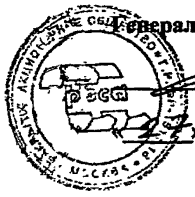
АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ЗАО «РОСА»
Отдел физико-химических методов анализа
Сектор общего химического анализа

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ЗАО «РОСА»



А.В. ЧАМАЕВ

«27» апреля 2016 г.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ПОСЛЕ 5 ДНЕЙ ИНКУБАЦИИ ($БПК_5$) В ПРОБАХ ПИТЬЕВЫХ, ПРИРОДНЫХ И СТОЧНЫХ ВОД АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

НДП 10.1:2:3.131-2016

Москва
2016 г.

gost.e-ecolog.ru

Сведения об организации-разработчике:

© ЗАО «РОСА», 2016
Адрес: 119297, Москва, ул. Родниковая, д. 7, стр. 35
Телефон: (495) 502-44-22
Факс: (495) 439-52-13
Электронный адрес: gost.e-ecolog.ru
Адрес сайта: gost.e-ecolog.ru

1 Настоящее издание методики действует до выхода нового издания.
2 Разработчик оставляет за собой право вносить в методику изменения, которые не касаются принципа метода и диапазона измеряемых значений, а также процедур, которые могут оказывать влияние на значения приписанных показателей точности.

РАЗРАБОТЧИКИ:

Начальник сектора общего химического анализа — Н.М. Бузырева

Инженер 2 категории — М.В. Куранова

СОГЛАСОВАНО:

Начальник отдела физико-химических методов анализа — Н.К. Куцева

Начальник отдела контроля качества — А.В. Карташова

ПРИЛОЖЕНИЕ

к свидетельству № 88-16207-027-RA.RU.310657-2016
об аттестации методики (метода) измерений
биохимического потребления кислорода ($БПК_5$)
в пробах питьевых, природных и сточных вод амперометрическим методом
на 1 листе
(обязательное)

Значения показателей точности измерений приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон измерений определяемой характеристики, значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности методики измерений

Диапазон измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm\delta$, %
Питьевая и природная вода			
От 0,5 до 1 включ.	12	23,5	47
Св. 1 до 10 включ.	8	19	38
Св. 10 до 1000 включ.	6	13	26
Сточная вода			
От 1 до 10 включ.	8	28,5	57
Св. 10 до 100 включ.	7	17,5	35
Св. 100 до 1000 включ.	6	14,5	29
Св. 1000 до 80000 включ.	5	10,5	21

Руководитель Центра «СЕРТИМЕТ» АХУ УрО РАН _____ Л.А. Игнатенкова

СертиМет

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий нормативный документ устанавливает методику определения биохимического потребления кислорода после 5 дней инкубации ($БПК_5$) амперометрическим методом. Методика распространяется на следующие объекты анализа: воды питьевые, воды природные пресные (поверхностные и подземные, в том числе источники водоснабжения), воды сточные (производственные, хозяйственно-бытовые, ливневые и очищенные).

Примечание – Допускается применение методики для анализа вод бассейнов и аквапарков, талых вод, технических вод и атмосферных осадков (дождь, снег, град).

Диапазон измерений массовых концентраций биохимического потребления кислорода в питьевых и природных водах от 0,5 до 1000 мг/дм^3 в пересчете на O_2, в сточных водах – от 1,0 до 80000 мг/дм^3 в пересчете на O_2.

Биохимическое потребление кислорода – это массовая концентрация растворенного в воде кислорода, потребленного на биохимическое окисление содержащихся в воде органических и (или) неорганических веществ за 5 суток инкубации при температуре (20 ± 1) °С без доступа воздуха и света. Этот показатель является некоторой условной мерой загрязнения вод органическими соединениями.

Для целей экологического контроля качества вод БПК определяют только в натуральной (взболтанной) пробе, чтобы учесть суммарное загрязнение находящимися в разных формах веществами. При эксплуатации очистных сооружений для оценки процесса очистки на разных ее этапах возможно определение БПК в натуральной (взболтанной), отстоянной в течение двух часов или фильтрованной пробе.

Пробы сильно загрязненной воды разбавляют специально приготовленной разбавляющей водой, содержащей неорганические питательные вещества в количестве, достаточном для нормального протекания аэробных биохимических процессов. При анализе стерильных вод, в них вносят микробную затравку.

Определению БПК мешают токсичные вещества (медь, свинец и другие тяжелые металлы, активный хлор и т.д.), которые подавляют биохимическое окисление. В таких случаях БПК можно определить после удаления из воды токсичных веществ или после соответствующего разбавления пробы, при котором устраняется действие токсинов.

При определении БПК сточных вод, обработанных веществами, содержащими активный хлор, влияние свободного или связанного хлора устраняют добавлением раствора тиосульфата натрия или выдерживают воду на свету в течение (1 – 2) часов.

Особенностью биохимического окисления органических веществ в воде является сопутствующий ему процесс нитрификации, искажающий характер потребления кислорода. Количество кислорода, пошедшее на нитрификацию, может в несколько раз превышать количество кислорода, требуемое для биохимического окисления органических соединений. Поэтому при определении БПК необходимо вводить в пробу специальные вещества –

ингибиторы, подавляющие жизнедеятельность нитрифицирующих бактерий, но не влияющие на обычную микрофлору. В качестве ингибитора применяют раствор тиомочевины, который вводят в пробу либо в разбавляющую воду.

Блок-схема проведения анализа приведена в приложении А.

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

ГОСТ 12.0.004-90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения.

