

氣泡式呼吸儀生化需氧量 (RBOD) 測定誤差探討

洪瑞敏¹ 陳俊宏¹ 徐碧霜¹ 吳勇興² 江舟峰^{3*}

摘要

本研究採用氣泡式呼吸儀，為一種可藉量測需氧氣量(好氧)或產氣量(厭氧)以達到監測生物反應結果的程控式呼吸儀，其量測機制屬於累積式，有相當良好之信賴度。惟目前美國 Standard Methods 僅認可稀釋法(dilution method)為生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)的標準方法 (5210B)，而呼吸儀測定法(respirometric BOD, RBOD) (5210 D)，僅列為暫行方法(tentative method)。兩種方法比較，雖然生化反應原理類似，但測定程序及方法有相當顯著的不同。本研究使用 5210 D 方法，以葡萄糖-麩胺酸(GGA)為標準樣品，研究目的為探討以氣泡式呼吸儀測定 RBOD 時之誤差來源，並藉由統計方式，評估在測定初期與後期這些誤差對測定結果的相對重要性，研究結果對於本研究團隊進行後續短暫生化需氧量(BOD_{ST})之研究有相當助益。

本研究進行 GGA 八重複、植菌控制 4 重複量測，並評比電解瓶及液體置換法進行 5 重複氣泡校正。考量 GGA 之測定值可能與累積氣泡數 (N_B)、細胞校正係數 (f)、及植菌測定結果有關，選擇每 10 分鐘為時距，將 GGA 測值標準偏差(S_Y)與 N_B、f 標準偏差(S_f)、及植菌測值標準偏差(S_s)等三種變數進行複線性迴歸分析。

研究結果顯示，電解瓶及液體置換法之 f 值分別介於 0.066~0.070 及 0.060~0.066 mg-O₂/Bubble，與原廠建議值之 0.050~0.055 mg-O₂/Bubble 比較，偏高 18.2~25.7 %；而其變異係數(Cv)分別為 0.2~1.0 % 及 0.5~1.9 %，符合原廠建議值 3.0 % 之要求，但因液體置換法可以較大流量進行校正，所需時間較短，建議可以液體置換法取代電解瓶法。

GGA 八重複分析結果：RBOD₅ 平均值為 303.9 mg/L、S_Y 為 17.4 mg/L (Cv = 5.7 %)。四重複植菌控制為：RBOD₅ 平均值 17.4 mg/L、S_s 為 2.2 mg/L (Cv = 12.6 %)。以有效樣本 708 組數據進行統計分析，其迴歸方程式如下所示：

$$S_Y = 0.2222 \times N_B + 1288.88 \times S_f + 0.0026 \times S_s \quad R^2 = 0.87$$

上式中 N_B、S_f 及 S_s 係數之標準誤差分別為 9.71×10^{-5} 、252 及 0.006，R² = 0.87，95 % 的統計顯著水準，F 值為 53310，顯示方程式推估 S_Y 值較以平均數預測為佳。進一步檢視數據，顯示以氣泡式呼吸儀測定 BOD 時，其測定誤差初期(<12hr)主要受植菌誤差影響，後期主要受 GGA 累積氣泡數誤差影響，而 S_f 則為系統誤差，應可視為常數值。故當樣品之攝氧量愈高時 (N_B 值越大)，植菌誤差愈可忽略。

關鍵字：生化需氧量、氣泡式呼吸儀、誤差分析、多變量迴歸分析

一、前言

生化需氧量(BOD)的測定是一項相當重要的環境監測指標，非但可以做為河川水域的環境品質標準，世界各國也廣泛地將 BOD 納入重要的廢污水排放標準。在測定原理上，BOD 是指利用好氧性微生物，在足夠的營養源下，於 20 °C 下，培養一段時間時基質(substrate)所耗用分子態氧的當量。一般而言以 5 天為測試時間，故稱五天生化需氧量(BOD₅)，但歐盟也有以七天為測試時間。

-
1. 朝陽科技大學環境工程與管理研究所 碩士班
 2. 中興大學環境工程研究所 博士班
 3. 朝陽科技大學環境工程與管理研究所 副教授兼系主任

一定量之待測樣品加入 300 mL 之 BOD 瓶內，在以含營養源之飽和溶氧稀釋水進行稀釋，稀釋的目的是在五天耗氧過程中，水中有足夠的溶氧(DO)，確保反應在好氧(DO > 1.0 mg/L)進行 BOD 測定時，目前世界各國通用的標準方法為稀釋法(dilution method)，測定時將條件下進行(1)。但稀釋法歷經長達一個世紀的研發訂定(2)，雖能模擬廢污水排入承受水體的情況，但因其理論基礎係依據經驗法則(empirical guideline)，是故歷年來美國標準方法(standard method)，已訂定出一套相當複雜的品管基準，以確保其試驗結果之可信賴度。江舟峰及紀子文(3,4)，探討稀釋法之品管基準，並以系統的方法加以歸納，包括五天攝氧 > 2 mg/L、殘餘五天溶氧 > 1 mg/L 及植菌耗氧 0.6~1.0 mg/L 等。

