МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32295— 2013

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Оценка потенциальной способности к биоразложению с использованием активного ила

(OECD, Test No. 302:1981, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН «Всероссийским научно-исследовательским центром стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык руководящего документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 5 ноября 2013 г. № 61-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Украина	UA	Госпотребстандарт Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 781-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32295—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен руководящему документу OECD Test No. 302:1981 Inherent Biodegradability (Потенциальная способность к биоразложению).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования руководящего документа для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (подраздел 3.6).

Перевод с английского языка (en).

Степень соответствия — идентичная (IDT)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2015

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Термины и определения . . . 1
3 Метод А — Полунепрерывный тест с использованием активного ила . . . 1
3.1 Принцип метода . . . 1
3.2 Информация об исследуемом веществе . . . 2
3.3 Применимость метода . . . 2
3.4 Стандартные вещества . . . 2
3.5 Воспроизводимость метода . . . 2
3.6 Чувствительность метода . . . 2
3.7 Процедура тестирования . . . 3
3.8 Данные и отчет о проведении тестирования . . . 3
4 Метод Б — Модифицированный метод Зан-Велленса/EMPA . . . 4
4.1 Принцип метода . . . 4
4.2 Информация об исследуемом веществе . . . 5
4.3 Применимость метода . . . 5
4.4 Стандартные вещества . . . 5
4.5 Чувствительность метода . . . 5
4.6 Воспроизводимость метода . . . 5
4.7 Процедура тестирования . . . 5
4.8 Данные и отчет о проведении тестирования . . . 8
5 Метод В — Модифицированный метод MITI (II) . . . 9
5.1 Принцип метода . . . 9
5.2 Информация об исследуемом веществе . . . 9
5.3 Применимость метода . . . 9
5.4 Процедура тестирования . . . 10
5.5 Условия проведения тестирования . . . 11
5.6 Проведение тестирования . . . 11
5.7 Аналитические процедуры . . . 12
5.8 Данные и отчет о проведении тестирования . . . 12
Приложение А (справочное) Принцип работы закрытой системы измерения потребления кислорода . . . 14
Приложение В (справочное) Взвешенные вещества . . . 15
Приложение С (справочное) Взвешенные вещества, образующиеся при pH = 7 . . . 19

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Оценка потенциальной способности к биоразложению с использованием активного ила

Test methods for chemicals of environmental hazard.
Assessment of inherent biodegradability using fissile ooze

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод для определения потенциальной способности химических веществ к биоразложению микроорганизмами, входящими в состав активного ила.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины с соответствующими определениями:

2.1 **биохимическое потребление кислорода; БПК** (BOD): Количество кислорода в миллиграммах, потребляемого при биохимическом окислении исследуемого вещества микроорганизмами в аэробных условиях; также выражается как количество кислорода в миллиграммах, потребляемого на миллиграмм исследуемого вещества.

2.2 **растворенный кислород; РК** (DO): Содержание кислорода в водном образце в миллиграммах на литр.

2.3 **растворенный органический углерод; РОУ** (DOC): Количество органического углерода, присутствующего в тестируемом растворе после фильтрования через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм или после центрифугирования с ускорением порядка 4000*g* (порядка 40000 м/с^2) в течение 15 мин.

2.4 **теоретическое потребление кислорода; ТПК** (TOD): Общее количество кислорода в миллиграммах, необходимое для полного окисления исследуемого химического вещества; ТПК вычисляется из молекулярной формулы исследуемого химического вещества и может быть выражено как количество кислорода в миллиграммах, потребляемое на миллиграмм исследуемого вещества.

2.5 **химическое потребление кислорода; ХПК** (COD): Количество кислорода в миллиграммах, потребляемого при химическом окислении исследуемого вещества кипящим раствором бихромата калия в кислоте; также выражается как количество кислорода в миллиграммах, потребляемого на миллиграмм исследуемого вещества.

3 Метод А — Полунепрерывный тест с использованием активного ила

3.1 Принцип метода

3.1.1 Активный ил для тестирования отбирают на станции очистки сточных вод, при транспортировании в лабораторию проводят его аэрацию. Для проведения тестирования активный ил помещают в отсек для аэрации. Затем в отсек для аэрации добавляют исследуемое вещество и бытовые сточные воды и проводят аэрацию смеси в течение 23 ч. После завершения аэрации илу дают осесть и удаляют поверхностный раствор. К илу, оставшемуся в отсеке для аэрации, добавляют исследуемое вещество и бытовые сточные воды и повторяют процедуру.

Издание официальное

3.1.2 Биоразложение фиксируется путем определения содержания растворенного органического углерода в поверхностном растворе (супернатанте). Содержание РОУ сравнивают с содержанием РОУ в поверхностном растворе, полученном в контрольном тесте с добавлением только бытовых сточных вод.

3.1.3 В течение длительного периода (до нескольких месяцев) микроорганизмы подвергаются воздействию относительно высоких концентраций исследуемого вещества. Жизнеспособность микроорганизмов поддерживается за счет ежедневного добавления бытовых сточных вод.

За счет длительного периода отстаивания (36 ч) и периодического добавления питательных веществ тест не имитирует реальные условия очистки сточных вод на станции очистки сточных вод. Результаты, полученные для исследуемого вещества, указывают на его высокий потенциал к биоразложению.

3.1.4 Исследуемое вещество, для которого в тесте происходит более чем 20 %-ное снижение содержания РОУ, может оцениваться как вещество, обладающее потенциальной способностью к биоразложению, результат, превышающий 70 %-ное снижение содержания РОУ, свидетельствует о действительной способности к биоразложению.

3.1.5 Бóльшую чувствительность метода может обеспечить использование меченых изотопов C^{14}. В последнем случае меньший уровень снижения содержания РОУ может быть оценен как доказательство способности к биоразложению.

3.1.6 Поскольку условия тестирования весьма благоприятны для выбора и (или) адаптации микроорганизмов, пригодных для биологического разложения исследуемого вещества, то процедура тестирования может также использоваться для культивирования и акклиматизации микроорганизмов для использования в других тестированиях с исследуемым веществом.

3.2 Информация об исследуемом веществе

3.2.1 Для исследуемого вещества должны быть известны его растворимость в воде и содержание органического углерода.

Помимо этого для интерпретации полученных результатов может быть полезной информация об относительных пропорциях содержания основных компонентов в исследуемом веществе.

Информация о токсичности исследуемого вещества может быть полезной для интерпретации низких значений и выбора соответствующих тестовых концентраций.

3.3 Применимость метода

3.3.1 Настоящий метод можно использовать только для органических соединений, которые в тестовых концентрациях:

- являются растворимыми в воде (как минимум, до 20 мг РОУ/л);
- имеют незначительное давление паров;
- не являются ингибиторами для бактерий;
- незначительно адсорбируются на стеклянных поверхностях;
- не образуют пены в тестируемом растворе.

