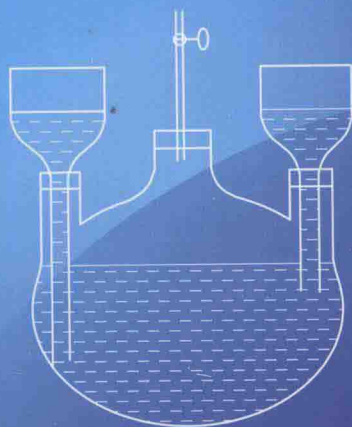


◎ 刘士清 张无敌 尹 芳 等编著

沼气发酵 实验教程

ZHAOQI FAJIAO
SHIYAN JIAOCHENG



化学工业出版社

沼气发酵实验教程

● 刘士清 张无敌 尹 芳 等编著



化学工业出版社

· 北京 ·

内 容 提 要

《沼气发酵实验教程》分为三篇。第一篇沼气发酵工艺参数的测定,设置了16个实验,包括TS(总固体)、VS(挥发性固体)、产甲烷菌计数、氧化还原电位、原料碳源等常规基本参数,以及营养与代谢产生的氮源,起辅助与调控的离子钾、钙、镁、铁与pH值测定,内容还涉及与环境、土壤肥料密切相关的相关参数测定的方法原理、具体研究与实验操作。第二篇沼气发酵中基础物质及相关活性生物酶测定,内容包括沼气成分分析、糖的含量测定和水解酶活性检测等,设置了12个实验。第三篇为沼气发酵实验,内容涉及原料产沼气潜力、甲烷活性以及甲烷毒性测定,共设置8个实验。

《沼气发酵实验教程》具有较强的专业特色,主要针对生物质能方向硕士研究生专业学习与完成研究论文而编写,也可供从事生物质能和环境治理以及农、林、牧行业的相关研究与开发人员借鉴。

图书在版编目(CIP)数据

沼气发酵实验教程/刘士清,张无敌,尹芳等编著. —北京:化学工业出版社,2013.9

ISBN 978-7-122-18086-5

I. ①沼… II. ①刘…②张…③尹… III. ①甲烷-发酵-实验-教材 IV. ①S216.4-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第176796号

责任编辑:袁海燕
责任校对:宋 玮

装帧设计:刘丽华

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 刷:北京云浩印刷有限责任公司

装 订:三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张15 $\frac{3}{4}$ 字数408千字 2013年10月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:45.00元

版权所有 违者必究

《沼气发酵实验教程》 编写人员

刘士清 张无敌

尹 芳 孙培培

林卫东 王 强

前言

虽然早在 1630 年比利时布鲁塞尔的医生 Van Helment 就已经认识到了沼气,但对沼气发酵的科学认识却始于 1901 年。百年来,沼气的发展十分迅速,沼气微生物的研究从技术方法、群体代谢、个体水平到分子生物学、基因研究、*Methanococcus jannaschii* 全基因组序列的测定,沼气发酵从工艺过程到设备配套技术,沼气技术的应用从废弃物能源利用到环境和生态的可持续发展等方面均取得了长足的发展。

在产甲烷菌的研究方面,个体产甲烷菌的分类地位逐渐提高,短短几十年,产甲烷菌由一个科上升至 5 目、10 科、26 属;对产甲烷菌细胞壁结构、膜质成分、16S rRNA 亲缘关系、7 种辅酶因子形成甲烷的机制等的揭示,改变了种系发生的传统二分法理论,提出了生命三领域学说 (Three Domains Theory): 古核生物 (arachaea)、细菌 (bacteria) 和真核生物 (eucarya)。在沼气发酵的工艺方面,从简单的沼气发生器出现后,先后又提出和发展了一系列工艺技术,如高速消化器、厌氧接触消化器、UASB、AF、两相厌氧消化器、厌氧流化床和厌氧膨胀床等,这些技术的开发和应用拓宽了厌氧消化技术的服务范围,大大提高了厌氧消化的效率。从能源的开发与利用来看,沼气技术利用有机废弃物生产能源,即在有效治理有机污染的同时开发清洁能源;这种能源开发利用方式能够保持大气中二氧化碳的循环,或二氧化碳零排放。

