СОВЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ВЗАИМОПОМОЩИ

СОВЕЩАНИЕ РУКОВОДИТЕЛЕЙ

ВОДОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОРГАНОВ СТРАН-ЧЛЕНОВ СЭВ

**БИОХИМИЧЕСКОЕ ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА**

ЧАСТЬ I

Методы химического анализа вод

Том 1

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ

Издание четвертое

МОСКВА -1987

Оглавление

[БИОХИМИЧЕСКОЕ ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА 3](#_Toc332379528)

[ОПРЕДЕЛЕНИЕ БПК СТАНДАРТНЫМ МЕТОДОМ 4](#_Toc332379529)

[РЕКОМЕНДУЕМОЕ РАЗБАВЛЕНИЕ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОЙ ВОДЫ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ БПК5 И ОКРУГЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ 9](#_Toc332379530)

[ОПРЕДЕЛЕНИЕ БПК ПОЛНОГО С ПРИБАВЛЕНИЕМ ИНГИБИТОРА 12](#_Toc332379531)

# БИОХИМИЧЕСКОЕ ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА

Количество кислорода, израсходованное в определенный промежуток времени в процессе аэробного биохимического окисления органических веществ, содержащихся в исследуемой воде, называется биохимическим потреблением кислорода.

Ниже приводятся:

определение БПК стандартным методом с разбавлением

определение "полного" БПК сточных вод, с прибавлением ингибитора

определение БПК полного сточных вод по разностиХПК,

определение БПК речных вод методом продувания кислородом.

Первый метод используется для арбитражного анализа поверхностных и сточных вод. Второй и третий метод предназначен для исследования различных промышленных сточных вод с низкой концентрацией кислорода.

Пробы для определения БПК не консервирует. Биохимическое потребление кислорода определяют в пробах взболтанных, отстоянных или отфильтрованных. Предварительная обработка пробы зависит от цели анализа, характера исследуемого объекта или от указаний контрольногооргана. Способ предварительной обработки пробы приводится всегда вместе с результатами анализа.

Результаты определения биохимического потреблении кислорода приводят в миллиграммах на 1 л воды.

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ БПК СТАНДАРТНЫМ МЕТОДОМ

Определение проводят в первоначальной или соответственно разбавленной пробе по разности между содержанием кислорода до и после инкубации при стандартных условиях. Стандартной была принята продолжительность времени инкубация пять суток при температуре 20С без доступа воздуха и света. Потребление кислорода, определяемое при этих условиях, называется пятисуточным биохимическим потреблением кислорода - БПК.

Кроме этих условий, определяющих существ биохимического потребления кислорода, ход определенияограничивается следующими правилами, соблюдение которых необходимо для получения сравнимых результатов. В первую очередь необходимо строго соблюдать условия, при которых во время определения количестве кислорода соответствовало бы потреблению. Это зависит от степени разбавления проб с большим биохимическим потреблением кислорода, от применения одной н той же разбавляющей воды иот способа обработки веды перед анализом.

Содержание кислорода в анализируемой первоначальной или разбавлением пробы должно оставаться в течение всего времени инкубации таким, чтобы были обеспечены хорошие условия для протекания аэробных биохимических процессов. Эти условия будут соблюдены, если анализируемая пробаили смесь пробы с разбавляющей водой будет насыщена перед началом определения кислородом воздуха и если во время инкубационного периода произойдёт снижение концентрации кислорода на 2 мг/л и более, но так, чтобы остающаяся концентрация кислорода спустя пять дней составляла во менее 3 мг/л.

При анализе проб, обрабатываемых без разбавления, ограничение минимального потребления кислорода 2 мг/л неприемлемо, так как пробы с БПК ниже 2 мг/л будут иметь и более низкое потребление. Второе условие, касающееся остаточной концентрации кислорода после пяти дней инкубации / не менее 3 мг/л/, должно быть соблюдено.

Проба должна быть в начале опыта насыщена кислородом /приблизительно 6,8 мг/л при 20 С/. Приведённые условия обеспечивают для неразбавленных проб величину определяемого БПК от 0 до 6 мг/.