3.4 Стандартные вещества

Рекомендация относительно стандартных веществ отсутствует. Данные по некоторым веществам, используемым в межлабораторных тестированиях, приведены в таблицах 1 и 2. Приведенные данные могут использоваться для проведения периодической калибровки метода для сравнения результатов в случае использования другого метода.

3.5 Воспроизводимость метода

Воспроизводимость данного метода не определена. Как правило, точные данные получают для веществ, разложение которых происходит экстенсивно. В межлабораторных тестированиях были получены данные о 95 %-ной воспроизводимости с доверительными интервалами менее ±3 %. Считается, что для веществ, обладающих меньшей способностью к биоразложению, могут быть получены более широкие доверительные интервалы.

3.6 Чувствительность метода

Чувствительность метода в значительной степени зависит от точности метода определения РОУ и содержания исследуемого вещества в жидкой фазе в начале каждого цикла тестирования. По окончании периода аэрации в контрольном тесте в поверхностном растворе остается приблизительно 10 мг/л РОУ. Принимая во внимание, что определение содержания растворенного органического углерода происходит в диапазоне ±5 % и содержание РОУ после добавления исследуемого вещества до начала пе-

риода аэрации составляет 20 мг/л, оценка степени биоразложения должна находиться в пределах ±6 % для биоразложения в диапазоне 80 %—100 %.

3.7 Процедура тестирования

3.7.1 Подготовка оборудования и исследуемого вещества

Отсеки для аэрации промывают и фиксируют на подходящей подставке. Внешние трубки для подачи воздуха соединяют с воздушным коллектором. Для аэрации смеси используют лабораторный компрессор, воздух предварительно насыщается парами воды для уменьшения потерь от испарения во время тестирования.

Готовят смешанный жидкий образец активного ила, отобранного на станции очистки сточных вод. В каждый отсек помещают приблизительно 150 мл полученного образца.

Анализатор органического углерода калибруют с использованием гидрофталата калия.

Готовят основной раствор исследуемого вещества с концентрацией 400 мг/л в пересчете на органический углерод, что соответствует тестовой концентрации исследуемого вещества 20 мг/л в начале каждого цикла аэрации, если не происходит никакого биологического разложения.

Измеряют содержание органического углерода в основном растворе.

3.7.2 Условия проведения тестирования

Эффективный период отстаивания составляет 36 ч, при тестировании используют высокую концентрацию микроорганизмов. Углеродный материал в составе сточных вод экстенсивно окисляется в течение 8 ч после начала каждого цикла аэрации. Затем в оставшийся период аэрации осуществляется эндогенное дыхание ила. В течение этого времени единственным доступным субстратом является исследуемое вещество, если еще не произошло его полное разложение. Помимо этого проводится ежедневное инокулирование тестовой среды бытовыми сточными водами, благодаря чему обеспечиваются благоприятные условия для акклиматизации и биоразложения.

3.7.3 Проведение тестирования

Аэрацию смешанного образца активного ила проводят в течение 23 ч. После этого аэрацию прекращают, и ил оседает в течение 45 мин. Из отсека для аэрации отбирают 100 мл поверхностного раствора (супернатанта). Образец бытовых сточных вод отбирают немедленно перед использованием, и по 100 мл добавляют к илу, оставшемуся в отсеке для аэрации. Затем заново начинают аэрацию. На данном этапе тестирования исследуемое вещество не вводят, в отсеки ежедневно добавляют бытовые сточные воды до тех пор, пока после осаждения не будет получен чистый супернатант. Обычно продолжительность первого этапа тестирования составляет до двух недель, к этому времени содержание растворенного органического углерода в супернатанте в конце каждого периода аэрации не должно превышать 12 мг/л.

По окончании данного этапа осажденный ил из всех отсеков перемешивают, и по 50 мл полученного смешанного ила добавляют в каждый отсек.

100 мл осажденных сточных вод добавляют в контрольные отсеки и 95 мл + 5 мл подходящего основного раствора исследуемого вещества (400 мг/л) к тестовым отсекам. Аэрацию начинают заново и продолжают в течение 23 ч. Затем илу дают осесть в течение 45 мин и отбирают пробу супернатанта для анализа на содержание РОУ.

Описанная процедура добавления сточных вод и отбора супернатанта повторяется ежедневно в течение всего тестирования.

Перед осаждением может быть необходимо очистить стенки отсеков во избежание накопления загрязнения выше уровня жидкости. Для чистки каждого отсека используется индивидуальная щетка для предотвращения переноса загрязнения.

Содержание растворенного органического углерода в супернатанте определяется ежедневно, хотя возможно проводить анализ и реже. Перед анализом супернатант фильтруют через промытый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и центрифугируют при температуре не выше 40 °С.

Продолжительность тестирования должна составлять как минимум 12 недель.

3.8 Данные и отчет о проведении тестирования

3.8.1 Обработка результатов

Результаты анализа содержания растворенного органического углерода в поверхностном растворе в тестовых и контрольных отсеках в зависимости от времени изображаются графически. Уровень биоразложения, обнаруженный при тестировании, будет приближаться к уровню контрольного тестирования. Как только различие между двумя уровнями выйдет на постоянный уровень в более чем трех последователь-

ных измерениях, проводятся еще три измерения, и биоразложение, выраженное в процентах, вычисляется по соотношению (1):

$$\%D = \frac{100[O_T(O_t - O_c]}{O_T}, \quad (1)$$

где D — биоразложение, %;

O_T — концентрация исследуемого вещества в пересчете на органический углерод после добавления в тестовый отсек до начала аэрации;

O_t — концентрация растворенного органического углерода в супернатанте по окончании аэрации;

O_c — концентрация растворенного органического углерода в супернатанте в контрольном тесте.

Таким образом, уровень биоразложения представляет собой удаление органического углерода в тесте, выраженное в процентах.

Если с самого начала тестирования различий между тестовой и контрольной пробой не наблюдается или различие между ними остается постоянным на уровне менее ожидаемого, то предполагается, что биоразложение не происходит. Дальнейшие тесты необходимы для того, чтобы отличить биоразложение и адсорбцию.

Таблица 1 — Результаты тестов для различных веществ (тест ОЭСР и межлабораторный тест)

Исследуемое вещество	O_T, мг/л	$O_t - O_c$, мг/л	Биоразложение, %
4-ацетиламинобензол сульфонат	17,2	2,0	85
Тетрапропиленбензол сульфонат	17,3	8,4	51,4
4-нитрофенол	16,9	0,8	95,3
Диэтиленгликоль	16,5	0,2	98,8
Анилин	16,9	1,7	95,9

Продолжительность тестирования составляла 40 дней.