沼气发酵系统涉及内容广泛,理论、应用与实践共同发展,多学科交叉与渗透十分突出,沼气的推广应用涉及多部门间的合作与协调。既有基础微生物学、分子生物学研究,又有发酵工程的内容;既有工艺学的研究,又有工程的建筑与设计;既有微生物代谢与代谢产物的研究,又有沼气发酵残留物的各种综合利用;既有废物的处理与能源利用,又有环境与生态工程的实践;既有以沼气为纽带的可持续农业理论探索,又有各种生态农业模式的涌现;既有农村家用沼气池的应用,又有大中型沼气工程的运行;既有禽畜场大中型沼气工程、工厂有机废水处理沼气工程,又有城镇生活污水沼气净化工程。

沼气发酵是生物质能源转化的有效形式之一,特别是对于解决农村能源以及治理有机废物和废水环境污染等问题具有重要的作用。我国农村沼气 30 多年来的实践表明,沼气在解决我国农村能源方面发挥着积极的甚至是不可替代的作用;以沼气为纽带的生态农业建设,取得了长足的发展,南方“猪-沼-果”、北方“四位一体”、西北“五配套”生态模式有力地促进了农村经济的可持续发展;“三结合”、“一池三改”的农村沼气建设,改善了农村环境卫生,整治了村容村貌,有效地促进了新农村的建设。我国农村沼气建设成功的经验已被世界所认识,在发达国家资金的扶持下,发展中国家农村沼气建设正在蓬勃发展,2008 年荷兰政府启动了非洲沼气行动计划,荷兰政府在全球筹资 20 亿欧元,将用十年的时间在非洲建设 200 万个农村家用沼气池;亚洲银行出资,其中 2/3 是补助资金,1/3 是贷款,支持亚

洲发展 150 万个农村家用沼气池。

20 世纪 80 年代以来厌氧消化技术应用于有机废水的处理, 各种厌氧消化工艺趋于成熟和高效, 在污水处理方面发挥着越来越重要的作用。面对养殖场大量的粪便废水, 最有效的处理方法就是厌氧消化, 这种处理方式实现了粪便废水的资源化利用, 在环境污染的治理中获得较好的经济收益。以沼气工程为纽带, 将污染治理转化为资源开发的优势, 用环保治理拉动企业的可持续发展, 使环保产业作为产业建立的基础, 建立饲料 (feed)、肥料 (fertilizer)、食品 (food) 和能源/燃料 (fuel) 的 4F 循环经济模式, 最终获得能源、社会、生态/环境和经济四大效益, 实现区域的可持续发展。

截至 2011 年底, 全国户用沼气达到 3996 万户, 占乡村总户数的 23%, 受益人口达 1.5 亿多人; 中央支持建成了 2.4 万处小型沼气工程和 3690 多处大中型沼气工程, 多元化发展的新格局初步形成; 全国乡村服务网点达到 9 万个、县级服务站 800 多个, 服务沼气用户 3000 万户左右, 覆盖率达到 75%, 以沼气设计、沼气施工、沼气服务、沼气装备和“三沼”综合利用为主要内容的产业化体系初步建立。农村沼气从小工程做成了大产业, 把小环境变成了大生态, 由小项目形成了大事业。通过发展农村沼气, 有效防止和减轻了畜禽粪便排放和化肥农药过量施用造成的面源污染, 对实现农业节本增效、循环发展, 提高农业综合生产能力和竞争力发挥了重要作用; 增强了应对气候变化和保障能源安全的能力, 对减少化石能源消耗、改善农村用能结构和应对气候变化发挥了不可替代的作用; 实现了粪便、秸秆、有机垃圾等农村主要废弃物的无害化处理、资源化利用, 使困扰新农村建设的诸多“脏乱差”环境问题得到了有效解决, 提高了农民生活质量, 改善了农业农村生产生态环境, 成为了新时期重要的农村民生工程和新农村建设的一大亮点。

目前, 许多大专院校的农业工程专业, 均开设了沼气技术相关的课程, 而沼气技术本身是一门实验与实践较强的专业课, 从课程建设来看, 国内没有一本关于沼气实验方面的教材, 我们将多年硕士研究生的教学实验进行整理, 并参考相关书籍编写了《沼气发酵实验教程》。该书具有较强的专业特色, 主要是针对硕士研究生专业学习与完成研究论文而编写, 同时兼顾相关生物质能专业的本科生学习与基本技能训练, 对相关专业的博士研究生也具有资料丰富性、内容新颖性和思考题启发性的参考价值。应用该书的人员除具备一定的化学基础外, 还需具备一定的生物化学与微生物学基础知识。每个实验是一个相对独立的整体, 思考题则多以具体研究设计形式出现, 要求理论与实际相结合, 用提示的方式给出现阶段技术可行的参考方法与思考。该书不仅是硕士研究生与本科生教学的参考用书, 对于高等院校科研院所的科技人员与博士研究生也有参考价值和一定的指导意义。可供从事生物质能和环境治理以及农、林、牧行业的相关研究与开发人员借鉴。