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

ГОСТ 12.4.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание.

ГОСТ 17.1.5.05-85 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков.

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 2493-76 Реактивы. Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия.

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия.

ГОСТ 3773-72 Реактивы. Аммоний хлористый. Технические условия.

ГОСТ 4147-74 Реактивы. Железо (III) хлорид 6-водный. Технические условия.

ГОСТ 4172-76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный. Технические условия.

ГОСТ 4198-75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия.

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия.

ГОСТ 4460-77 Кальций хлористый. Технические условия.

ГОСТ 4523-77 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия.

ГОСТ 6344-73 Реактивы. Тиомочевина. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 17792-72 Электрод сравнения хлорсеребряный насыщенный образцовый 2-го разряда.

ГОСТ 24363-80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия.

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.

ГОСТ 27068-86 Реактивы. Натрий серноватистокислый (натрия тиосульфат) 5-водный. Технические условия.

ГОСТ 28498-90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний.

ГОСТ 29169-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой.

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

ГОСТ 31861-2012 Вода. Общие требования к отбору проб.

ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия.

ГОСТ Р 53228-2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ГОСТ OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике.

ТУ 6-09-1678-86 Фильтры обеззоленные (белая, красная, синяя ленты).

ТУ 25-11-834-73 Мешалка магнитная. Технические условия.

ТУ 6-09-1181-89 Бумага индикаторная универсальная для определения РН 1-10 и 7-14. Технические условия.

ТУ 6-09-2540-87 Стандарт-титры (фиксаналы, нормадозы).

Примечание – Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 ПРИПИСАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

Настоящая методика обеспечивает получение результатов измерений с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон измерений определяемого показателя, значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности методики измерений

Диапазон измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm\delta$, %
Питьевая и природная вода			
от 0,5 до 1 включ.	12	23,5	47
св. 1 до 10 включ.	8	19	38
св. 10 до 1000 включ.	6	13	26

Диапазон измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm\delta$, %
Сточная вода			
от 1 до 10 включ.	8	28,5	57
св. 10 до 100 включ.	7	17,5	35
св. 100 до 1000 включ.	6	14,5	29
св. 1000 до 80000 включ.	5	10,5	21

4 МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Метод определения биохимического потребления кислорода основан на способности микроорганизмов потреблять растворенный кислород при биохимическом окислении органических и неорганических веществ в воде.

Метод заключается в разбавлении исследуемой пробы различными объемами специально приготовленной разбавляющей воды с большим содержанием растворенного кислорода, зараженной аэробными микроорганизмами, с добавками, подавляющими нитрификацию. Разбавлением исследуемой воды обеспечивается достаточное содержание кислорода для его потребления микроорганизмами. Если исследуемая вода стерильна, ее заражают микроорганизмами и добавляют соли для создания устойчивой буферной системы. Затем пробу инкубируют при постоянной температуре (20 ± 1) °С в течение 5 дней без доступа воздуха и света.

Определяют массовые концентрации растворенного кислорода в воде до и после инкубации и проводят расчет количества потребленного кислорода. Величина уменьшения содержания кислорода в склянке, умноженная на значение степени разведения, дает численную величину БПК, выраженную в мг/дм^3.

Определение массовой концентрации растворенного кислорода в воде выполняют с помощью амперометрического датчика, состоящего из камеры, окруженной селективной мембраной, и двух металлических электродов. Мембрана практически непроницаема для воды и растворенных ионов, но пропускает кислород. Электроды погружены в раствор электролита. Из-за разности потенциалов между электродами, кислород из контролируемой среды, проходя через мембрану, восстанавливается на катоде. Сигнал тока, вырабатываемый при этом в датчике, пропорционален массовой концентрации растворенного кислорода при фиксированных температуре и атмосферном давлении.

5 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы, стандартные образцы.

5.1 Средства измерений, вспомогательные устройства

5.1.1 Весы лабораторные общего назначения специального или высокого класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 300 г по ГОСТ OIML R 76-1 или по ГОСТ Р 53228.

5.1.2 Дозаторы пипеточные варьируемого объема от 1 до 5 $см^3$ с погрешностью дозирования не более 1 % по ГОСТ 28311.

5.1.3 Датчик растворенного кислорода, мембранный гальванический, например датчик CellOx 325 с автоматической компенсацией температуры (в комплекте с переливной вставкой).

5.1.4 Оксиметр (кислородомер) любой модели, оснащенный системой компенсации температуры и атмосферного давления, например оксиметр ProfiLine Oxi 3205 (WTW).

5.1.5 Потенциометр (pH-метр) или иономер любого типа с совместимой системой электродов (стеклянный измерительный электрод и насыщенный хлорсеребряный электрод сравнения по ГОСТ 17792).

5.1.6 Термометр лабораторный от 0 до 100 °С с ценой деления 1 °С по ГОСТ 28498.

5.1.7 Часы песочные на 5 мин или таймер.

5.1.8 Дистиллятор или установка любого типа для получения воды дистиллированной по ГОСТ 6709 или воды для лабораторного анализа степени чистоты 2 по ГОСТ Р 52501.

5.1.9 Мешалка магнитная любого типа по ТУ 25-11-834.

5.1.10 Микрокомпрессор для аквариумов любого типа.

5.1.11 Термостат воздушный, обеспечивающий инкубацию проб воды при температуре (20 ± 1) °С, например шкаф-термостат БПК, модель WTW TS 606/4-i.

5.1.12 Холодильник бытовой любого типа, обеспечивающий хранение растворов при температуре (2 – 10) °С.