Таблица 2 — Результаты тестирования для циклопентантетракарбоксилата

O_T, мг/л	$O_t - O_c$, мг/л	Биоразложение, %
17,9	3,2	81,1

Продолжительность тестирования составляла 120 дней.

4 Метод Б — Модифицированный метод Зан-Велленса/EMPA

4.1 Принцип метода

4.1.1 Смесь, содержащая исследуемое вещество, минеральные питательные вещества (минеральную среду) и относительно большое количество активного ила в водной среде, перемешивается и подвергается аэрации при температуре 20 °С—25 °С в темноте или при рассеянном свете в течение 28 дней. Пустые контрольные пробы, содержащие только активный ил и минеральную среду, тестируются параллельно. Процесс биоразложения контролируется путем определения содержания растворенного органического углерода (или химического потребления кислорода ХПК) в отфильтрованных пробах, отбираемых ежедневно. Отношение количества удаленного РОУ (или ХПК) с учетом результата контрольного тестирования для каждого времени отбора проб, к начальному количеству РОУ выражается как биоразложение (в процентах) для данного интервала времени. Курс биоразложения изображается графически (биоразложение в процентах в зависимости от времени).

4.1.2 Специфический анализ исследуемого вещества проводится в случаях, когда происходят и должны быть обнаружены молекулярные изменения, вызванные биохимическими реакциями (основной биологический распад).

4.2 Информация об исследуемом веществе

4.2.1 Для исследуемого вещества должны быть известны его растворимость в воде и давление паров, а также склонность к пенообразованию. Если необходимо подтверждать измеряемые величины концентрации органического углерода и ХПК, то должна быть также известна структурная формула исследуемого вещества.

4.2.2 Помимо этого для выбора подходящих концентраций и интерпретации результатов, свидетельствующих о плохой способности к биоразложению, может быть полезна информация о токсичности исследуемого вещества для микроорганизмов.

4.3 Применимость метода

Данный метод может применяться для исследования летучих химических веществ и веществ с растворимостью в воде, как минимум, до 50 мг РОУ/л, при условии, что их адсорбция незначительна и в исследуемой концентрации они не образуют пены и не ингибируют микроорганизмы.

4.4 Стандартные вещества

Для проверки функциональной активности активного ила параллельно с каждой серией тестов проводится тест со стандартным веществом с известной способностью к биоразложению. В качестве стандартных веществ рекомендуется использовать этиленгликоль, лаурилсульфат натрия и анилин. Биоразложение данных стандартных веществ должно достигать, по крайней мере, 70 % (по РОУ или ХПК) в течение 14 дней.

4.5 Чувствительность метода

Пределы чувствительности определяются чувствительностью методов определения растворенного органического углерода (как правило, 0,5—1 мг С/л) или определения ХПК (15 мг O_2/л), а также разнообразием контрольных проб. Для относительно высоких концентраций исследуемого вещества (50—400 мг С/л) характерна большая аналитическая надежность.

4.6 Воспроизводимость метода

Метод обладает хорошей воспроизводимостью.

4.7 Процедура тестирования

4.7.1 Оборудование

При тестировании используется следующее оборудование:

a) цилиндрические стеклянные сосуды объемом 1—5 л, снабженные мешалкой, изготовленной из инертного материала, вращающейся на 5—10 см выше нижней части сосуда (магнитная мешалка длиной 7—10 см может также использоваться), и стеклянной трубкой с внутренним диаметром 2—4 мм для пропускания воздуха, закрепленной на 1 см выше нижней части сосуда, или сосуды объемом 1—5 л, оборудованные стеклянным припоем в нижней части для аэрации и перемешивания;

b) оборудование для подачи сжатого воздуха, с прохождением через ватный фильтр и сосуд с водой, или насос для подачи воздуха, очищенного от пыли, нефтепродуктов и органических примесей;

c) лабораторное оборудование стандартного назначения, в частности центрифуга (способная работать на скорости минимум 1000*g*, т. е. 10 000 м/с^2), pH-метр, прибор для контроля содержания растворенного кислорода и мембранные фильтры (с размером пор 0,2—0,45 мкм);

d) аналитическое оборудование для определения содержания растворенного органического углерода или ХПК.

4.7.2 Реагенты

Во всех процедурах используют реагенты аналитической чистоты.

4.7.3 Вода

Для проведения тестирования используют дистиллированную или деионизированную воду, не содержащую токсичных веществ в ингибирующих концентрациях (например, ионов Cu^{2+}). Вода должна содержать минимальные количества органического углерода для того, чтобы избежать получения холостых результатов. Присутствие свойственных примесей, а также ионов от ионообменных смол и продуктов разложения микроорганизмов и водорослей может явиться причиной загрязнения. В каждой серии тестов используется одна и та же партия дистиллированной или деионизированной воды, для которой ранее проводился анализ на содержание растворенного органического углерода.

4.7.4 Основные растворы для приготовления минеральной среды

Основные растворы для приготовления минеральной среды готовят следующим образом:

a) калий дигидроортофосфат, KH_2PO_4, г 8,50;

дикалий гидрофосфат, K_2HPO_4, г 21,75;
динатрий гидроортофосфат, дигидрат,
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, г 33,40;
аммоний хлорид, NH_4Cl, г 0,50
растворяют в воде и доводят до метки 1 л
pH полученного раствора составляет 7,4;

b) кальций хлорид, безводный, $CaCl_2$, г 27,50;

или

кальций хлорид, дигидрат, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, г 36,40
растворяют в воде и доводят до метки 1 л;

c) магний сульфат, гептагидрат, $MgS0_4 \cdot 7H_2O$, г. . . . 22,50
растворяют в воде и доводят до метки 1 л;

d) железо (III) хлорид, гексагидрат, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, г. . . 0,25
растворяют в воде и доводят до метки 1 л.

Примечание — Для того чтобы избежать необходимости приготовления данного раствора непосредственно перед использованием, в свежеприготовленный раствор добавляют одну каплю концентрированной соляной кислоты HCl или 0,4 г этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА динатриевая соль) на 1 л.

Если в растворах образуется осадок, то необходимо заменить их свежими растворами.

4.7.5 Подготовка минеральной среды

Смешивают 10 мл раствора a) с 800 мл дистиллированной или деионизированной воды, добавляют 1 мл растворов b), c) и d) и доводят до метки 1 л.