虽然《沼气发酵实验教程》是根据多年的教学经验总结而成, 并参考了大量的文献资料, 但终因水平有限, 疏漏之处一定不少, 恳请读者批评指正。

张无敌于云南师范大学

2013 年 8 月

目录

第一篇 沼气发酵工艺参数的测定

实验 1	沼气发酵原料和料液的总固体 (TS) 含量测定	2
实验 2	原料和料液的挥发性固体 (VS) 含量和灰分测定	5
实验 3	溶解氧 (DO) 测定——碘量法	7
实验 4	COD _{Cr} 测定	11
实验 5	BOD ₅ 的测定	15
实验 6	总有机碳 (TOC) 的测定	21
实验 7	氨态氮 (NH ₄ ⁺ - N) 的测定	26
实验 8	总氮 (N) 素的测定	30
实验 9	磷和总磷的测定	36
实验 10	钙 (Ca ²⁺) 的测定——EDTA 滴定法	46
实验 11	钾 (K ⁺) 的测定——四苯硼钠法	53
实验 12	铁 (Fe) 的测定——邻菲啰啉比色法	61
实验 13	氧化还原电位测定法	68
实验 14	沼气发酵原料和料液的 pH 值测定	73
实验 15	产 CH ₄ 菌的 MPN 法计数	77
实验 16	燃烧热测定	81
参考文献		87

第二篇 沼气发酵中基础物质及相关活性生物物酶测定

实验 17	还原糖与总糖的分析测定	94
实验 18	淀粉分解酶的测定分析	104
实验 19	蔗糖酶的测定分析	111
实验 20	半纤维素的分离提取与分析测定	114
实验 21	半纤维素酶(木聚糖酶)的分析测定	127
实验 22	纤维素的分析测定	139
实验 23	纤维素降解酶的分析测定	145
实验 24	木质素的分离提取与分析测定	153
实验 25	木质素降解酶的分析测定	165
实验 26	脱氢酶的分析测定	186
实验 27	蛋白质与蛋白酶的分析测定	193

实验 28 沼气发酵中气体成分测定方法 202

参考文献 204

第三篇 沼气发酵实验

实验 29 农作物秸秆及畜禽粪便批量发酵实验 214

实验 30 农作物秸秆及畜禽粪便连续发酵实验 217

实验 31 厌氧污泥的产甲烷活性测定 221

实验 32 厌氧生物可降解性测定 226

实验 33 产甲烷毒性的测定 230

实验 34 反应器内污泥量的测定 237

实验 35 生物化学甲烷势的测定 239

实验 36 UASB 反应器处理有机废水实验 240

参考文献 244

第一篇 沼气发酵工艺参数 的测定

实验 1

沼气发酵原料和料液的总固体(TS)含量测定

1. 测定意义

在生物质能应用与研究的沼气发酵中，总固体（total solids，简称 TS）是一项重要的基础性测定指标。某一特定发酵原料的总固体数据，用以计算沼气发酵的投料量和确定发酵池的负荷。目前，通常以每单位质量的总固体产气量来表示发酵原料的优劣，即 TS 产气率。

2. 总固体测定方法

2.1 固体物料样的测定方法

将洗净的瓷坩埚放于烘箱内 $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 温度下烘干至恒重，存于干燥器中冷却备用。

混合均匀的物料，取一定量放入已干燥的备用瓷坩埚内，用符合精度要求的天平称重，于烘箱内 $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 温度下烘干 3~4h，移入干燥器内冷却后称重，再将已称重的瓷坩埚重新于 $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 烘 1h，再次称重之差不超过 0.01g。若样品量 $< 1\text{g}$ 时，要求保留三位有效数字。计算公式如下：

$$\text{总固体(TS)} = \frac{W_D}{W_S} \times 100\%$$

式中 W_S ——样品的质量，g，总质量减去瓷坩埚质量；

W_D ——烘干后的质量，g，烘干后的总质量减去瓷坩埚质量。

2.2 液体固形内容物较少的物料样测定方法

将洗净的 50mL 或 100mL 的瓷蒸发皿放于烘箱内 $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 温度下烘干至恒重，存于干燥器中备用。