呼吸儀測定法首度於 1995 年第 19 版之 Standard Method 提出(5)，但迄今仍僅能被定位為暫行方法(tentative method)(1)。主要是因為測定條件，如初始基質與植菌比(S_0/X_0)、攪拌程度、呼吸儀型式與操作技術等均會影響測定結果，而且其測定結果，很難與稀釋法直接比對(6,7)。但近年來因呼吸儀的技術大幅提升，且可程控化及達到即時監控的目的，以呼吸儀測定 BOD 已是普遍的共識，此外其精確性較高，變異係數僅 3~5 %，另原水樣不需大量稀釋，較能準確測定基質之生物分解性。本研究的目的為利用氣泡式呼吸儀，以葡萄糖及麩胺酸(GGA)之標準溶液進行測試，以統計迴歸方法探討測值之標準偏差誤差來源，研究結果可對於本研究團隊進行後續短暫生化需氧量(BOD_{ST})之研究有相當助益。

二、 研究方法

本研究使用電解瓶及液體置換法各進行 5 重複的細胞元件的氣泡校正。設計八重複的 GGA 標準樣品及 4 重複的植菌控制，進行 BOD 測試。考量 GGA 之測定值可能與累積氣泡數 (N_B)、細胞校正係數 (f)、及植菌測定結果有關，選擇每 10 分鐘為時距，將 GGA 測值標準偏差(S_Y)與 N_B 、 f 標準偏差(S_f)、及植菌測值標準偏差(S_s)等三種變數進行複線性迴歸分析，詳細方法說明如下。

2.1 細胞元件校正

氣泡式呼吸儀採以紅外線(LED)偵測氣泡經過細胞元件內的細胞油時，所產生之微量電壓差而進行計數，由於個別細胞元件間的差異性，特別是細胞油液面高度，將導致個別細胞元件產生單位氣泡體積(或質量)的差異，影響最終實驗結果，故須進行細胞元件校正。

細胞元件校正前應先調整細胞油液面高，使所有欲進行實驗之細胞元件有相近之液面高。再將所有細胞元件與細胞基座聯通，同時設置水封瓶，進行供氧測試，並調整細胞油液面高，使各別細胞元件能均勻產生氣泡，並確認無短流現象。同時檢查呼吸儀界面組與電腦間之資料傳輸設定正確，啟動電腦數據接收處理軟體系統，將各細胞元件之校正係數(f 值)設定為 1，使其為進行氣泡數累計。校正時須待細胞元件穩定產生氣泡後，始可計算所產生之氣泡數進行校正。

本研究選擇 2 種細胞元件校正方法，第一種為電解瓶校正法，為氣泡式呼吸儀原有配件，電解瓶內應置入 1N 的 H_2SO_4 電解液 100 mL，其原理在於利用穩定電壓，電解水產生氧氣。校正時將氧氣端出口接管至細胞元件之入口端，氫氣端則與大氣相通。

依據 CES 公司所提供之產品規格及操作說明書，低電解速率為 0.5mg- O_2 /min。計算求得校正係數(calibration factor)，計算公式如下：

$$f \text{ (mg-}O_2\text{/bubble)} = (0.5\text{mg-}O_2\text{/min)} \times t \text{ (min)} \div n \text{ (bubble)} \quad \text{公式 1}$$

重複進行五次校正，並計算校正係數的變異係數(Cv)，Cv 值須小於 3.0 %，取五次之平均值為該細胞元件之校正係數。另一校正方法為本研究嘗試以滴定管及水封瓶裝置，以液體置換方式進行校正。其校正程序說明如下：

1. 調整細胞油液面高及檢查呼吸儀及電腦間的設定。
2. 固定定量管高度，連接至水封瓶，再由水封瓶氣體出口接管至 Cell 的進氣端接頭。

3. 調整定量瓶之排水速度，約始氣泡產生速率接近每秒 3 個氣泡。
4. 操作定量管液面略高於零，待液面歸零時啟動呼吸儀紀錄氣泡產生數，待液面通過設定點後停止紀錄。
5. 紀錄氣泡產生數，計算求取校正係數。步驟 6-7 重複進行 5 次。