4.7.6 Подготовка активного ила

Свежую пробу активного ила отбирают из осадка, полученного при очистке сточных вод ($БПК_5$ сточных вод должно быть < 25 мг/л), и дважды промывают минеральной средой или водопроводной водой. Ил отделяют центрифугированием в течение 3—5 мин при 1000 g (10000 м/с^2) или осаждением. В особых случаях для получения как можно большего количества видов и штаммов смешивают образцы из разных источников (например, с осадками других станций аэрации, почвенными экстрактами, речной водой и пр.). Полученную смесь обрабатывают аналогичным способом. Ил используют в течение 6 ч после отбора. Активность ила проверяют при тестировании стандартного вещества (см. 5.7.7).

Перед началом тестирования с помощью соответствующих методов необходимо удостовериться в том, что при выбранной концентрации исследуемого вещества не происходит никакого ингибирования ила. Если наблюдаются какие-либо эффекты ингибирования, то концентрацию исследуемого вещества снижают до уровня, не являющегося ингибирующим.

4.7.7 Подготовка тестируемых растворов

В тестовые сосуды вносят по 500 мл минеральной среды, соответствующее количество исследуемого вещества и активного ила для обеспечения концентрации растворенного кислорода от 50 до 400 мг/л (ХПК от 100 до 1000 мг/л) и 0,2—1,0 мг сухого материла на 1 л. Необходимо удостовериться в том, что соотношение между исследуемым веществом и активным илом (в пересчете на РОУ) находится между 2,5:1 и 4:1. Объем полученного раствора доводят до метки минеральной средой. Окончательный объем от 1 до 5 л зависит от числа проб, необходимых для определения концентрации РОУ или ХПК, и объемов, необходимых для проведения аналитических процедур; объем 2 л является приемлемым.

Параллельно используют один или два контрольных сосуда, содержащих только минеральную среду и активный ил в объемах, равных объемам тестируемых растворов.

Кроме того, в каждой серии тестов параллельно проводят контрольные тесты со стандартным веществом. Если требуется информация об абиотическом разложении, то может быть приготовлен стерильный раствор исследуемого вещества, содержащий активный ил.

4.7.8 Количество тестовых сосудов

При тестировании используют следующие сосуды:

- 1 или 2 сосуда, содержащие исследуемое вещество и активный ил;
- 1 или 2 сосуда, содержащие только активный ил; и
- 1 сосуд, содержащий стандартное вещество и активный ил.

Обязательно контролировать концентрацию растворенного органического углерода в тестируемом растворе и пробах с активным илом параллельно. Рекомендуется также контролировать концентрацию растворенного органического углерода параллельно и в других тестовых сосудах, но это не всегда возможно.

4.7.9 Процедура

Тест рассчитан, как правило, на 28 дней, проводится в темноте или при рассеянном свете при температуре 20 °С—25 °С. Аэрацию тестируемых растворов проводят очищенным увлажненным воздухом. При необходимости тестируемые растворы перемешивают для гарантии того, что ил не осаждается и концентрация растворенного органического углерода не опускается ниже 1 мг/л. Значение pH проверяют в регулярные интервалы (например, в каждый день отбора проб) и корректируют pH до 6,5—8,0 раствором NaOH (40 г/л) или H_2S0_4 (50 г/л), если это необходимо.

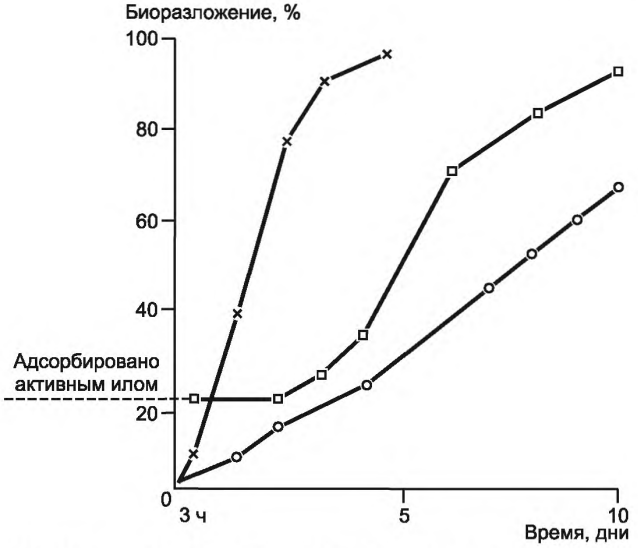
4.7.10 Подготовка проб

За процессом биоразложения исследуемого вещества наблюдают путем определения концентрации растворенного органического углерода и ХПК в пробах тестируемого раствора, отобранных в следующие периоды тестирования:

- 3 ч ± 30 минут после добавления исследуемого вещества для оценки любой адсорбции его активным илом (рисунок 1);
- по крайней мере 4 раза в интервале от 1 до 27-го дня тестирования;
- на 27-й и 28-й дни, или, если плато-фаза достигается менее чем за 28 дней, то в последние два дня тестирования.

Объем отобранной пробы зависит от типа углеродного анализатора. Дополнительный отбор проб может быть необходим для описания процесса достижения плато-фазы или процесса адаптации (см. 4.7.11).

Непосредственно перед каждым отбором проб восполняют потери тестируемого раствора вследствие испарения.



Вещества: × – пептон; □ – алифатический амин; ○ – гликольэфир

Рисунок 1 — Примеры кривых биоразложения (1)

4.7.11 Адаптация

Если необходимо следить за процессом адаптации (график 1, рисунок 2), то анализы концентрации растворенного кислорода и ХПК выполняются в течение относительно коротких интервалов (например ежедневно). Если адаптация происходит в последние дни тестирования, то его продлевают на период более 28 дней.

Если необходимо подробно описать поведения адаптированного ила, то тот же самый активный ил подвергают повторному воздействию исследуемого вещества. Для этого прекращают аэрацию и перемешивание и позволяют илу осесть. Удаляют поверхностную жидкость, сосуд заполняют минеральным раствором до первоначального объема, перемешивают в течение 15 мин и повторяют эту процедуру еще раз. В качестве альтернативы отделяют ил центрифугированием (4.7.6). Повторяют тест, используя восстановленный ил, который может быть дополнен свежим илом, если восстановленного ила недостаточно для получения выхода 0,2—1 г сухого материала/л.