Пробы с более высокими величинами БПК анализируют после разбавления водой в таком соотношении, чтобы были соблюдены вышеприведённые оптимальными условиями /в начале определения насыщения кислородом, минимальное потребления 2 мг/л, остающаяся концентрация 3 мг/л. Разбавление пробы производят на основании предполагаемой величины БПК. Для приблизительного расчёта требуемого разбавления можно использовать величину окисляемости пробы в том случае, когда известно отношение между окисляемостью и БПК для данного вида воды. Пробы, для которых нельзя примерно рассчитать величину БПК, берут в двух и более разбавлениях. Результаты, получения при анализе проб с различными разбавлением, не должны быть одинаковыми. Наиболее правильным считается результат того определения, при котором было израсходовано приблизительно 50% первоначально присутствующего кислорода.

Для разбавления пробы применяв искусственна приготовленную разбавляющую воду, которая содержит минеральные питательные вещества в количестве, обеспечивающем нормальное протекание аэробных биохимических .процессов. Только в особых случаях применяют разбавляющую воду с добавкой хозяйственно-бытовой сточной или речной воды. Добавку выбирают с учетом характером анализируемой пробы и цели определения. При анализе вод, состав которых такой же, как и у хозяйственно-бытовых сточных вод или вод, очищаемых вместе схозяйственно-бытовыми сточными водами, для добавки применяют хозяйственно-бытовую сточную воду. При анализе сточных вод, сбрасываемые в реки, берут для добавки речную воду. В некоторых случаях целесообразно применять речную воду, взятую на несколько сот метров ниже спуска анализируемой сточной воды, так как она содержит адаптированные организмы, которые располагают содержащиеся в исследуемой сточной воде вещества.

Кроме пятиступенчатого биохимического потребления кислорода, которое рекомендуется как стандартный метод, можно определить БПК за любое количество дней., изменив соответственно инкубационный период, например БПК2 или БПК 20. В ряде случаев вычерчивают ход изменения величины БПК по времени.

Мешающие влияния.

Определение величин БПК5 зависит от процессов, которые протекают в пробе в период между ее отбором и обработкой. Чем продолжительнее это время, тем больше отклонения найденного значения от истинной величины биохимического потребления кислорода в момент взятия пробы. Поэтому взятую пробу необходимо обработать тотчас же.

В том случае, если невозможно выполнить анализ в день отбора пробы, ее сохраняют при низкой температуре в холодильнике, чтобы биохимические процессы, протекающие в пробе, шли с минимальной скоростью.

Все предварительную подготовку пробы проводят на месте отбора. В лаборатории нужно подготовленную пробу перемешать перед определением. Таким образом избегают ошибки, которая может возникнуть впоследствии изменения физических свойств грубо дисперсных примесей /способность к отстаканиванию, фильтрованию/ или выпадения некоторых растворенных веществ в период между отбором пробы и ее обработкой. Только при очень коротком интервале времени между отбором проб и ее лабораторной обработкой можно производить отстаивание или фильтрование в лаборатории.

Дли исключения мешающих влияний, возникающих в пробе в период между ее отбором и обработкой в лаборатории, начинать определение следует прямо на месте отбора пробы. В том случае необходимо соблюсти те же основные условия, как при лабораторной работе /хранение пробы' в темноте при температуре 20с/.

Некоторые виды сточных вод стерильны, другие содержат недостаточное количество микроорганизмов или не содержат те организмы; которые вызывает аэробное разложение органических веществ в условиях определения БПК. Для таких вод при анализе применяют разбавленную воду с добавками.

В водах, содержащих токсичные вещества в такой концентрации что их действие проявляется и после разбавления пробы, правильную величину определить невозможно. В таких случаях выбор условий определения решается индивидуально в соответствии с предварительной обработкой пробы в зависимости от вида присутствующих токсичных веществ.