准确取 25mL 搅拌混匀的液体物料，如果固体太少可增加取样量，于水浴上蒸干，移入 $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 烘箱内 4h 后取出，于干燥器内冷却后称重。再将已称重的蒸发皿重新于 $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 烘 1h，冷却再称重，如此反复直至恒重。计算公式如下：

$$\text{总固体(TS)} = \frac{W_D}{W_S} \times 100\%$$

式中 W_S ——样品的质量，g；

W_D ——烘干后的质量，g。

2.3 沼气发酵样物料液总固体的测定方法

生物质秸秆、畜禽粪便和污泥等原料以固体为主，TS 采用“固体物料样的测定方法”

进行分析。污水、沼气发酵液等以液体水分为主的物料，采用“液体固形内容物较少的物料样测定方法”进行分析。

物料沼气发酵潜力的研究与应用中，发酵前后的 TS 变化分析通常采用“固体物料样的测定方法”进行分析。具体为，将料液和接种物搅拌均匀，在搅拌均匀状态下，取混合物于烘干备用的瓷坩埚内，小心地在符合精度要求的天平上称重，置于搪瓷盘中再小心地放入烘箱内于 80℃ 左右温度下 3~4h 除去较多水分，升温至 105℃±5℃ 烘 3~4h，移入干燥器内冷却后称重，再将已称重的瓷坩埚重新于 105℃±5℃ 烘 1h，再次称重检验是否已烘干恒重。

3. 仪器

电热恒温干燥箱（烘箱），30cm×20cm 搪瓷盘，长 19~20cm 坩埚钳，25~30mL 的瓷坩埚，感量为 0.0001g 的电子天平。上口内径 25cm 左右的干燥器（内装经干燥备用呈绿色的颗粒硅胶）。

4. 实例

稻草 TS 的测定

- ① 取 4 个洗净的瓷坩埚置于 105℃±5℃ 温度下烘干，用坩埚钳小心夹取存放于干燥器中冷却后称重记为 W_1 ；
- ② 将样品稻草剪碎到长小于 1cm 或经粉碎的稻草糠样品，混合均匀后取适量装入瓷坩埚中，称重记为 W_2 ；
- ③ 已装有样品瓷坩埚置于搪瓷盘中，小心地放入烘箱内 105℃±5℃ 下干燥 3h，用坩埚钳移入干燥器内冷却后称重记为 W_3 ；
- ④ 再将已称重的瓷坩埚重新于 105℃±5℃ 烘 1h，再次称重 W'_3 ，检验是否已烘干恒重（即： $W_3 - W'_3 < 0.01g$ ）；
- ⑤ 计算稻草样品： $TS = (W_D \div W_S) \times 100\%$ ；
样品重量： $W_S(g) = W_2 - W_1$ ；
样品干重： $W_D(g) = W_3 - W_1$ 。

实验数据记录参考表

日期	编号	W_1	W_2	W_S	W_3	W_D	TS/%	W_4	W_A			

思考题

1. 含水量较多的样品为什么要用 80℃ 预处理? (提示: 样品黏度较大时会发生的现象。)
2. 请列举在 TS 测定过程中应注意的事项。(提示: 以不同原料样品分别举例说明。)
3. 物质含水量与 TS 有何关系?

实验 2 <<<

原料和料液的挥发性固体(VS)含量和灰分测定

1. 测定意义

在沼气发酵中，挥发性固体（volatile solids，简称 VS）也是一项重要的基础性测定指标。某一特定发酵原料的总固体数据，用以计算沼气发酵的投料量和确定发酵池的负荷。目前，通常以每单位质量的总固体或挥发性固体的产气量来表示发酵原料的优劣。尤以后者具有更重要的意义，是真正生物质的成分。