2.2 GGA 標準溶液 RBOD 測定

本研究系統測試方法乃參考美國 Standard Methods，第 20 版(1)所載錄，電解式呼吸儀有關葡萄糖 - 麩胺酸(GGA)標準樣品的建議方法進行，詳細步驟及方法請參照 Standard Methods。

本研究以 GGA 標準樣品進行攝氧量(O_u)測試 RBOD，GGA 標準樣品配方參照 Standard Methods (1)。實驗之植菌來源，選擇朝陽科技大學生活污水處理廠之進流水，進流水水質之 COD 約為 250 mg/L，BOD 約為 150 mg/L，經過 6 小時的曝氣。

RBOD 測試分為實驗組及植菌控制組，且各設計八重複及四重複組，實驗目的在於測試在標準 GGA 配方下，活性污泥在恆溫(溫度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$)條件，培養五天之耗氧量。樣品組反應瓶內配置有 70 mL 植菌，GGA 標準樣品 5mL，以及營養鹽緩衝液 425 mL；植菌控制組則加入 70 mL 植菌，以及營養鹽緩衝液 430 mL，測試容積均為 500 mL。

實驗組及植菌控制組在呼吸儀系統設定及反應瓶配置完成後，即可進行測試實驗。根據 Standard Methods 之 QA/QC 要求，測試之溫度條件需在 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 下進行五天，則其耗氧量約為 260 ± 30 mg/L，數據之變異係數 $C_v(\%)$ 需小於 3~5 %。

2.3 多變量迴歸分析

考量 GGA 之測定值可能與累積氣泡數 (N_B)、細胞校正係數 (f)、及植菌測定結果有關，選擇每 10 分鐘為時距，將 8 重複 GGA 測值標準偏差(S_Y)與 N_B 、5 重複的 f 值標準偏差(S_f)、及 4 重複的植菌測值標準偏差(S_s)等三種變數，以 EXCEL 進行變異數分析(ANOVA)，以篩選影響 S_Y 較顯著的因子(判斷基準為 95 % 的信賴度下， F 分配測試的顯著值小於 0.05)，則方程式與 S_Y 有相關性。再以 t 檢定的 P 值確認 N_B 、 S_f 、 S_s 與 S_Y 相關的顯著性(P 值越小顯著性越高)，建立推估 S_Y 的複線性迴歸(multiple linear regression)方程式。

三、 結果討論

3.1 元件校正

本研究選擇 2 種細胞元件校正方法，分別為 CES 公司所提供之電解瓶校正法及本研究設計之液體置換法，進行細胞元件校正，校正結果如表 1~2 所示。

數據顯示以電解瓶進行校正，電解速率為 0.5 mg/min (標準狀況下，電解速率 = 0.38 mL/min)，校正之 f 值為 0.066~0.070 mg- O_2 /Bubble($C_v = 0.2\sim 1.0\%$)。而以置換法之校正結果，置換速率為 3.14~1.42 mL/min($\text{avg} = 2.25$, $\text{stdev} = 0.24$, $C_v = 10.75\%$)，校正係數 f 值則為 0.060~0.066 mg- O_2 / bubble($C_v = 0.5\sim 1.9\%$)。本研究校正之 f 值與 CES 公司建議值 0.050~0.055 mg- O_2 / bubble；許(8)的校正的 f 值 0.0495~0.0503 mg- O_2 / bubble ($C_v = 0.16\sim 0.27\%$)及 0.0492~0.0541 mg- O_2 / bubble ($C_v = 0.16\sim 0.57\%$)；以及蘇(9)的校正的 f 值 0.0483~0.0495 mg- O_2 / bubble ($C_v = 0.4\sim 0.8\%$)，約偏高 18.2~25.7 %，顯示 f 值校正可能因為個別實驗室的操作程序或是方法而產生差異 f 值的差異。惟 f 值亦僅提供氣泡數換算為供氧之質量數，且 f 值校正的 C_v 值均相當低，顯示有相當高的複現性，若能提供一管制樣品進行平行測試，則可澄清 f 值校正的誤差。建議對不同實驗室之呼吸儀之測試數據，於進行數據比對時，應平行實驗比對，例如可進行 GGA 之標準品系統測試。

表 1~2 中 f 值校正結果顯示，數據顯示兩種不同校正方法， f 值的變異係數(C_v)分別為 0.2~1.0 % 及 $C_v = 0.5\sim 1.9\%$ ，符合原廠建議值 3.0 % 之要求。進一步比對表 1~2 中的數據，發現不同校正方法會影響 f 值本身。但若相同的校正方法，則對於每個細胞元件的 f 值並沒有明