5.2 Лабораторная посуда

5.2.1 Колбы для инкубирования: конические узкогорлые с притертыми пробками, например типа Кн-1-100-19/26 номинальной вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336, или склянки кислородные вместимостью от 100 до 250 $см^3$.

5.2.2 Колбы конические вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336.

5.2.3 Колбы мерные вместимостью 100; 200; 250 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

5.2.4 Мензурки вместимостью 100; 250; 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

5.2.5 Палочки стеклянные.

5.2.6 Пипетки градуированные вместимостью 1; 5 и 10 $см^3$ по ГОСТ 29227, 2 класс точности.

5.2.7 Пипетки с одной отметкой вместимостью 1; 5; 10; 25; 50 и 100 $см^3$ по ГОСТ 29169, 2 класс точности.

5.2.8 Стаканы из термически стойкого стекла вместимостью 50 и 100 $см^3$ по ГОСТ 25336.

5.2.9 Стаканчики для взвешивания (бюксы) по ГОСТ 25336.

5.2.10 Сосуды из стекла или полимерного материала вместимостью 5000 $см^3$ и более в зависимости от объема приготавливаемой разбавляющей воды.

5.2.11 Флаконы из темного стекла вместимостью 100; 500 и 1000 $см^3$ для хранения растворов.

5.2.12 Флаконы из стекла или полимерного материала с навинчивающимися крышками для отбора и хранения проб вместимостью (500 – 1000) $см^3$.

5.2.13 Цилиндры вместимостью 100; 250 и 500 $см^3$ по ГОСТ 1770, 2 класс точности.

5.2.14 Чашки Петри.

5.3 Реактивы и материалы

5.3.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501, 2 степени чистоты (далее – вода дистиллированная).

5.3.2 Аммоний хлористый (хлорид) по ГОСТ 3773.

5.3.3 Железо (III) хлористое (хлорид) 6-водное по ГОСТ 4147.

5.3.4 Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.

5.3.5 Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный или калий фосфорнокислый двузамещенный безводный по ГОСТ 2493.

5.3.6 Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный по ГОСТ 4172 или натрий фосфорнокислый двузамещенный 7-водный.

5.3.7 Магний сернокислый (сульфат) 7-водный по ГОСТ 4523.

5.3.8 Кальций хлористый (хлорид) по ГОСТ 4460.

5.3.9 Натрий гидроксид по ГОСТ 4328.

5.3.10 Кислота соляная по ГОСТ 3118.

5.3.11 Натрий серноватистокислый 5-водный (натрия тиосульфат) по ГОСТ 27068 или стандарт-титр, $c(Na_2S_2O_3 \times 5H_2O)=0,1$ моль/$дм^3$ (0,1 н) по ТУ 6-09-2540.

5.3.12 Почва садовая или грунт для комнатных растений.

5.3.13 Тиомочевина по ГОСТ 6344.

5.3.14 Бумага универсальная индикаторная, позволяющая измерять значение pH в диапазоне от 1 до 12 ед. pH с шагом 1 ед. pH, например по ТУ 6-09-1181.

5.3.15 Фильтры обеззоленные «синяя лента» по ТУ 6-09-1678.

Примечание – Все реактивы должны быть квалификации ч.д.а. или х.ч.

5.4 Стандартные образцы

Стандартный образец (СО) биологического потребления кислорода в воде, например ГСО 8048-94.

Примечания

1 Допускается использование средств измерений утвержденных типов других производителей, обеспечивающих измерения с установленной точностью.

2 Средства измерений должны быть поверены или калиброваны в установленные сроки, испытательное оборудование должно быть аттестовано в установленные сроки.

3 Допускается использование оборудования, материалов и реактивов с характеристиками, не хуже, чем у вышеуказанных, в т.ч. импортных.

6 УСЛОВИЯ БЕЗОПАСНОГО ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТ

6.1 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

6.2 При работе с оборудованием необходимо соблюдать правила электробезопасности по ГОСТ Р 12.1.019.

6.3 Обучение работающих безопасности труда должно быть организовано в соответствии с ГОСТ 12.0.004.

6.4 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

7 ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРА

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица, имеющие среднее специальное или высшее образование химического профиля, владеющие техникой анализа и изучившие правила эксплуатации используемого оборудования.

8 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений в лаборатории соблюдают следующие условия:

температура воздуха	(20 – 28) °С;
относительная влажность воздуха	не более 80% при 25 °С
напряжение в сети	(220 ± 22) В

9 ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

9.1 Отбор проб воды осуществляют в соответствии с ГОСТ 31861. Пробы снега отбирают в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05 и переводят в талую воду при комнатной температуре.

9.2 Пробы отбирают в емкости из стекла или полимерного материала. Объем отбираемый пробы должен быть (500 – 1000) $см^3$.

9.3 Отобранные пробы не консервируют, анализируют в день отбора.

Пробы могут храниться при комнатной температуре не более 6 ч, а при температуре (2 – 10) °С – не более 24 ч.

9.4 Если невозможно приступить к выполнению анализа в течение 24 ч с момента отбора пробы, то допускается замораживание и хранение пробы при минус (18 ± 2) °С не более 7 дней. После оттаивания проба должна быть гомогенизирована. При выполнении анализа в нее обязательно добавляют воду, зараженную аэробными микроорганизмами.

9.5 При отборе проб составляют сопроводительный документ по утвержденной форме, в котором указывается:

- цель анализа;
- место, дата и время отбора;
- шифр пробы;
- должность, фамилия сотрудника, отбирающего пробу.