Сточные воды, настолько кислые или щелочные, что реакция смеси пробы с разбавляющей водой лежит выше или ниже области рН 6-8, должны быть предварительно нейтрализованы. Нейтрализация кислых вод производится 1 моль/л раствором едкого натра, щелочных вод - О,05 моль/л раствором серной кислоты. В обоих случаях в пробе воды, отобранной для разбавления, прибавляют рассчитанное количество щелочи или кислоты. Требуемое количество определения титрованием аликвотной части пробы соответствующим раствором. Титрование производят до рН 7 визуально в присутствии бромтимолового синего или потенциометрического, с применением стеклянного электрода..

Воды, содержащие "активный хлор", перед определением должны быть обработаны сульфитом натрии. Производят обработку тех вод, которые после разбавления водой в отношении, необходимом для определения БПК, покажут после прибавления разбавления серной кислоты, иодида калия и крахмала положительную реакцию на "активный хлор". Количество раствора сульфита натрии, необходимое длявосстановлении хлора, определяют титрованием. К 100 мл пробы прибавляют 10 мл.разбавленной серной кислоты /1:40/, 10 мл раствора иодида калия /10%-ного/ и титруют 0,0125 мол/л раствора сульфита натрия применение раствора крахмала в качестве индикатора /раствор сульфита натрия приготовляют растворением 0,16 г. безводного Na2SO3 в 100 мл. дистиллированной воды непосредственно перед применением, так как раствор неустойчив.

К пробе, предназначенной для определения БПК, прибавляют эквивалентное количество раствора сульфита натрия, рассчитанное по результату описанного выше титрования, В случае, когда проба содержит еще в течение 10-20 мин "активный хлор', повторяют указанную обработку. Если же "активный хлор" был полностью устранен, пробу используют для определения БПК. Для разбавления пробы применяют разбавляющую воду с добавками.

Вещества, реагирующее непосредственно с растворенным кислородом, завышают результат определения БПК. Мешающее влияние этих веществ устраняют увеличением времени между разбавлением пробы водой или аэрацией пробы и фиксированием кислорода в кислородной склянке, предназначенной для определения кислорода в день отбора пробы. Кислород фиксируют черев 1 ч после разбавления или аэрации пробы.

В сточных водах, содержащих вещества, которые реагируют с элементарным йодом, описанное ниже определение кислорода провести невозможно. Для таких вод надо вычислить на основании расхода йода и разбавления пробы расход йода напредназначенного для определения БПК смесь пробы с разбавляющей водой. Если найденная величина будет превышать 3 мг йода на 1 л, то применяют способ определения кислорода, приведенный для подобных случаев в соответствующем разделе /см. 'Кислород"/.

Далее ход определения тот же. Если расход иода не будет превышать эту величину, то ход определения остается обычным.

Пробы, которые содержат большее количество водорослей или планктона, перед анализом фильтруют черев планктонную сетку /шелковое сито № 20/, что и указывается при записи результатов анализа. Результаты определения БПК в этих водах будут ненадежными.

Аппаратура

Кислородные склянки скосо срезанной притертой пробкой емкостью 250-300 мл, применяемые для арбитражного определений /100-300 мл - для остальных целей/ калиброванное с точностью до 0,1 мл, проверку емкости или калибровку производят взвешиванием. Объем кислородной склянки определяют вычитанием веса пустой высушенной склянки с пробкой из веса склянки, наполненной дистиллированной водой при 20С и закрытой пробкой. Перед взвешиванием необходимо тщательно высушить склянку, особенно ее горло. Можно также использовать специальные склянки с прошлифованными стеклянными колпачками.

Термостат , установленный на 20с, с доступным отклонением 1С. Целесообразно применять термостат с водяным охлаждением, который обеспечивает указанную температуру и в летнее время. В больших лабораториях можно использовать термостатные боксы или специальные помещения. В термостат помещают мелкие фотографические кюветы, которые служат после наполнения их дистиллированной водой водяными растворами для кислородных склянок. Склянки погружают в них пробкой вниз. Воду в чашках обновляют при каждом определение.