按照挥发性固体在进出料时分别测定的值，可以计算出挥发性固体的分解率，一个特定物料分解率的大小可以较好地反映沼气发酵池的发酵状况，反映发酵物料的有效利用率。

2. 测定方法

第一步，同实验 1 一样各样品需经测定 TS 值的各步骤，取得 TS 所需各数值，实验数据记录延用实验 1 中的“实验数据记录参考表”。

第二步，已获取测定 TS 所需各数值的样品移入马弗炉中，在 $550^{\circ}\text{C} \pm 20^{\circ}\text{C}$ 燃烧 1h，待炉温下降至 100°C ，用长 30~40cm 坩埚钳取出于干燥器内冷却，称重 W_4 ，再将已称重的瓷坩埚重新移入马弗炉中重复燃烧 1h，再次称重 W'_4 ，检验是否已燃烧完全（即： $W_4 - W'_4 < 0.001\text{g}$ ）。

3. 实例

稻草挥发性固体（VS）含量和灰分测定

将实验 1 中以稻草为例测定 TS 已获取各数值的样品，移入马弗炉中进行第二步过程，得到 W_4 数值。

计算稻草样品的
$$\text{VS} = \frac{W_D - W_A}{W_S} \times 100\%$$

式中 W_S ——样品质量，g；

W_D ——烘干质量，g；

W_A ——灼烧后的残留物质量同时也是灰分质量（g）： $W_A = W_4 - W_1$ ；

$W_D - W_A$ ——挥发成分质量，g。

$$\text{计算稻草样品灰分} = (W_A \div W_S) \times 100\%$$

思考题

1. 请分别写出样品干重表示的 VS 和灰分计算式。(提示: 烘干质量为分母。)
2. 以 $VS_{\text{进}}$ 和 $VS_{\text{出}}$ 分别为发酵进料和出料的 VS 值, 写出发酵原料的有效利用率计算式。
(提示: 在发酵过程中有液体体积的变化, 注意 VS 计算的分母。)
3. 为什么测定 VS 需经测定 TS 的步骤?
4. 若只测定灰分是否可以将样品装入坩埚直接燃烧完全, 请回答能或不能, 并说明为什么?

实验 3 <<<

溶解氧 (DO) 测定——碘量法

1. 基本概念及测定意义

水体中存在的分子态氧被称为溶解氧 (dissolved oxygen, 通常记为 DO)。溶解氧 DO 是指溶解于水中的氧的量, 以每升水中氧气的毫克数 (mg/L) 表示。DO 是水体经过与大气中氧气交换或经过化学、生物化学等反应后溶解于水中的氧。一定的水中溶解氧的含量与空气中氧的分压、水温、水的深度、水中各种盐类和藻类的含量以及光照强度等多种条件有关。另之, 水中溶解氧的含量与 BOD、COD 密切相关。在通常 15°C 、 101.3kPa 的空气中氧在水中的溶解度为 10.1mg/L , 100mL 水中可生成 $67\text{mgMnO}(\text{OH})_2$ 沉淀。氧在水中的溶解度不大, 并且是一个动态值, 但它的作用却举足轻重。

DO 可以直接反映水体污染的程度和评判海水的新鲜程度, 是反映水质质量好坏, 评价水体自净能力的一个重要指标。DO 是构建环境质量评价模型的重要参数和基础, 在有机生态肥料生产工艺过程和产品质量控制中、金属防腐工作中、细胞新陈代谢的生命科学中溶解氧的测定具有重要意义。在渔业上, 当水中溶解氧的含量低于 $3\sim 4\text{mg/L}$ 时, 许多鱼类都将因缺氧而死亡。一般溶解氧含量高, 表示水体自净能力较强, 溶解氧含量低, 水体自净能力差, 水体中污染物不易被氧分解, 鱼类也因得不到足够的氧气不能生存。厌氧性菌类会繁殖起来, 使水体发臭。

2. 溶解氧测定方法及原理

2.1 方法简评与选择

水中的溶解氧以分子态形式存在, 而溶解氧的测定, 从方法上一般分为: 化学法和仪器法。化学法为滴定法和目视比色法, 仪器法则包括光学分析法、色谱分析法和电化学分析法等。其中电化学法又分为极谱法、电位法、电量法、电导法和隔膜电极法 (传感器法), 隔膜电极再分为极谱型电极和原电池型电极。

化学法测定溶解氧, 主要是使溶解氧与各种还原性物质发生化学反应, 然后通过所用还原物质的量求出溶解氧的含量。许多化学法都是在碘量法的基础上改进的, 一般都属于容量法。