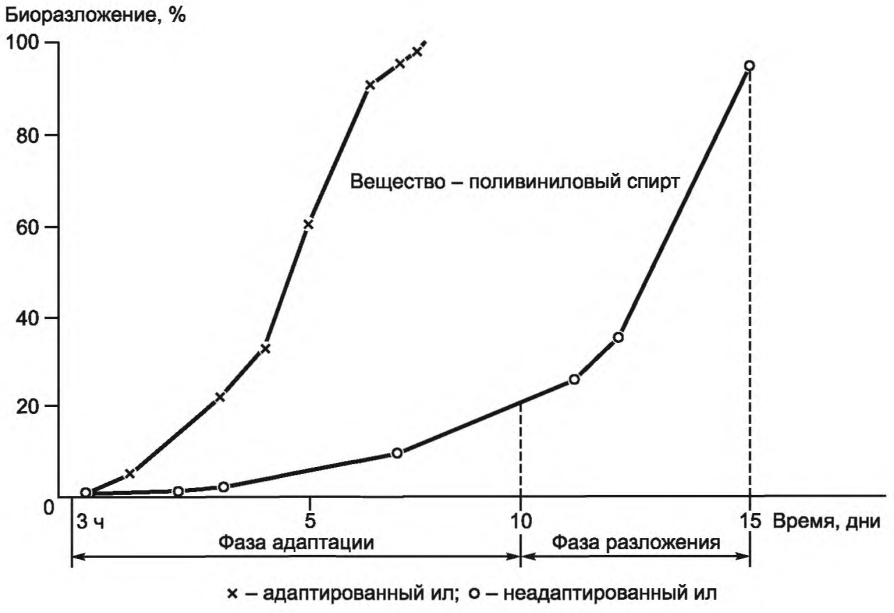


Рисунок 2 — Примеры кривых биоразложения (2)

4.7.12 Методы аналитического определения

Отобранные пробы (из тестируемых и контрольных растворов) фильтруют сразу после отбора, первые 5 мл фильтрата отбрасывают. Для фильтрования используют подходящие тщательно промытые бумажные или мембранные фильтры, не выделяющие и не адсорбирующие органические соединения. Фильтры три раза промывают в дистиллированной или деионизированной воде при температуре 60 °С, затем хранят их в воде. Для ила, который плохо поддается фильтрованию, используют центрифугирование или другой подходящий метод разделения.

Определяют концентрацию растворенного кислорода или ХПК в параллельных пробах после фильтрования или центрифугирования любым подходящим методом. Если анализ не может быть проведен в день отбора в день отбора пробы, то допускается хранение пробы при температуре 2 °С—4 °С максимально в течение 48 ч, или при температуре минус 18 °С в течение более длительного периода. Хранение в течение длительного периода не рекомендуется.

4.8 Данные и отчет о проведении тестирования

4.8.1 Обработка результатов

Биоразложение, %, для времени t вычисляется по соотношению (2):

$$D_t = \left[1 - \frac{C_t - C_B}{C_A - C_{BA}}\right] \cdot 100, \qquad (2)$$

где D_t — биоразложение, %, в момент времени t;

C_A — концентрация РОУ или ХПК в тестируемом растворе, измеренная по истечении 3 ч ± 30 мин периода инкубации;

C_t — концентрация РОУ или ХПК в тестируемом растворе в момент времени t;

C_{BA} — концентрация РОУ или ХПК в контрольном растворе, измеренная по истечении 3 ч ± 30 мин периода инкубации;

C_B — концентрация РОУ или ХПК в контрольном растворе в момент времени t.

Такие же вычисления проводят для стандартного вещества.

Зависимость биоразложения (в процентах) от времени изображают графически.

4.8.2 Достоверность и интерпретация данных

Результаты тестирования считаются достоверными, если в контрольном тесте происходит, как минимум, 70 %-ное биоразложение стандартного вещества в течение 14 дней и если снижение концентра-

ции РОУ или ХПК в тестируемом растворе происходит постепенно в течение нескольких дней или недель, поскольку это указывает на процесс биоразложения.

При этом в некоторых случаях может наблюдаться физико-химическая адсорбция. Это выявляется, если в течение первых 3 ч происходит полное или существенное удаление исследуемого вещества и различие между контрольными и тестируемыми растворами остается на низком уровне. В подобных случаях дополнительная информация может быть получена путем сравнения 3-часового значения, ожидаемого начального значения, определенного исходя из количества добавленного исследуемого вещества, и значения, измеренного до внесения прививочного материала. Если необходимо более точно определить различие между биоразложением и адсорбцией, то проводят дальнейшие тесты, предпочтительно респирометрический тест на способность к биоразложению, используя в качестве прививочного материала поверхностный раствор акклиматизированного активного ила.

Низкие или нулевые значения удаления исследуемого вещества могут иметь место вследствие ингибирования микроорганизмов, которое можно предотвратить путем проведения тестирования на ингибирование при используемой концентрации (5.7.7).

4.8.3 Отчет о проведении тестирования

Отчет о проведении тестирования должен содержать информацию об:

- исследуемом веществе:
  - физические характеристики и физико-химические свойства,
  - данные о химической идентификации;
- активном иле:
  - источник, концентрация, статус адаптации;
- условиях проведения тестирования:
  - используемые аналитические методы,
  - контрольная процедура и используемое стандартное вещество.

Результаты:

- кривая биоразложения;
- оценка токсичности;
- степень биоразложения, достигнутая в конце тестирования после 28 дней или ранее, если полное разложение достигается ранее, чем на 28-й день;
- любая значительная разница между концентрацией РОУ или ХПК в первой пробе по истечении 3 ч после начала тестирования и значение, рассчитанное исходя из количества добавленного исследуемого вещества как адсорбированное активным илом;
- фаза адаптации, фаза биоразложения и максимальный уровень биоразложения, отмеченные на кривой биоразложения.

5 Метод В — Модифицированный метод MITI (II)

5.1 Принцип метода

Принцип метода заключается в измерении биохимического потребления кислорода (БПК) и анализе остаточного содержания химических веществ в целях оценки способности к биоразложению химических веществ.

5.2 Информация об исследуемом веществе

Для вычисления теоретического потребления кислорода необходимо знать эмпирическую формулу исследуемого вещества.

Информация об относительном содержании основных компонентов в исследуемом веществе может быть полезной для интерпретации результатов.

Информация о токсичности химического вещества может быть полезной для выбора подходящих тестовых концентраций.

5.3 Применимость метода

5.3.1 Метод применим только для тех органических соединений, которые в тестовых концентрациях:

- имеют незначительное давление паров;
- не являются ингибирующими для микроорганизмов;
- не поглощаются и не реагируют с адсорбентом CO_2.

5.3.2 Если исследуемое вещество не растворяется в воде в тестовой концентрации, то такие меры, как ультразвуковое диспергирование, могут применяться для хорошего диспергирования исследуемого вещества.

5.4 Процедура тестирования

5.4.1 Подготовка оборудования и исследуемого вещества

5.4.1.1 Оборудование

БПК-метр, оборудованный 6 колбами объемом 300 мл каждая:

- колба 1 — содержит деионизированную воду (300 мл) и исследуемое вещество (9 мг);
- колбы 2, 3 и 4 — содержат основную питательную среду (300 мл) и активный ил (30 мг) (в пересчете на сухой остаток) и исследуемое вещество (9 мг);
- колба 5 — содержит основную питательную среду (300 мл) и активный ил (9 мг) (в пересчете на сухой остаток) и анилин (30 мг);
- колба 6 — содержит основную питательную среду (300 мл) и активный ил (30 мг) (в пересчете на сухой остаток).