顯差異(標準偏差為 0.0012~0.0021 mg-O₂/ bubble, Cv 值為 1.73~2.93 %), 顯示在相同的校正方法下, 各別細胞元件的 f 值差異不大, 建議可採用單一校正係數, 以簡化校正程序及縮短校正所需時間。

再根據呼吸儀原廠對校正方法要求, 須統計超過 50 氣泡, 則累計約需產生 2.5~2.75 mg-O₂, 如此每個細胞元件校正約需 5~5.5 min。若再考量初期壓力平衡的時間, 則每個細胞元件校正約需 10~15 min 左右, 則完成 8 個細胞校正約需 2 hr 頗為耗時。而置換法氣體流量高於電解瓶校正方式甚多, 所需時間約 5 min/cell, 可大幅縮短校正所需時間。因此, 本研究建議以液體置換方式進行校正, 改善校正所需時間。

表 1 本研究細胞元件校正結果(電解瓶法)

編號	1st	2st	3st	4st	5st	6st	avg	std	Cv(%)
cell 1	0.0668	0.0677	0.0676	0.0677	0.0678	0.0679	0.0676	0.0004	0.5641
cell 2	0.0662	0.0653	0.0652	0.0661	0.0660	0.0651	0.0656	0.0005	0.7589
cell 3	0.0688	0.0689	0.0686	0.0694	0.0695	0.0692	0.0691	0.0003	0.5023
cell 4	0.0685	0.0683	0.0686	0.0687	0.0689	0.0687	0.0686	0.0002	0.3005
cell 5	0.0693	0.0691	0.0692	0.0696	0.0686	0.0692	0.0692	0.0003	0.4728
cell 6	0.0691	0.0701	0.0696	0.0695	0.0694	0.0693	0.0695	0.0003	0.4769
cell 7	0.0689	0.0687	0.0688	0.0689	0.0691	0.0689	0.0689	0.0001	0.1892
cell 8	0.0678	0.0676	0.0676	0.0668	0.0677	0.0679	0.0676	0.0004	0.5804
cell 9	0.0658	0.0657	0.0656	0.0667	0.0667	0.0669	0.0662	0.0006	0.8804
cell 10	0.0692	0.0693	0.0692	0.0691	0.0698	0.0691	0.0693	0.0003	0.3923
cell 11	0.0678	0.0688	0.0676	0.0681	0.0692	0.0692	0.0684	0.0007	0.9957
cell 12	0.0680	0.0686	0.0689	0.0688	0.0685	0.0688	0.0686	0.0003	0.4840
cell 13	0.0689	0.0693	0.0692	0.0676	0.0686	0.0692	0.0688	0.0006	0.9276
cell 14	0.0696	0.0695	0.0691	0.0701	0.0694	0.0693	0.0695	0.0003	0.4769
cell 15	0.0689	0.0691	0.0689	0.0691	0.0688	0.0683	0.0689	0.0003	0.4450
cell 16	0.0699	0.0698	0.0696	0.0696	0.0698	0.0700	0.0698	0.0002	0.2174
						avg	0.0685		
						std	0.0012		
						Cv(%)	1.73		

表 2 細胞元件校正結果(置換法)

編號	1st	2st	3st	4st	5st	avg	std	Cv(%)
cell 1	0.0600	0.0593	0.0600	0.0607	0.0607	0.0601	0.0006	0.9837
cell 2	0.0614	0.0607	0.0622	0.0614	0.0614	0.0614	0.0005	0.8520
cell 3	0.0622	0.0629	0.0622	0.0622	0.0614	0.0622	0.0005	0.8624
cell 4	0.0614	0.0607	0.0614	0.0607	0.0614	0.0611	0.0004	0.6552
cell 5	0.0614	0.0614	0.0607	0.0614	0.0614	0.0613	0.0003	0.5337
cell 6	0.0622	0.0614	0.0607	0.0600	0.0607	0.0610	0.0008	1.3686
cell 7	0.0600	0.0600	0.0600	0.0593	0.0600	0.0598	0.0003	0.5212
cell 8	0.0607	0.0614	0.0607	0.0622	0.0607	0.0611	0.0007	1.0813
cell 9	0.0622	0.0607	0.0600	0.0600	0.0607	0.0607	0.0009	1.4758
cell 10	0.0614	0.0622	0.0614	0.0622	0.0614	0.0617	0.0004	0.6647
cell 11	0.0662	0.0654	0.0654	0.0654	0.0654	0.0655	0.0004	0.5793
cell 12	0.0614	0.0614	0.0607	0.0614	0.0614	0.0613	0.0003	0.5337
cell 13	0.0671	0.0662	0.0662	0.0637	0.0654	0.0657	0.0013	1.9298
cell 14	0.0622	0.0622	0.0622	0.0645	0.0614	0.0625	0.0012	1.8959
cell 15	0.0614	0.0607	0.0614	0.0614	0.0614	0.0613	0.0003	0.5337
cell 16	0.0614	0.0614	0.0614	0.0607	0.0607	0.0611	0.0004	0.6552
					avg	0.06174		
					std	0.0017		
					Cv(%)	2.67		