10 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы:

10.1 Подготовка посуды для отбора проб и анализа

Посуда, используемая для отбора проб и анализа, должна быть тщательно вымыта и защищена от загрязнений при хранении.

Для приготовления разбавляющей воды используют пластиковые или стеклянные флаконы. Их следует содержать в чистоте, исключив рост микроорганизмов. Сосуды для этой воды нельзя использовать для других целей.

10.2 Приготовление растворов

Дистиллированная вода, используемая для приготовления всех растворов и разбавляющей воды, не должна содержать веществ, оказывающих влияние на определение БПК (содержание меди и свинца не должно быть более 0,01 мг/дм^3).

Дистиллированную воду перед использованием хранят в бутылях при комнатной температуре (рекомендуемая температура (20 ± 2)°С) и тщательно предохраняют от любого загрязнения. Сосуды, применяемые для хранения дистиллированной воды, не используют для других целей.

10.2.1 Растворы солей для приготовления разбавляющей воды

10.2.1.1 Фосфатный буферный раствор pH (7,2 ± 0,1) ед. pH

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3, наполовину заполненную дистиллированной водой, помещают:

- (8,5 ± 0,1) г калия фосфорнокислого однозамещенного;
- (21,75 ± 0,05) г калия фосфорнокислого двузамещенного безводного или (28,5 ± 0,1) г калия фосфорнокислого двузамещенного 3-водного;
- (44,6 ± 0,1) г натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного или (33,4 ± 0,1) г натрия фосфорнокислого двузамещенного 7-водного;
- (1,7 ± 0,1) г хлорида аммония.

После растворения объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Проводят проверку значения pH приготовленного раствора.

10.2.1.2 Раствор магния сернокислого массовой концентрации 22,5 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (22,5 ± 0,1) г магния сернокислого 7-водного, растворяют в дистиллированной воде. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

10.2.1.3 Раствор железа хлорного массовой концентрации 0,25 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (0,25 ± 0,01) г железа хлорного 6-водного, растворяют в дистиллированной воде. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

10.2.1.4 Раствор кальция хлористого массовой концентрации 27,5 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (27,5 ± 0,1) г кальция хлористого, растворяют в дистиллированной воде. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

10.2.1.5 Раствор тиомочевины массовой концентрации 0,5 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (0,50 ± 0,01) г тиомочевины, растворяют в дистиллированной воде. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Растворы солей для приготовления разбавляющей воды хранят во флаконах из темного стекла или в темном месте при комнатной температуре не более 1 месяца и заменяют при первых признаках появления осадка или биологических организмов.

10.2.1.6 Вода, содержащая посевной материал (почвенная вытяжка)

Около 4 г садовой почвы или грунта для комнатных растений разводят в 200 см^3 дистиллированной воды, перемешивают в течение 5 минут и фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента». Срок хранения – не более 14 дней при температуре (2 – 10) °С.

Примечание – Для заражения исследуемой воды микрофлорой также можно использовать сточную воду после биологической очистки, речную воду, аквариумную воду, которую добавляют в количестве (5 – 20) см^3 на 1 дм^3 разбавляющей воды.

10.2.1.7 Раствор соляной кислоты концентрации примерно 0,5 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают около 50 см^3 дистиллированной воды, добавляют пипеткой 4 см^3 концентрированной соляной кислоты, доводят объем раствора дистиллированной водой до метки и перемешивают. Срок хранения раствора – 6 месяцев при комнатной температуре.

10.2.1.8 Раствор гидроксида натрия молярной концентрации 0,5 моль/дм^3

(2,0 ± 0,1) г гидроксида натрия растворяют в стеклянном стакане вместимостью 100 см^3 в приблизительно 50 см^3 дистиллированной воды. После охлаждения переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят до

метки дистиллированной водой и перемешивают. Срок хранения раствора в пластиковом флаконе – 6 месяцев при комнатной температуре.

10.2.1.9 Раствор тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3

В мерной колбе вместимостью 1000 см^3 растворяют (25,0 ± 0,1) г 5-водного тиосульфата натрия примерно в (300 – 400) см^3 свежепрокипяченной дистиллированной воды, тщательно перемешивают и доводят объем дистиллированной водой до метки.

Из стандарт-титра раствор готовят согласно инструкции по применению на свежепрокипяченной дистиллированной воде.

Раствор используют через 10 дней после приготовления. Срок хранения – не более 3 месяцев при комнатной температуре в склянке из темного стекла.

10.2.1.10 Раствор тиосульфата натрия молярной концентрации 0,005 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 50 см^3 раствора тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Срок хранения – не более 1 месяца при комнатной температуре в склянке из темного стекла.

Примечание – При необходимости допускается готовить растворы меньшего или большего объема. Для этого все реактивы следует брать в пропорционально меньших или больших количествах или объемах, используя соответствующую мерную посуду.

10.3 Приготовление разбавляющей воды

Дистиллированную воду, предназначенную для приготовления разбавляющей воды, перед использованием насыщают кислородом воздуха при помощи воздушного компрессора в течение не менее 0,5 часа. Можно насыщать дистиллированную воду кислородом выстаиванием на воздухе не менее 24 часов или интенсивно встряхивая бутыли, заполненные на 2/3 объема. В день использования к 1 дм^3 дистиллированной воды прибавляют 1 см^3 фосфатного буферного раствора, 1 см^3 раствора магния сернокислого, 1 см^3 раствора кальция хлористого, 1 см^3 раствора железа хлорного, 1 см^3 раствора тиомочевины, 1 см^3 почвенной вытяжки. Тщательно перемешивают и оставляют на (3 – 5) мин до исчезновения мелких пузырьков воздуха.