Устройство для аэрации с распределением вое духа через несколько трубок, которые могут быть снабжены стеклянными фильтрующими пластинками. Воздух пропускают через ватный фильтр и стеклянными фильтрующими пластинками

Мешалки или встряхивающие аппараты

Реактивы

Реактивы те же, что и для определения кислорода

*Дистиллированная вода.*дистиллированную воду, применяемую для приготовления всех далее приведенных растворов и приготовления разбавляющей воды, получают перегонкой воды в стеклянном перегоним аппарате. Вода не должна содержать вещества, оказывающие влияние на определении БПК/особенно меди - более 0,01 мг/л, цинка - более 1 мг/л; свободных хлора, хлорамина и органических веществ/. Присутствие меди, цинка и хлора проверяют методами, приведенными в соответствующих разделах.

Дистиллированную воду, предназначенную для приготовления разбавляющей воды, насыщают кислородом воздуха /свежеприготовленная дистиллированная вода аэрируется продолжительное время/ и при хранении тщательно предохраняют от какого бы то ни было загрязнения. Сосуды, предназначенные для этой воды, нельзя использовать для других целей /даже для приготовления разбавляющей воды/ Принимая о внимание рабочие условия, целесообразно чтобы дистиллированная вода имела температуру 20еС,.

Фосфатный буферный раствор , рН 7Г2, Раствор для приготовления разбавляющей воды 8,5 г КН?РО4, 21,75 г К2НРО4 ,33,4 г Na2НР04, 7 Н2О и 1,7 г NН4Cl растворяют в дистиллированной воде и доводят объел до 1 л /применяют реактивы ч.д.а./

Сульфат м а г н и я . Раствор для приготовления разбавляющей воды: 22,6 г MgSO4 7H2O, растворяют в дистиллированной воде и доводят объём до 1 л

Хлорид кальция. Раствор для приготовления разбавляющей воды: 27,6 г СаСl2 ч.д.а. безводного растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 1 л.

Этетлентиомочевинааллил-тиомочевина - 0,05 % - ной раствор .

Хлорид железа /Ш/. Раствор для приготовления разбавляющей воды: 0,25 г FeCl3 6H2O ч.д.а. растворяют в дистиллированной воде и доводят объём до 1 л.

Разбавляющая вода. Разбавляющую веду приготовляют из дистиллированной воды с температурой 20с, насыщенной кислородом воздухом. К 1 л прибавляют 1 мл фосфатного буферного раствора, 1 мл раствора сульфата магния, 1 мл раствора хлорида кальция и 1 мл раствора хлорида железа /Ш/ и I мл 0,05 -ного раствора этилентномочевины или аллилтиомочевины. разбавленную воду приготовляют в день применения.

Чистоту разбавляющей воды проверяют холостым опытам. Четыре кислородные склянки наполняют разбавляющей водой; в двух определяют кислород в день исследования проб/"нулевой" день/, а в остальных двух, которые помещают в термостат вместе с анализируемыми пробами, определяют кислород на пятый день. Разница средней концентрация кислорода в "нулевой" пробе и на пятый день не должна превышать 0,5 мг кислорода в 1л. Из результата определения БПК5 проб, разбавленных водой, величину холостого опыта не вычитают.

Разбавляют воду с добавками приготовляют прибавлением 1 мл свежей отстоявшейся хозяйственно-бытовой сточной воды /сохранявшего не более 24 ч/ или 10-20 мл речной воды к 1 л разбавляющей воды, приготовленной вышеописанным способом. Разбавляющую воду с добавками приготовляют в день применения.

Результаты определения БПК5 в пробах, разбавленных водой с добавками, должны быть скорректированы по количеству кислорода, израсходованного прибавленными добавками. Для этой цели определяют обычным способом БПК5 хозяйственно-бытовой сточной воды или речной воды, которые применялись в качестве добавок. По величине БПК5 определяют поправку, представляющую собой расход кислорода на то количество добавки, которое находится в 1 л смеси анализируемой пробы с разбавляющей водой. Поправку вычитают из результата, определяемого БРК5 исследуемой смеси.

Предварительная обработка пробы воды

Определение в первоначальной пробе. Пробу отбирают с учетов равномерного отбора растворённых веществ. В лаборатории перед началом определения всю пробу надо перемешать. Из бутыли с пробой отливают часть жидкости в другой сосуд, остаток тщательно взбалтывают таким образом, чтобы освободились вещества, задержанные на стенках бутылки. Затем содержимое бутылки прибавляют к отлитой в сосуд части пробы и всю жидкость снова тщательно взбалтывают /в случае необходимости - с помощью встряхивающего аппарата/ или перемешивают быстрой мешалкой, /миксером/.