3.2 RBOD 測定

GGA 八重複分析結果顯示 RBOD₅ 平均值為 303.9 mg/L, S_y 為 17.4 mg/L (Cv = 5.7 %)。四重複植菌控制之五天攝氧平均值為 17.4 mg/L, S_s 為 2.2 mg/L (Cv = 12.6 %)。與 Standard Methods 之 QA/QC 要求比較, 在相似的測試溫度條件 20 ± 1 °C 下進行五天, 本研究之測值(260 ± 30 mg/L)偏高 16.9 %, 但變異係數 Cv 約可符合要求(Cv < 3 ~ 5%)。

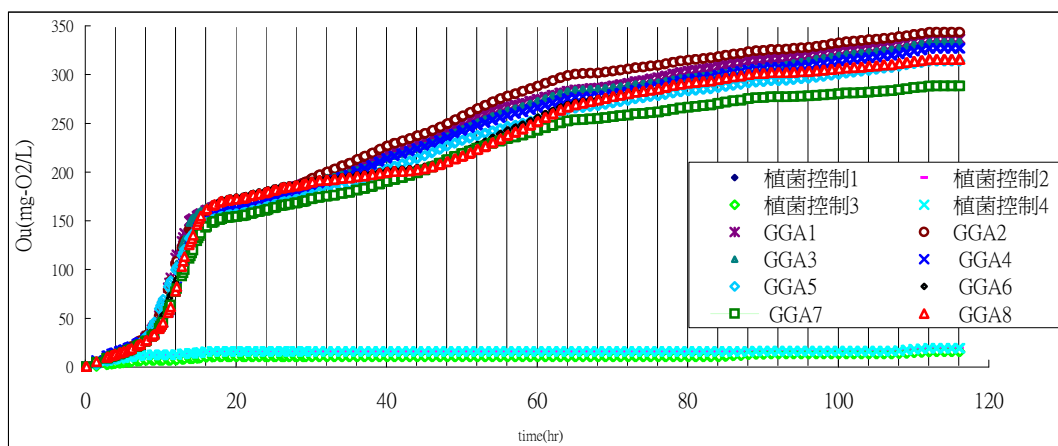


圖 1 GGA 及植菌控制組攝氧(Ou)曲線圖

表 3 GGA 測試結果表

	GGA-Ou	RBOD ₅
GGA1	336.4358	318.8238
GGA2	343.3198	325.7077
GGA3	333.6253	316.0132
GGA4	326.9857	309.3737
GGA5	313.9511	296.3391
GGA6	313.5234	295.9114
GGA7	288.3707	270.7587
GGA8	315.4990	297.8870
avg	321.4638	303.8518
stdev	17.44568	17.445679
Cv(%)	5.426949	5.7415084

表 4 植菌控制組測試結果表

	seeding-Ou
植菌控制 1	15.7434
植菌控制 2	19.5316
植菌控制 3	15.6415
植菌控制 4	19.5316
avg	17.6120
stdev	2.216897
Cv(%)	12.58741

本研究 GGA 標準品 RBOD 測試結果雖較 Standard Methods 的值高，與其他研究及原廠建議的 f 值比較，本研究的兩種校正方法均約高 20%。考量這部分誤差後， $RBOD_5$ 測值接近 Standard Methods 的建議值，顯示本研究的 f 值可能真有偏高的情況。則如此也顯示使用的 f 值於本研究中應相對的正確，則因為電解瓶與置換法校正的 f 值差異落在標準偏差內，說明電解瓶校正與置換法校正所得的 f 值並沒有明顯差異。至於為何本研究所校正的 f 值偏高，原因可能是細胞油液面較高或其他因素，尚待後續研究予以釐清。