Затем выполняют измерение массовой концентрации растворенного кислорода по 11.6 и значения pH в приготовленной разбавляющей воде.

Массовая концентрация растворенного кислорода в разбавляющей воде должна быть не менее 8,0 мг/дм^3, в то же время вода не должна быть перенасыщена кислородом. При массовой концентрации растворенного кислорода более 9,0 мг/дм^3 флакон с разбавляющей водой выдерживают незакупоренным не менее 15 мин и определяют повторно содержание кислорода.

Значение pH разбавляющей воды должно быть в диапазоне (7,0 – 8,0) ед. pH.

10.4 Подготовка оборудования

Термостаты подготавливают в соответствии с инструкцией по эксплуатации оборудования.

Подготовку к работе оксиметра с датчиком растворенного кислорода (настройку и калибровку) проводят в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

11 ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений $БПК_5$ должны быть соблюдены следующие условия:

- инкубация пробы при постоянной температуре (20 ± 1) °С без доступа воздуха и света;
- проба должна быть насыщена перед началом анализа кислородом воздуха до (8 – 9) мг/дм^3 при температуре (20 ± 2) °С;
- потребление кислорода во время инкубационного периода должно быть около 50 % от первоначально присутствующего в пробе кислорода, но не менее 2 мг/дм^3;
- остаточная массовая концентрация кислорода после инкубации должна быть не менее 3 мг/дм^3.

11.1 Подготовка пробы

11.1.1 Гомогенизация и нейтрализация пробы

Перед началом определения БПК пробу тщательно перемешивают.

Примечание – Допускается использовать лабораторный гомогенизатор для перемешивания проб, содержащих большие частицы.

Возможно определение БПК в отстоянной и фильтрованной пробе. Проба отстаивается в цилиндре в течение 2 часов. Затем отбирают прозрачный слой жидкости над осадком. Для выполнения анализа фильтрованной пробы воду фильтруют через обеззоленный фильтр «синяя лента».

Значение pH исследуемой воды должно находиться в интервале (6 – 9) ед. pH. При необходимости пробу воды нейтрализуют, добавляя раствор гидроксида натрия или раствор соляной кислоты по каплям к отобранному для анализа объему воды. Контроль pH осуществляют по универсальной индикаторной бумаге.

11.1.2 Подавление нитрифицирующих бактерий

При выполнении анализа неразбавленной пробы для подавления нитрификации добавляют 1 см^3 раствора тиомочевины на 1 дм^3 исследуемой воды. При анализе сточной воды (промышленные сточные воды или воды после биохимической очистки), содержащей нитриты, раствор тиомочевины добавляют в разбавляющую воду (из расчета 1 см^3 на 1 дм^3 разбавляющей воды).

11.1.3 Удаление активного хлора

При определении БПК воды, подвергавшейся обработке веществами, содержащими активный хлор (например, хлором или хлорной известью), предварительно удаляют избыток активного хлора.

При содержании активного хлора не более 0,5 мг/дм^3 воду отстаивают не менее 1 ч.

При более высоком содержании активного хлора исследуемую пробу воды перед анализом обрабатывают раствором тиосульфата натрия. Количество тиосульфата натрия, необходимое для восстановления активного хлора, определяют титрованием отдельной пробы.

На каждые 100 см^3 пробы для определения БПК прибавляют половинный объем раствора тиосульфата натрия молярной концентрации 0,005 моль/дм^3, пошедший на титрование, и тщательно перемешивают.

Примечание – Определение содержания активного хлора (хлора и хлораминов) проводят по аттестованной МВИ, например по ГОСТ 18190-72 или ПНД Ф 14.1:2:4.113-97.

11.2 Выполнение измерений без разбавления пробы

Питьевые, относительно чистые природные и очищенные сточные воды с предполагаемыми значениями $БПК_5$ до 6 мг/дм^3 анализируют без предварительного разбавления.

Температуру пробы доводят до (20 ± 2) °С, нагревая или охлаждая ее (под струей горячей или холодной водопроводной воды). Контроль температуры пробы проводят при помощи термометра. Затем пробу насыщают кислородом, интенсивно встряхивая флакон с пробой не менее 10 мин.

После завершения процедуры насыщения к исследуемой воде добавляют 1 см^3 раствора тиомочевины и 1 см^3 почвенной вытяжки на 1 дм^3 пробы, перемешивают и оставляют на (3 – 5) мин (до отсутствия поднимающихся к поверхности мелких пузырьков).

11.3 Выполнение измерений с разбавлением пробы

При выполнении анализа загрязненных проб воды с предполагаемыми значениями $БПК_5$ выше 6 мг/дм^3 требуется предварительное разбавление пробы.

Для разбавления применяют разбавляющую воду, подготовленную по 10.3. Температура исследуемой пробы и разбавляющей воды должна быть (20 ± 2) °С. Перед разбавлением пробу воды насыщают кислородом воздуха интенсивным встряхиванием или перемешиванием.

Для ориентировочной оценки степени разбавления пробы можно использовать значение химического потребления кислорода (ХПК).