5.4.1.2 Предварительная подготовка исследуемого вещества

В случае если исследуемое вещество является летучим, его необходимо предварительно охладить во избежание испарения.

При необходимости должна проводиться идентификация исследуемого вещества.

5.4.1.3 Подготовка синтетических сточных вод

Для подготовки 0,1 %-ного раствора синтетических сточных вод 1 г глюкозы, 1 г пептона и 1 г монокалия фосфата растворяют в 1 л деионизированнной воды, pH раствора приводят к 7,0 ± 1,0 раствором гидроксида натрия.

5.4.1.4 Подготовка основной питательной среды

По 3 мл каждого из растворов А, Б, В и Г смешивают и доводят до метки 1 л деионизированной водой. При приготовлении каждого из растворов также используется деионизированная вода.

Раствор А — 21,75 г дикалия гидрофосфата, 8,5 г калия дигидрофосфата, 44,6 г додекагидрата двухосновного фосфата натрия, 1,7 г аммония хлорида растворяют в воде и доводят до метки 1 л (pH раствора составляет 7,2).

Раствор Б — 22,5 г гептагидрата магния сульфата растворяют в воде и доводят до метки 1 л.

Раствор В — 27,5 г кальция хлорида растворяют в воде и доводят до метки 1 л.

Раствор Г — 0,25 г гексагидрата железа хлорида растворяют в воде и доводят до метки 1 л.

5.4.1.5 Подготовка активного ила

Активный ил отбирается не менее чем в 10 местах, особенно в районах, где происходит загрязнение окружающей среды химическими веществами, следующим образом: из реки, озера, болота или моря отбирают по 1 л поверхностных вод и 1 л поверхностной почвы на побережье.

Активный ил отбирается 4 раза в год — в марте, июне, сентябре и декабре.

Подготовка пробы активного ила: отобранные образцы активного ила смешивают в одном контейнере и дают отстояться смеси. Всплывающие частицы удаляют, поверхностный раствор фильтруют через фильтровальную бумагу. pH фильтрата приводят к 7,0 ± 1,0 гидроксидом натрия или фосфорной кислотой, фильтрат переносят в сосуд подходящего объема и проводят аэрацию.

Питательная культура: через 30 мин после окончания аэрации полученного раствора примерно 1/3 поверхностного раствора отбрасывают. Равный объем 0,1 %-ного раствора синтетических сточных вод добавляют вместо удаленного поверхностного раствора, проводят повторную аэрацию. Данная процедура повторяется один раз в день. Культивирование проводят при температуре (25 ± 2) °С.

Контроль за процедурой культивирования устанавливают по следующим параметрам:

- внешний вид поверхностного раствора: поверхностный раствор должен быть прозрачным;
- осаждаемость активного ила: активный ил должен осаждаться крупными хлопьями;
- образование активного ила: если хлопья ила не образуются, то добавляют объем 0,1 %-ного раствора синтетических сточных вод;
- pH: pH поверхностного раствора составляет 7,0 ± 1,0;
- температура: культивирование активного ила проводят при температуре (25 ± 2) °С;
- аэрация: концентрация растворенного кислорода должна поддерживаться на уровне более 5 ppm;
- микрофлора активного ила: при микроскопическом обследовании активного ила (при 100—400-кратном увеличении) с хлопьями ила должны наблюдаться протозоа различных видов;

- смешивание свежего и старого активного ила: для поддержания одинаковой активности свежего и старого активного ила фильтрат поверхностного раствора активного ила, используемого в тесте, перемешивается с равным объемом фильтрата поверхностного раствора свежего активного ила, и смесь культивируется.

- проверка активности активного ила: активность активного ила необходимо периодически проверять (как минимум, один раз в три месяца) с использованием стандартных веществ, применяя тестовые методы, описанные ниже. При смешивании свежего и старого активного ила, тщательная проверка должна быть проведена в отношении старого активного ила.

5.4.1.6 Добавление исследуемого вещества и подготовка к тесту

Тестовые сосуды готовят следующим образом:

1) сосуд 1, содержащий питательную культуру, в который добавляют 30 г/л исследуемого вещества; при необходимости перед инокуляцией активным илом pH раствора приводят к 7,0;

2) сосуд 2 для проведения контрольного тестирования, содержащий только питательную культуру;

3) сосуд 3, содержащий деионизированную воду с добавлением 30 г/л исследуемого вещества;

4) сосуд 4, содержащий питательную культуру, в который добавляют 100 г/л анилина или другого стандартного вещества.

5.4.1.7 Инокуляция активным илом

Активный ил добавляют в тестовые сосуды 1 и 2 так, чтобы концентрация взвешенных веществ составляла 100 ppm по объему, как описано в приложении В.

Для сосуда 4 требуемая концентрация взвешенного материала составляет 30 ppm.

5.5 Условия проведения тестирования

Концентрация исследуемого вещества: 30 ppm (г/л);

Концентрация активного ила: 100 ppm (г/л);

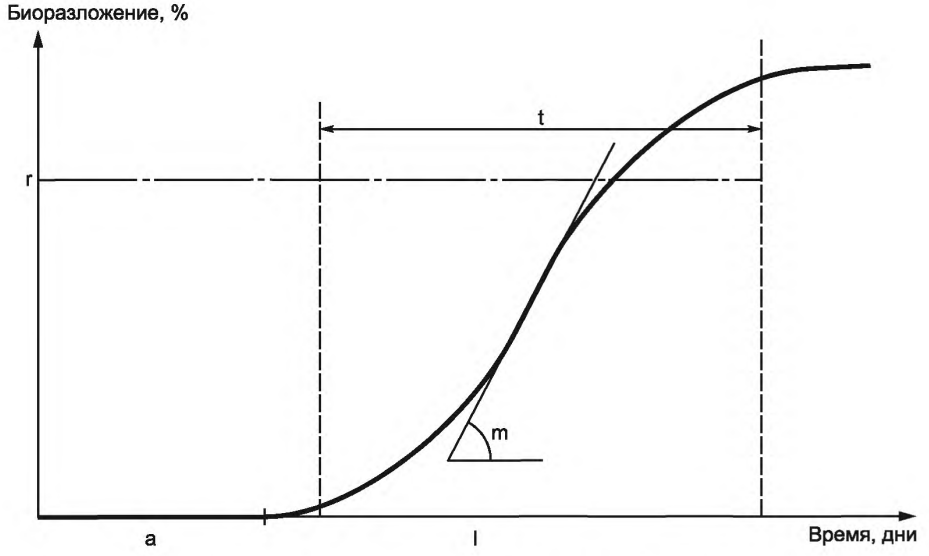
Температура проведения тестирования: 25 ± 2 °С;

Продолжительность тестирования: от 14 до 28 дней;

Тестирование проводится в темноте. Температуру и изменение цвета содержимого сосуда необходимо проверять ежедневно. Содержимое сосуда энергично перемешивают механической мешалкой.