3.3 誤差推估模式建立

將五天每十分鐘取得一個數據點的 708 組有效數據，假設每個時間點的數據均為獨立，而 RBOD 的計算為累積攝氧(Ou)扣除當時的植菌攝氧。以 EXCEL 套裝軟體進行複線性迴歸分析。則 t-test 分析結果顯示， N_B 、 S_f 及 S_s 的 p 值分別為 5.29×10^{-41} 、0.005 及 4.69×10^{-71} ，均小於 0.05 的統計顯著水準，複線性迴歸方程式如公式 2 所示，惟 S_f 的誤差於進行實驗時及設定，為一系統誤差，應為一常數值，可以公式 2 中之 S_f 係數值乘以 S_f 即可。

$$S_Y = 0.2222 \times N_B + 1288.88 \times S_f + 0.0026 \times S_s \quad R^2 = 0.87 \quad \text{公式 2}$$

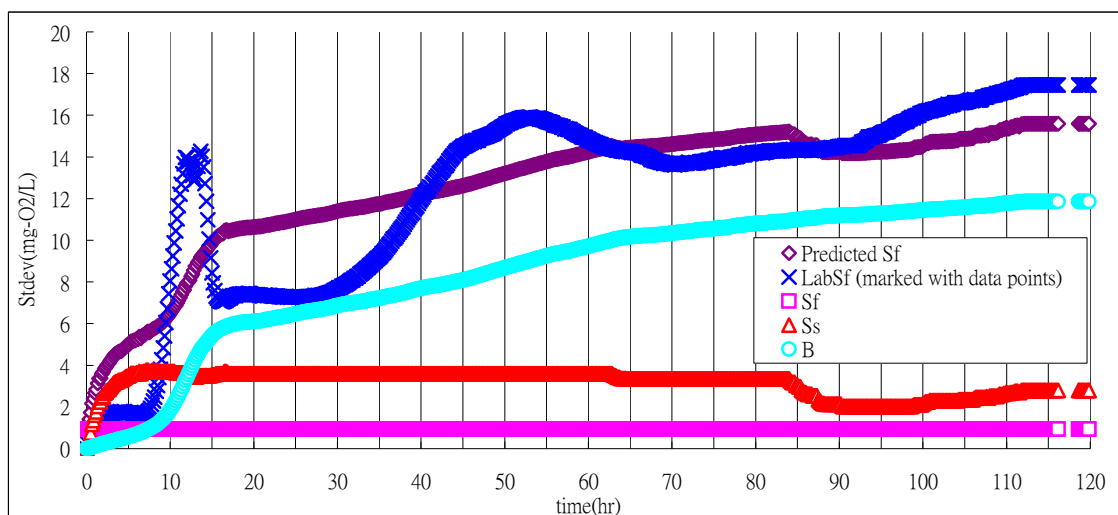


圖 2 本研究複線性迴歸公式 RBOD 測試誤差預測與實際值對照圖

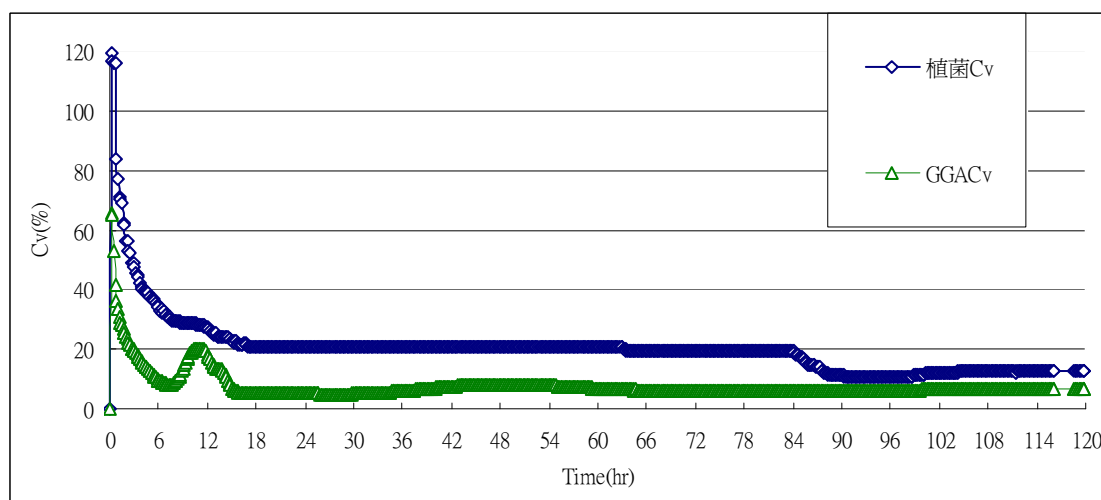


圖 3 本研究 GGA 測試 Cv 值變化趨勢圖

公式 2 中 N_B 、 S_f 及 S_s 係數之標準誤差分別為 9.71×10^{-5} 、252 及 0.006， $R^2 = 0.87$ 。ANOVA

分析結果顯示，95 %的統計顯著水準，F 值為 53310，顯示上述方程式進行 S_Y 值的預測較以平均數預測為佳。圖 2 中，實驗室的數據於第 12 hr 時，產生較高的標準偏差，可能原因為測試環境的溫度變化，使得反應瓶及細胞元件間的壓力改變，受此影響導致測試數據的差異增大，標準偏差也相對增大。而以複線性迴歸方程式推估的 RBOD 測試的標準偏差結果與實際實驗室值對照圖。圖 2 顯示，若以標準偏差為誤差判定，則氣泡式呼吸儀測定 RBOD 的誤差，初期(<12hr)主要受植菌影響，後期(>12hr)主要受 GGA 累積氣泡數的影響，而校正係數(f)的影響為一固定值，則 RBOD 測試樣品之攝氧量愈高時 (N_B 值越大)，植菌誤差愈可忽略。而由圖 3 的結果顯示，呼吸儀進行 RBOD 測定，無論 RBOD 測值或植菌攝氧初期 Cv 較高，主要受系統不穩定影響，後期(>12hr) Cv 值則趨近穩定。

四、 結論與建議

1. 校正方法評比結果顯示，各別細胞元件的 f 值差異 Cv 值約僅 3 %，建議應可考量採取單一細胞元件之校正係數(f)值作為所有元件之 f 值。
2. 液體置換校正法具有快速校正的優勢，然置換速率較高，也較不穩定，是其缺點。建議未來應進一步對此進行探討。
3. 數據顯示各別實驗室之 f 值可能有所差異，導致測試結果之差異。建議藉由平行測定標準樣品了解此一差異。則 f 值之差異問題，應獲得較可靠之了解。
4. GGA 八重複分析結果：RBOD₅ 平均值為 303.9 mg/L、SY 為 17.4 mg/L (Cv = 5.7 %)。四重複植菌控制為：RBOD₅ 平均值 17.4 mg/L、Ss 為 2.2 mg/L (Cv = 12.6 %)。與 Standard Method 對 GGA 的標準值(260 ± 30 mg/L)比對，RBOD₅ 數據偏高 16.8 %，但變異係數 Cv 則約可符合要求(Cv < 3 ~ 5%)。