Условно принимают значение БПК равным 50 % от значения ХПК, а поскольку в воде после инкубации должно остаться (4 – 5) мг/дм^3 кислорода, предполагаемую степень разбавления (N) рассчитывают по формуле

$$N = \frac{C_{хпк}}{2 \cdot K}, \qquad (1)$$

где

$С_{хпк}$ – значение ХПК в анализируемой пробе, мг/дм^3;

2 – коэффициент, устанавливающий 50 % уровень БПК от ХПК;

К – ожидаемая остаточная массовая концентрация кислорода в пробе после инкубации, мг/дм^3.

Полученный результат показывает, во сколько раз надо разбавить анализируемую воду.

Необходимый для разбавления объем пробы воды рассчитывают следующим образом – объем колбы для разбавления делят на степень разбавления N.

Ввиду трудности выбора правильной степени разбавления для пробы воды неизвестного происхождения рекомендуется делать не менее (2 – 3) различных разбавлений: меньше и (или) больше рассчитанной степени разбавления N (например, если N=8 делают дополнительное разбавление в 6 и/или в 10 раз).

Отбирают необходимый объем перемешанной пробы и наливают в мерную колбу или мензурку вместимостью (500 – 1000) см^3. Затем добавляют разбавляющую воду до метки осторожно по стенке, чтобы в колбу не попали пузырьки воздуха. Мерную колбу закрывают пробкой и ее содержимое тщательно перемешивают, переворачивая колбу несколько раз. При выполнении разбавления в мензурке ее содержимое перемешивают стеклянной палочкой.

Примечание – Объем пробы до 10 см^3 отбирают пипеткой или дозатором, цилиндром отмеривают более 10 см^3 воды. Если для анализа необходимо взять объем пробы меньше 5 см^3, то рекомендуется проводить последовательное разбавление пробы.

11.4 Заполнение кислородных колб и инкубация проб

Пробу воды, подготовленную по 11.1 – 11.3, наливают в сухие колбы для инкубирования. Колбы наполняют водой до краев так, чтобы не было пузырьков воздуха. Если проба содержит грубодисперсные примеси, содержимое мензурки с разбавленной пробой перемешивают перед каждым переливанием. На каждую неразбавленную пробу или на каждое разбавление пробы берут не менее 2 колб. В одной из каждой пары заполненных колб сразу определяют массовую концентрацию растворенного кислорода по 11.6. Затем колбы закрывают притертыми стеклянными пробками так, чтобы под ними не осталось пузырьков воздуха, помещают в термостат с температурой (20 ± 1) °С и выдерживают в течение 5 дней (120 ± 4) ч. По истечении этого срока определяют массовую концентрацию неизрасходованного растворенного кислорода по 11.6.

11.5 Проверка степени чистоты разбавляющей воды холостым опытом

Для контроля применяемой разбавляющей воды проводят холостой опыт, для чего одновременно с анализируемыми пробами заполняют 2 колбы для инкубирования разбавляющей водой. В одной из них сразу же измеряют массовую концентрацию растворенного кислорода. Колбы закрывают

притертыми пробками и вместе с пробами, для разбавления которых использовалась данная разбавляющая вода, помещают в термостат. После инкубации в них измеряют массовую концентрацию растворенного кислорода. Разница массовой концентрации растворенного кислорода в разбавляющей воде до и после инкубации не должна превышать 0,5 мг/дм^3.

При превышении результата холостого определения выявляют и устраняют возможный источник загрязнения разбавляющей воды.

11.6 Проведение измерения массовой концентрации растворенного кислорода амперометрическим методом

Сразу же после заполнения колбы пробой или после инкубации пробы выполняют измерение массовой концентрации растворенного кислорода с помощью оксиметра в комплекте с гальваническим мембранным датчиком, руководствуясь инструкцией по эксплуатации прибора.

Колбу с исследуемой пробой открывают, ставят на чистую чашку Петри, расположенную на магнитной мешалке, и вставляют в нее переливную вставку. Переливная вставка обеспечивает сбор переливающейся из колбы воды при измерениях.

Включают мешалку. Скорость вращения стержня мешалки должна быть достаточной для того, чтобы обеспечить постоянный поток воды вдоль мембраны датчика.

Погружают измерительный датчик в колбу, следят за отсутствием пузырьков воздуха на его торцевой поверхности. После стабилизации сигнала измерения фиксируют показание прибора. Результаты выражаются в мг/дм^3.

Примечание – Большинство современных оксиметров (кислородомеров) проводят автоматическую компенсацию атмосферного давления и температуры при вычислении окончательного показания.

При использовании приборов и датчиков, не имеющих этих автоматических функций, изменение растворимости кислорода при различных температурах и атмосферном давлении необходимо пересчитать по справочным таблицам.

После того, как произведено измерение массовой концентрации растворенного кислорода до инкубации пробы, датчик вынимают из колбы, аккуратно снимают переливную вставку так, чтобы перелившаяся в процессе измерения исследуемая вода вновь наполнила колбу доверху без пузырьков воздуха. После чего колбу закрывают притертой пробкой и ставят в термостат для инкубации.

12 ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Результаты, полученные при анализе проб с разным разбавлением, могут различаться. В расчете используют результат измерения массовой концентрации растворенного кислорода в той колбе, где остаточная массовая концентрация растворенного кислорода после срока инкубации составляет не менее 3 мг/дм^3 и потреблено около 50 % кислорода. Если это условие выполняется в обеих колбах, то после проверки приемлемости результатов двух

параллельных измерений X' и X" по п. 14.1 вычисляют среднее арифметическое значение $X_{ср}$ $БПК_5$ по формуле

$$X_{ср} = \frac{X' + X''}{2}. \quad (2)$$

При определении биохимического потребления кислорода в пробах промышленных сточных вод, значения $БПК_5$ могут возрастать с увеличением степени разбавления. В таких случаях выбирают максимальное значение БПК, полученное при максимальном разбавлении.