仪器法就是利用各种仪器测定溶解氧在化学反应过程中或其生成物的各种物理信号, 然后将这些信号转变成电信号, 或者直接测定溶解氧在电极反应中的电信号, 电信号再经放大处理或数模转换, 最后才将结果输出到仪器表头, 从而可以直接测出溶解氧的含量。

到目前为止测定溶解氧的传感技术已有很大的发展, 新型适用的产品也已出现, 但仍有

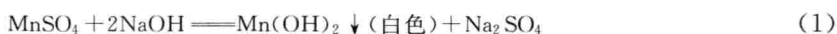
许多不尽人意的地方。化学法测定水中的溶解氧主要是碘量滴定法。作为测定水中溶解氧的经典方法,不少国家和地区仍采用碘量法作为标准方法。

碘量法测定 DO 的标准方法测定准确度高,但实际操作繁琐,且氧化还原类物质 Cl_2 、 NO_2 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、有机物及其色度、藻类、悬浮物等影响干扰,降低了测定的准确度。针对碘量法的不足,溶解氧测定有多种方法可以选择。对不同类型的水样含有的成分有所不同,在采样前弄清样品的特点后进行选择:①洁净的水体用标准碘量法直接测定;②水体中含亚硝酸盐过高时,用叠氮化钠修正法;③含 Fe^{2+} 离子在 1mg/L 以上时,用高锰酸钾修正法;④当水体有色或有悬浮物时,可选用明矾絮凝修正法;⑤当水体中含有氧化性或还原性物质时,可选用膜电极法;⑥有针对性地改良修正碘量法。

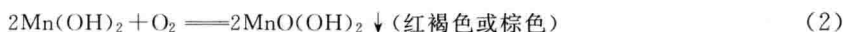
2.2 溶解氧测定标准碘量法原理

二价锰离子在碱性碘化钾溶液中,先产生白色 $\text{Mn}(\text{OH})_2$ 沉淀,当水中有溶解氧时, $\text{Mn}(\text{OH})_2$ 立即被氧化成棕色高价锰的氢氧化物 $[\text{MnO}(\text{OH})_2]$ 沉淀,此反应称为氧的固定。酸化后沉淀溶解使碘离子氧化成碘,游离碘用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标液滴定,最后由 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的用量求出溶解氧的含量。

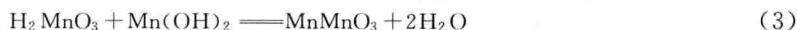
2.2.1 在碱性条件下,水样中溶解氧固定存在化学反应 (1)~(3):



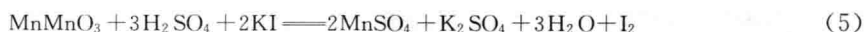
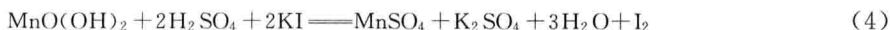
反应(2)出现的特征表示式有:



或, $2\text{Mn}(\text{OH})_2 + 1/2 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} = 2\text{Mn}(\text{OH})_3 \downarrow (\text{红褐色或棕色})$



2.2.2 再在酸性条件下,碘化钾析出与水中溶解氧相当数量的 I_2 。酸化显色时溶液水样中溶解氧多时,析出 I_2 的量就多,溶液颜色就深(棕色);水样中溶解氧少时,析出 I_2 的量就少,溶液颜色就浅(淡黄色或无色),其反应有如下表示式(4)、(5):



滴定时有化学反应(6):



2.3 仪器和试剂

2.3.1 仪器

250~300mL 溶解氧瓶,滴定管,250mL 锥形瓶,铁架台等。

2.3.2 试剂

① 硫酸锰溶液:称取 480g 硫酸锰 ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 或 $364\text{gMnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 溶于水,用水稀释至 1000mL。检验:此溶液加至酸化过的碘化钾溶液中、遇淀粉不得产生蓝色。

② 碱性碘化钾溶液:A. 称取 150g KI (或 135g NaI) 溶于 200mL 水中;B. 称取 500g NaOH 溶解于 700mL 左右的水中,待 NaOH 溶液冷却后,将 A、B 两溶液合并,混匀后用水稀释定容至 1000mL。如有沉淀,则放置过夜后,倾出上清液,贮于棕色瓶中。用橡皮塞塞紧,避光保存。检验:此溶液经酸化后,遇淀粉不应产生蓝色。