Определение после отстаивания . Пробу на месте отбора наливают в цилиндр и нерастворённые вещества оставляют для отстаивания в течение определенного времени. Сифоном отбирают в бутыль для отбора проб верхние 3/4 прозрачного слоя жидкости над осадком. Конец сифона в цилиндр должен быть непрерывно погружен приблизительно да 3 см ниже поверхности жидкости. В лаборатории обрабатывают содержимое бутылки так, как описано ниже.

Определение после фильтрования . Пробу на месте отбора фильтруют через бумажный фильтр в бутыль. Первую часть фильтра отбрасывает. В лаборатории обрабатывают содержимое бутыли так, как описано ниже.

Приготовление неразбавленной пробы. При обработке пробы воды о предполагаемый пяти суточным биохимическим потреблением кислорода в пределах от 0 до 6 мг/л наливают в сосуд /колба или цилиндр емкостью 2 л/ около 1-1,6 л пробы. Проба должна иметь температуру 20±1°С и должна быть насыщена кислородом воздуха. При необходимости пробу подогревают или охлаждают до 20°С и насыщают кислородом при десятиминутной аэрация.

Приготовление разбавленной пробы. При обработке пробы воды с предполагаемым БПК6 выше 6 мг/л пробу необходимо разбавлять. Пробу отбирают пипеткой или мерным цилиндром. Наименьший отобранный пипеткой объем составляет 10 мл, цилиндром отмеряют не менее 50 мл. Если для анализа требуется меньшее количество пробы, производят постепенное разбавление разбавляющей водой. Объем пробы для анализа берут в соответствия с предполагаемой величиной БПК6. Пробу приготовляют в одно не разбавлений /см. табл. 8/ Отбирают часть перемешанной пробы и наливают в сосуд, прибавляют соответствующее количество разбавляющей воды или воды с добавками.

Смесь должна иметь температуру 20±1 С и должна быть насыщена кислородом воздуха. При необходимости смесь подогревают ила охлаждают до 20°С и насыщают кислородом аэрацией в течение 10 мин. Установление температуры и аэрация не нужны, если пробы разбавлены более чем 1:19 водой имеющей температуру 20°С и насыщенной кислородом воздуха.

# РЕКОМЕНДУЕМОЕ РАЗБАВЛЕНИЕ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОЙ ВОДЫ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ БПК5 И ОКРУГЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Разбавление R | Объём пробы в 1 л смеси в мл | Диапазон определяемого БПК5 в мг/л | Округление в мг/л |
| 1 | Неразбавленная проба | 0-6 | 0,1 |
| 0,5 | 500 | 4-12 | 0,2 |
| 0,2 | 200 | 10-30 | 0,5 |
| 0,1 | 100 | 20-60 | 1 |
| 0,05 | 50 | 40-120 | 2 |
| 0,02 | 201/ | 100-300 | 5 |
| 0,01 | 101/ | 200-600 | 10 |
| 0,005 | 52/ | 400-1200 | 20 |
| 0,002 | 22/ | 1000-3000 | 50 |
| 0,001 | 12/ | 2000-6000 | 100 |

1/ При отмеривании цилиндром следует провести добавочное разбавление.

2/ При отмеривании пипеткой следует провести добавочное разбавление.

Ход определения

 Пробу, приготовленную одним из предыдущих способов, наливают три кислородные склянки. Предварительно каждую кислородную склянку ополаскивают приблизительно 30 мл.пробы или смеси. Затем наполняют склянку до самого края так, чтобы не было пузырьков воздуха. Если проба или смесь, содержит грубодисперсные примеси, содержимое сосуда перемешивают перед каждым переливанием легким вращательным движением. Наполненную кислородную склянку закрывают пробкой так, чтобы внутри не оставалось пузырьков воздуха.