Значение $БПК_5$ (X, мг/дм^3) для неразбавленных проб воды рассчитывают по формуле

$$X = X_1 - X_2, \quad (3)$$

где

X_1 – массовая концентрация растворенного кислорода в пробе анализируемой воды до инкубации, мг/дм^3;

X_2 – массовая концентрация растворенного кислорода в пробе анализируемой воды после инкубации, мг/дм^3.

Значение $БПК_5$ (X, мг/дм^3) для разбавленных проб воды рассчитывают по формуле

$$X = [(X_3 - X_4) - (X_{P1} - X_{P2})] \cdot N, \quad (4)$$

где

X_3 – массовая концентрация растворенного кислорода в разбавленной пробе анализируемой воды до инкубации, мг/дм^3;

X_4 – массовая концентрация растворенного кислорода в разбавленной пробе анализируемой воды после инкубации, мг/дм^3.

X_{P1} – массовая концентрация растворенного кислорода в разбавляющей воде до инкубации (холостой опыт), мг/дм^3;

X_{P2} – массовая концентрация растворенного кислорода в разбавляющей воде после инкубации (холостой опыт), мг/дм^3;

N – степень разбавления.

13 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Результаты измерений, как правило, в протоколах анализов представляют в виде:

$$X_{ср} \pm \Delta;\ мг/дм^3 \quad (P = 0,95),$$

где Δ – характеристика абсолютной погрешности результатов измерений, которую рассчитывают по формуле

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot X_{ср}, \quad (5)$$

где δ – значение показателя точности, % (таблица 1).

Результаты измерений округляют с точностью:

при массовой концентрации	
от 0,5 до 10 мг/дм^3	– 0,1 мг/дм^3
от 10 до 1000 мг/дм^3	– 1 мг/дм^3
от 1000 до 10000 мг/дм^3	– 10 мг/дм^3
свыше 10000 мг/дм^3	– 100 мг/дм^3

14 ПРОВЕРКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

14.1 При получении двух результатов измерений (X_1, X_2) в условиях повторяемости (сходимости) осуществляют проверку приемлемости результатов в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-6 (раздел 5).

Результаты измерений считают приемлемым при выполнении условия:

$$200 \cdot \frac{|X_1 - X_2|}{X_1 + X_2} \le r \qquad (6)$$

Значения пределов повторяемости (r) приведены в таблице 2.

При выполнении условия (6) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного используется среднее арифметическое значение результатов двух измерений. При превышении предела повторяемости могут быть использованы методы проверки приемлемости результатов измерений согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

14.2 При получении результатов измерений в двух лабораториях ($X_{лаб1}$, $X_{лаб2}$) проводят проверку приемлемости результатов измерений в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-6 (раздел 5).

Результаты измерений считают приемлемым при выполнении условия:

$$200 \cdot \frac{|X_{лаб1} - X_{лаб2}|}{X_{лаб1} + X_{лаб2}} \le R \qquad (7)$$

Значения пределов воспроизводимости (R) приведены в таблице 2.

При выполнении условия (2) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного используется среднее арифметическое значение результатов двух измерений. При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы проверки приемлемости результатов измерений согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Таблица 2 – Относительные пределы повторяемости и воспроизводимости при измерении массовой концентрации определяемого показателя (P = 0,95)

Диапазоны измерений, мг/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости), r, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости), R, %
Питьевая и природная вода		
от 0,5 до 1 включ.	34	66
св. 1 до 10 включ.	22	53
св. 10 до 1000 включ.	17	36
Сточная вода		
от 1 до 10 включ.	22	80
св. 10 до 100 включ.	20	49
св. 100 до 1000 включ.	17	41
св. 1000 до 80000 включ.	14	29

15 КОНТРОЛЬ ТОЧНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

15.1 В случае регулярного выполнения измерений по методике рекомендуется проводить контроль стабильности результатов измерений путем контроля среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности и погрешности с помощью контрольных карт в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р ИСО 5725-6 (раздел 6).

Образец для контроля готовят с использованием СО и дистиллированной воды. Периодичность контроля стабильности результатов измерений регламентируют во внутренних документах лаборатории.

15.2 Оперативный контроль точности результатов измерений рекомендуется проводить с каждой серией проб, если анализ по методике выполняется эпизодически.

Образцами для контроля (ОК) являются растворы, приготовленные с использованием СО.

Оперативный контроль процедуры измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (К).

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле

$$K_к = |X - C|, \quad (8)$$

где

X – результат контрольного измерения значения $БПК_5$ в образце для контроля, мг/дм^3;

C – аттестованное значение $БПК_5$ в образце для контроля, мг/дм^3.

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

$$K = \Delta_л, \quad (9)$$

где $\Delta_л$ – характеристика абсолютной погрешности аттестованного значения $БПК_5$ в образце для контроля, установленная в лаборатории при реализации методики, мг/дм^3.

Примечание – Допускается $\Delta_л$ рассчитывать по формуле

$$\Delta_л = 0{,}84 \cdot \Delta, \quad (10)$$

где Δ – приписанная характеристика абсолютной погрешности методики измерений.