5. GGA 標準品的 RBOD₅ 測試與 Standard Methods 標準值比較，測試值的誤差與 f 值與原廠的建議值的誤差相當，若測試誤差均為 f 值校正所貢獻的誤差，而電解瓶與置換法 f 值的差異落在標準偏差內，顯示電解瓶與置換法校正所得的 f 值並沒有明顯差異。
6. t-test 分析結果之 N_B 、 S_f 及 S_s 的 p 值分別為 5.29×10^{-41} 、0.005 及 4.69×10^{-71} ，均小於 0.05 的統計顯著水準，迴歸方程式如下所示：

$$S_Y = 0.2222 \times N_B + 1288.88 \times S_f + 0.0026 \times S_s \quad R^2 = 0.87$$

上式中 N_B 、 S_f 及 S_s 係數之標準誤差分別為 9.71×10^{-5} 、252 及 0.006， $R^2 = 0.87$ ，95 % 的統計顯著水準，F 值為 53310，顯示方程式推估 S_Y 值較以平均數預測為佳。惟 S_f 可視為系統誤差，以上述公式之 S_f 係數值乘以 S_f 即可之道系統誤差的影響。

7. 以氣泡式呼吸儀測定 BOD 時，其測定誤差初期(<12hr)主要受植菌誤差影響，後期主要受 GGA 累積氣泡數誤差影響，而 S_f 則為固定值。故當樣品之攝氧量愈高時 (B 值越大)，植菌誤差愈可忽略。至於實驗的 Cv 值，初期因系統變異較大，而測值相對的較小，因此 Cv 執較高，後期則因系統趨於穩定，且測值相對增大，則 Cv 質變小。

參考文獻

1. APHA, AWWA, and WEF (1998). *Standards for Examination of Water and Wastewater – Part 5220: Chemical Oxygen Demand*, 20th Ed. American Public Health Association, Washington D. C., USA
2. APHA, AWWA, and WEF (1960) *Standards for Examination of Water and Wastewater – Oxygen Demand (Biochemical)*, 11th Ed. American Public Health Association, Washington D. C., USA.
3. Chiang, C. F. and Chi, T. W. (2001) Assessment of alterations in the 2001 edition of BOD analysis of NIEA methods, *Journal of Chinese Institute of Environmental Engineering*.
4. 江舟峰、紀子文(2001)以稀釋法測定生化需氧量之品管基準與最新趨勢，朝陽學報。
5. APHA, AWWA, and WEF (1995) *Standards for Examination of Water and Wastewater – Part*