5.6 Проведение тестирования

5.6.1 Кривую биоразложения (рисунок 3) постоянно регистрируют в течение 14 и 28 дней.



a — период адаптации; l — период логарифмического роста (лаг-фаза); m — максимальная скорость биоразложения; r — требуемый уровень биоразложения; t — время

Рисунок 3 — Кривая биоразложения

5.6.2 Через 14 и 28 дней тестов измеряют pH и проводят анализ остаточного содержания химических веществ и промежуточных соединений в тестовых сосудах.

5.6.3 Проводят анализ содержания исследуемого вещества в тестовом сосуде без активного ила для определения, произошли ли какие-либо изменения в исследуемом веществе в период тестирования или какие-либо потери исходного исследуемого вещества за счет адсорбции на стенках тестового сосуда.

5.7 Аналитические процедуры

5.7.1 Если исследуемое вещество растворимо в воде, то определяется остаточное содержание полного органического углерода:

a) в случае, если проводится анализ содержания полного органического углерода: 10 мл исследуемого раствора отбирается из тестового сосуда и центрифугируется при 3000 g (3000 м/с^2) в течение 5 мин. Затем с помощью анализатора определяют остаточное содержание полного органического углерода в поверхностном растворе.

b) при использовании других анализаторов: содержимое тестового сосуда экстрагируют с помощью подходящего растворителя и после необходимой подготовки, например концентрирования, остаточное содержание углерода определяется с помощью аналитической процедуры (газовая хроматография, абсорбционная спекрометрия, масс-спектрометрия, атомная абсорбционная спетрофотометрия и пр.).

В случае исследования летучих веществ тестируемые растворы охлаждают до температуры 10 °С, которая поддерживается в течение, как минимум, 30 мин для предотвращения испарения. Далее должны использоваться аналитические процедуры а) и б) по 5.8.1.

5.8 Данные и отчет о проведении тестирования

5.8.1 Обработка результатов:

а) при измерении потребления кислорода биоразложение, %, вычисляется по следующему соотношению (3):

$$D = \frac{\text{БПК} - \text{Б}}{\text{ТПК}}, \quad (3)$$

где D — биоразложение, %;

БПК — биологическое потребление кислорода (экспериментальное, мг) исследуемого вещества, определенное по кривой БПК;

Б — потребление кислорода (экспериментальное, мг) основной питательной среды, в которую добавляют активный ил, измеряется по кривой БПК;

ТПК — теоретическое потребление кислорода (теоретическое, мг), требующееся для полного окисления исследуемого вещества;

б) при прямом измерении биоразложение, %, вычисляется по следующему соотношению (4):

$$\%D = \frac{S_b - S_a}{S_b} \cdot 100\ \%, \quad (4)$$

где D — биоразложение, %;

S_a — остаточное содержание (экспериментальное, мг) исследуемого вещества после завершения исследования процесса биоразложения;

S_b — среднее остаточное содержание (экспериментальное, мг) исследуемого вещества в двух контрольных тестированиях с деионизированной водой, в которую было добавлено исследуемое вещество.

5.8.2 Оценка результатов

Вычисляют теоретическое потребление кислорода:

Элемент	Окисленная форма
C	CO_2
H	H_2O
N	NO_2
S	SO_2
X (галоген)	X

5.8.3 Отчет о проведении тестирования

Отчет о проведении тестирования должен содержать информацию об:

- исследуемом веществе:
  - наименование, структурная формула, молекулярная масса, чистота, характер примесей, физико-химические свойства, данные о химической идентификации;
- условиях проведения тестирования:
  - активный ил: место отбора пробы активного ила,
  - концентрация исследуемого вещества,
  - продолжительность тестирования,
  - температура;
- аналитических процедурах:
  - предварительная подготовка,
  - аналитические характеристики оборудования,
  - воспроизводимость аналитического метода,
  - идентификация промежуточных соединений.

Результаты:

- кривые БПК и оборудование;
- БПК, мг;
- Б, мг;
- S_a, мг;
- S_b, мг;
- ТПК, мг;
- биоразложение по БПК, %;
- биоразложение при химическом анализе, %;
- хроматограммы или спектры химических веществ, полученных или используемых для анализа.

Интерпретация результатов:

- биоразложение исследуемого вещества оценивается по сравнению с биоразложением анилина (стандартное вещество).

Если биоразложение анилина, вычисленное на основании потребления кислорода, не превышает 40 % после 7 дней и 65 % после 14 дней, то тест признается недействительным. Если воспроизводимость S_b составляет менее 10 %, то тест также признается недействительным.

В условиях тестирования изменения основного потребления кислорода могут быть значительно больше чем при стандартных условиях, поэтому оценку исследуемого вещества с использованием кривой БПК следует проводить очень внимательно. Концентрация исследуемого вещества ниже, поэтому абсолютное значение БПК может быть ниже, чем значение БПК в стандартных условиях.

Приложение А
(справочное)

Принцип работы закрытой системы измерения потребления кислорода

Для измерения потребления кислорода микроорганизмами с помощью электрохимического анализа (рисунок А.1) используется кулометр.