В однойиз трёх кислородных склянок тотчас же определяют кислород. Время между разбавлением пробы или ее аэрациейи фиксированием кислорода приопределенияконцентрации его в день отбора проба не должнобыть белее 15 мин.

Оставшиеся две кислородные склянки помещают в термостат в мелкие чашки, наполненные дистиллированной водой. Кислородные склянки помещают пробками вниз с погружёнными горлами в воду , которая образует водяной раствор. Дистиллированную воду в чашках обновляют при каждом определении. Кислородные склянки хранят при температуре 20С в полной темноте в течении 5 дней. По истечении этого времени в обоих кислородных склянках определяют концентрацию растворенного кислорода.

Расчёт

Пятисуточное биохимическое потребление кислорода в мг/л неразбавленных проб /х/, проб, разбавленных разбавляющей водой/у/, и проб, разбавленных разбавляющей водой с добавками /а/, вычитают по следующей формулам:



где а - концентрация кислорода в начале определения в мг/л;

b - концентрация кислорода па истечении пяти суnок в мг/л;

с - концентрация кислорода в разбавляющей воде или в разбавляющей воде с добавкой посева /результат холостого опыта/ в мг/л;

R - Разбавление.

Округление результатов

Результат округляют в соответствии с данными, приведенными в табл. 1. Для проб, определение которых проводилось при нескольких разбавлениях, приводят результат того определения, при котором было израсходовано приблизительно 50% кислорода от первоначального его содержания.

При записи результатов указывают применявшеесяразбааление /величина л табл.1. / и обязательно привадят данные об обработке пробы фильтрованием или отстаиванием.

Дополнения. Для контроля используют стандартный раствор глюкозы в глутаминовой кислоты /100 мг + 100 мг/л/, БПК5 которого 121 + 2 мг O2/л. Посев -бытовая сточная вода.

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ БПК ПОЛНОГО С ПРИБАВЛЕНИЕМ ИНГИБИТОРА

Состав промешенных сточных вод разнообразен, очень часто вещества, содержащиеся в сточных водах, сильно выделяют процесс биохимического окисления, а иногда оказывают токсическое действие. Однако известно, что микробы можно адаптировать /приспособить/ к использование различных соединений, и в той числе даже токсичных. При определении БПК промышленных сточных вод предварительная адаптация микрофлоры имеет решающеезначения. Для адаптации требуется определенный период времени.

При заражении неадаптированной микрофлорой лагфаза /фаза приспособления/ удлиняется не несколько дней; при незначительной адаптации лагфаза сокращается, а у хорошо адаптированной микрофлоры она отсутствует.

Помимо адаптации микробов скорость процесса зависит также от количества микробов, введенных для выражения /инокуляции/. При введении небольшого количества процесс вначале идет очень медленно, и лишь спустя двое-трое суток, а иногда и более, когда в склянке разовьется достаточное количество микробов, интенсивность процесса возрастает. Конечный результат будет тот же, что и призаражений большем количеством микробов, но он будет получен значительно позднее.

В связи о вышеизложенным значения БПК5 в значительной степени колеблются в математический перерасчет величин "полного" БПК по результатам, полученный для БПК2, БПК3, БПК5, невозможен.

Определить истинное значение "полного" БПК сложно, так как, когда в пробе остается малое содержание органических веществ, одновременно с их окислением идет процесс нитрификации.

Предлагаемый метод определения БПК, названного "полным", до появления нитритов в количестве 0,1 мг/л с достаточной полнотой характеризует ход процесса биохимического окисления.

Аппаратура

См. "Определение БПК стандартным методом".

Реактивы

См. "Определение БПК стандартных методов, введение микрофлоры для заражения.

Непосредственно перед применением разбавляющей воды в нее вводят культуру микроорганизмов, адаптированную в изучаемому составу сточной воды.

1. При наличии биохимических очистных сооружений, работающих на анализируемой сточной воде, для выражения используют микрофлору содержащуюся в очищенной жидкости /жидкость фильтруют через обычную фильтровальную бумагу/.

2. При отсутствии биохимических очистных сооружений для заражения могут быть использованы: речная вода, взятая ниже сброса производственных сточных вод примерно на расстоянии 0,25-0,5 км.