5210B: 5-Day Biochemical Oxygen Demand, 19th Ed. American Public Health Association, Washington D. C., USA

6. Young, J. C. and C. R. Baumann (1976a) "The electrolytic respirometer – I: factors affecting oxygen uptake measurements," *Wat. Res.*, 10 (11).
7. Young, J. C. and C. R. Baumann (1976b) "The electrolytic respirometer – II: use in water pollution plant laboratories," *Wat. Res.*, 10 (12).
8. 許以樺(2000)以高溫好氧處理油脂廢水可行性研究，中興大學環境工程研究所，碩士論文，台中。
9. 蘇世昌(1999)受多環芳香族碳氫化合物-奈污染環境之生物復育可行性研究，中興大學環境工程研究所，碩士論文，台中。

Error Analysis of BOD Measurement by Bubble-Generated Respirometers

Jui-Min Hung¹, Chun-Hung Chen¹, Pi-Shuang Hsu¹, Yeong-Shing Wu² and
Chow-Feng Chiang^{3*}

1 MS Student, Dept. of Environ. Engr. & Mang., Chaoyang University of Technology

2 PhD Student, Dept. of Environ. Engr., National Chung-Hsing University

3 Associate Prof., Dept. of Environ. Engr. & Mgnt., Chaoyang University of Technology

* Corresponding author: e-mail: chiang@mail.cyut.edu.tw

This study employed a bubble-generated programmable respirometer, capable of measuring oxygen uptake for aerobic reactions or gas production for anaerobic reactions. While the dilution method for measuring 5-day biochemical oxygen demand (BOD₅) has been recognized as the standard method (5210B), the respirometric BOD (RBOD) method is only proposed as a tentative method (5210D) and required more studies to assure test reliability. The two methods share with same biochemical mechanism, but their operating procedure are quite different. The main purpose of this study is to investigate the factors affecting the errors associated with the measurement of RBOD by the bubble-generated respirometer. The importance of this study is relayed to developing a short-term BOD measurement procedure as a follow-up of this study.

The glucose and glutamic acid (GGA) standard was analyzed for 8 replicates and seed control for 4 replicates. Two calibration procedures of electrolysis and liquid displacement were compared, each for 5 replicates. The accumulated bubble count (N_B), SD of the bubble calibration factor (S_f), and SD of seed control demand (S_s) are three chief consideration for the standard deviation (SD) of GGA oxygen demand (S_Y). For data generated each 10-minute interval, a multiple linear regression was applied to S_Y as a function of the three parameters: N_B , S_f , and S_s .

The results of bubble calibration showed that the calibration factor (f) ranged 0.066 ~ 0.070 mg-O₂/bubble for electrolysis and 0.060 ~ 0.066 mg-O₂/bubble for liquid replacement, respectively. This is 18.2 ~ 25.7 % higher than the range (0.050 ~ 0.05) suggested by the manufacturer. However, the variation coefficient (C_v) was 0.2~1.0 % for electrolysis and 0.5 ~ 1.9 % for liquid replacement, both meet the criteria of 3.0 % suggested by the manufacture. This study also suggests that the liquid replacement method is preferred over the electrolytic method at relative small calibration error because higher flow rate can be used to expedite the calibration time.

The results of eight-replicate GGA tests gave an average RBOD₅ (Y) of 303.9 mg/L with S_Y of 17.4 mg/L ($C_v = 5.7$ %). The four-replicate seed control tests yielded an average RBOD₅ (Y_s) of 17.4 mg/L with S_s of 2.2 mg/L ($C_v = 12.6$ %). The 708 sets of test results for 5 days were further analyzed by t-test. All estimated p-values less 0.05 (5.29×10^{-41} for N_B , 0.005 for S_f , and 4.69×10^{-71} for S_s), The correlation can be expressed by the following equation:

$$S_Y = 0.2222 \times N_B + 1288 \times S_f + 0.0026 \times S_s \quad R^2 = 0.87$$

The standard errors of the coefficients for N_B , S_f , and S_s in above equation were 9.71×10^{-5} , 252, and 0.006 with a R^2 of 0.87, statistically significant at 5.0 % level, F-value is 53310 large, implying that S_Y can be better predicted by the equation than at the S_Y average parameters. The equation also shows that S_Y was mainly caused by seed variation (S_s) in the early reaction (< 12 hr), and caused by the accumulated bubble count (N_B) in the later reaction. Therefore, the seed error could be neglected at the late reaction with large accumulated bubble counts.

Keywords : biochemical oxygen demand, Bubble-Generated Respirometers, Error Analysis, multiple linear regression