③ (1+5) 硫酸溶液:1 体积的 $\rho=1.84\text{g/cm}^3$ 浓硫酸与 5 体积的水所得硫酸溶液。

④ 1% (质量浓度) 淀粉溶液: 称取 1g 可溶性淀粉, 用少量水调成糊状, 再用刚煮沸的水冲稀至 100mL。冷却后, 加入 0.1g 水杨酸或 0.4g 氯化锌防腐。

⑤ 0.02500mol/L($1/6 \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 重铬酸钾标准溶液: 称取于 105~110℃ 烘干 2h 并冷却的重铬酸钾 1.2258g, 溶于水, 移入 1000mL 容量瓶中, 用水稀释至标线, 摇匀。

⑥ 硫代硫酸钠溶液: 称取 6.2g 硫代硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 溶于煮沸放冷的水中, 加入 0.2g 碳酸钠, 用水稀释至 1000mL。贮于棕色瓶中, 使用前用 0.02500mol/L 重铬酸钾标准溶液标定, 标定方法如下:

于 250mL 碘量瓶中, 加入 100mL 水和 1g 碘化钾, 加入 10.00mL 0.02500mol/L 重铬酸钾标准溶液、5mL (1+5) 硫酸溶液, 密塞, 摇匀, 于暗处静置 5min, 用待标定的硫代硫酸钠溶液滴定至溶液呈淡黄色, 加入 1mL 淀粉溶液, 继续滴定至蓝色刚好褪去为止、记录硫代硫酸钠溶液用量 $V(\text{mL})$ 。

$$\text{硫酸钠溶液的浓度 } C(\text{mol/L}) = (C_{\text{Cr}} \times V_{\text{Cr}}) / V$$

式中 C_{Cr} ——重铬酸钾标准溶液的浓度, mol/L;

V_{Cr} ——取用的重铬酸钾标准溶液的体积, mL;

V ——滴定时消耗硫代硫酸钠溶液的体积, mL。

2.4 测定方法操作步骤

2.4.1 取样

采集样品时, 注意不要使水样曝气或使气泡残存在采样瓶中。大水体采样, ①从有压力的管上取样时, 套在龙头上的玻璃管和橡胶管要触在采样瓶底 (溶解氧瓶), 先打开水龙头放几分钟让水溢流, 溢出瓶体体积的 3~4 倍, 然后盖好瓶盖, 加上封口水。②采集无压水样时, 可将采样器慢慢地放入水中, 在水面以下 3~4cm 处, 静止 10s 后, 轻轻将采样器水平提起, 尽快用虹吸法将水样转移到溶解氧瓶中, 充满水后溢流大约 3min, 轻轻盖好瓶盖。记录水样温度, 气压和气温等, 以便根据测定结果计算溶解氧的饱和百分率。③其他小水体采集, 主要以虹吸方法将待测水样注入溶解氧瓶, 导管插入到底部, 一边注水, 一边上提, 并在注入水有外溢后, 立即盖上橡皮塞, 塞下无气泡。④BOD₅ 测定溶解氧, 按 BOD₅ 的取水方法进行。

2.4.2 溶解氧的固定

用吸管插入溶解氧瓶的液面下, 加入 1mL MnSO_4 、2mL 碱性 KI 溶液, 盖好瓶塞, 颠倒混合数次, 静置。待棕色沉淀物降至瓶内一半时, 再颠倒混合一次, 待沉淀物下降到瓶底。一般在取样现场固定。

注意: ①各用一支专用吸管取试剂; ②加入试剂时, 吸管尖嘴要没入水样中约 0.5cm 的液面下。

2.4.3 酸化析出碘

轻轻打开瓶塞, 立即用吸管插入液面下加入 2.0mL 浓 H_2SO_4 。小心盖好瓶塞, 颠倒混合数次, 至沉淀物全部溶解为止, 放置暗处 5min。溶液中将有 I_2 析出而显色。

2.4.4 滴定

吸取 100.0mL 上述溶液于 250mL 锥形瓶中, 用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标液滴定至溶液呈淡黄色, 加入 1mL 淀粉溶液, 继续滴定至蓝色刚好褪去, 即为终点。记录硫代硫酸钠溶液用量。

2.5 计算

$$\text{溶解氧}(\text{O}_2, \text{mg/L}) X = 1000\text{MVC}/4V_0 = 8000\text{CV}/100 = 80\text{CV}$$

式中 X ——水中溶解氧的含量, mg/L;