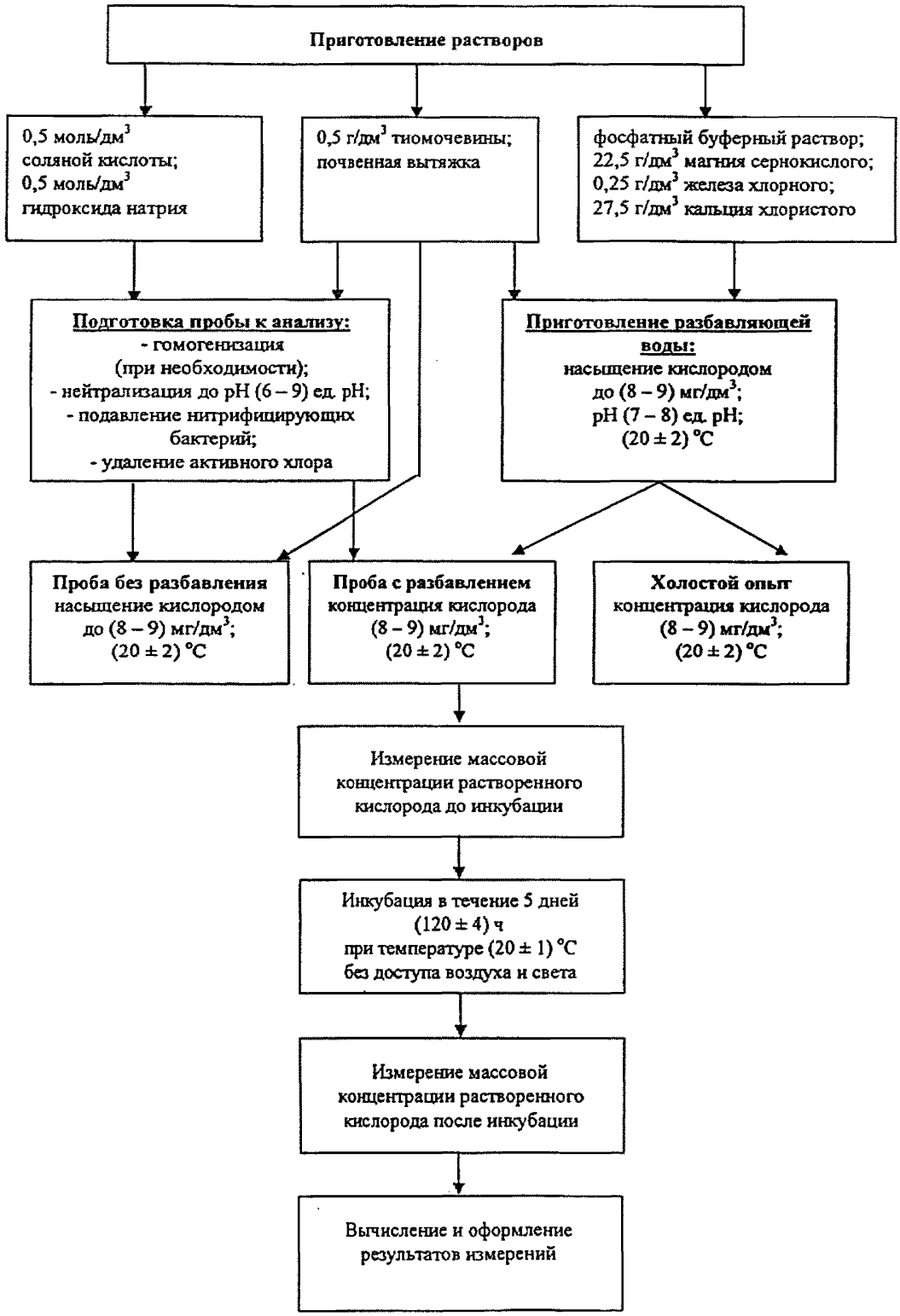
Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении условия:

$$K_к \le K. \quad (11)$$

При невыполнении условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

БЛОК-СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
АДМИНИСТРАТИВНО-ХОЗЯЙСТВЕННОЕ УПРАВЛЕНИЕ
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
Центр метрологии и сертификации «СЕРТИМЕТ»
(Центр «СЕРТИМЕТ» АХУ УрО РАН)

СВИДЕТЕЛЬСТВО

ОБ АТТЕСТАЦИИ МЕТОДИКИ (МЕТОДА) ИЗМЕРЕНИЙ

№ 88-16207-027-RA.RU.310657-2016

Методика измерений биохимического потребления кислорода ($БПК_5$) в пробах питьевых, природных и сточных вод амперометрическим методом,

разработанная ЗАО «РОСА» (119297, г. Москва, ул. Родниковая, д. 7, стр. 35),

предназначенная для контроля состава питьевых, природных и сточных вод

и регламентированная в документе НДП 10.1:2:3.131-2016 «Методика определения биохимического потребления кислорода после 5 дней инкубации ($БПК_5$) в пробах питьевых, природных и сточных вод амперометрическим методом», утвержденном в 2016 г., на 19 стр.

Методика измерений аттестована в соответствии с ФЗ № 102 от 26 июня 2008 г. «Об обеспечении единства измерений»

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке методики измерений.

В результате аттестации установлено, что методика измерений соответствует предъявленным к ней метрологическим требованиям и обладает показателями точности, приведенными в приложении.

Приложение: показатели точности методики измерений на 1 листе.

Дата выдачи свидетельства 24 февраля 2016 г.

Начальник АХУ УрО РАН Р.Н. Зиновьев

Руководитель Центра «СЕРТИМЕТ» АХУ УрО РАН Т.А.Игнатенкова

Россия, 620990, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 91
-33-97

gost.e-ecolog.ru

СертиМет