참고자료

9.1 US EPA Method 405.1, "Biochemical Oxygen Demand(5 days, 20℃)", EPA, (1974).

9.2 APHA, AWWA, WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th ed, Part 5210, "BOD", (2005).

9.3 DIN EN-1, 2, "Determination of Biochemical Oxygen Demand of Water after n Days", (2005).

9.4 JIS K 0400-21-10, "BOD5", 일본규격협회, (2005).

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정밀도	상대표준편차값 $\pm 15\%$ 이하
정확도	85 % ~ 115 %