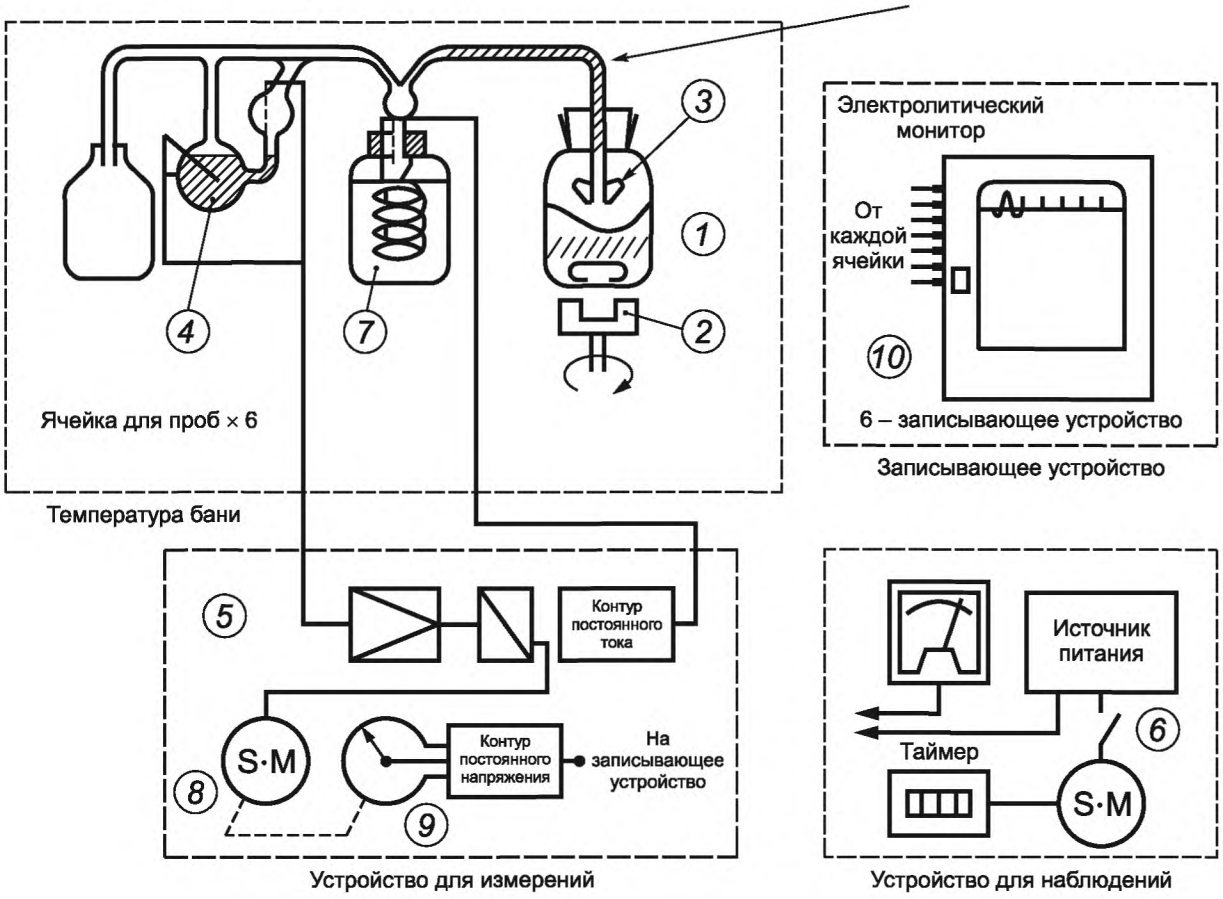


Рисунок А.1 — Закрытая система измерения потребления кислорода

Тестируемый раствор, помещенный в сосуд для культивирования *1*, перемешивается магнитной мешалкой *2*. Растворенный в жидкости кислород потребляется в процессе биоразложения. В результате потребления кислорода выделяется углекислый газ, заполняя пространство в сосуде, ранее занятое кислородом. Поскольку углекислый газ поглощается натронной известью *3*, то парциальное давление кислорода в свободном пространстве и общее давление уменьшаются.

Падение давления фиксируется и преобразуется в электрический сигнал с помощью манометра электродного типа *4* и проходит через усилитель *5* для преобразования на релейной схеме *6*, в результате чего срабатывает синхронный электродвигатель *8*. В то же время постоянным током генерируется электролитический кислород из раствора медного купороса, содержащегося в электролитической ячейке *7*.

Кислород подается из сосуда для культивирования, и восстановление давления фиксируется с помощью манометра *4*, в результате чего происходят выключение релейной схемы, остановка электролиза и синхронного электродвигателя.

В верхнем пространстве сосуда для культивирования поддерживается постоянное давление кислорода, количество кислорода, потребляемого в сосуде для культивирования, пропорционально электролитическому кислороду. Поскольку количество электролитического кислорода пропорционально времени электролиза, то существует постоянный электролитический ток. Угол оборота синхронного электродвигателя *9* конвертируется в сигнал (мВ) с помощью связанного потенциометра, в результате индикаторное количество потребленного кислорода регистрируется *10*.

Приложение В
(справочное)

Взвешенные вещества

Взвешенные вещества — вещества, которые могут быть выделены из раствора фильтрацией или центрифугированием. В случае если тестируемый раствор трудно поддается фильтрации, может применяться центрифугирование. Если тестируемый раствор содержит значительное количество взвешенных веществ, то при фильтровании используется воронка Бюхнера.

Проба воды отбирается из воды, пропущенной через 2 мм сито. Для проведения определения необходимо, как минимум, 5 мг фильтрата.

В.1 Фильтрование через фильтровальную бумагу

В.1.1 Оборудование

Фильтр из пористого стекла: тигельный фильтр из пористого стекла 1G2 или воронкообразный фильтр из пористого стекла Бюхнера 3G2.

В.1.2 Процедура

Готовят два фильтра из пористого стекла одинакового типа и примерно одинакового веса; помещают в них шесть листов фильтровальной бумаги, через которые пропускают дистиллированную воду так, чтобы фильтры склеились за счет вакуумного всасывания.

Затем фильтры переносят в воздушную печь и высушивают в течение 2 ч при температуре 105 °С—110 °С. Фильтры охлаждают в эксикаторе, а затем взвешивают. При использовании аналитических весов более легкий фильтр может применяться в качестве дополнительного веса. Необходимое количество тестируемого раствора пропускают через фильтр бóльшей массы, фильтруют путем всасывания, промывают стенки фильтра несколько раз фильтратом для того, чтобы смыть вещества, осажденные на стенках. Количество тестируемого раствора необходимо подбирать таким образом, чтобы масса взвешенных веществ после высушивания не превышала 5 мг. Достаточно использовать 200 мл тестируемого раствора. Тестируемый раствор необходимо фильтровать порциями по 10 мл, используя мерный цилиндр (в случае, если процесс фильтрования затруднителен). Далее фильтрат пропускают несколько раз через более легкий фильтр, фильтруют путем всасывания. Два фильтра высушивают в течение 2 ч при температуре 105 °С—110 °С в эксикаторе. Взвешивают каждый фильтр (при использовании аналитических весов более легкий фильтр может применяться в качестве дополнительного веса), рассчитывают разницу в весе до и после фильтрации тестируемого раствора, вычисляют количество взвешенных веществ, ppm, по следующему соотношению (5):

$$S = (a - b) \cdot \frac{1000}{V}, \quad (5)$$

где S — взвешенные вещества, ppm;

a — разница в массе до и после фильтрации тестируемого раствора (мг);

b — разница в массе до и после фильтрации тестируемого раствора (мг) (при использовании аналитических весов $b = 0$);

V — объем тестируемого раствора, мл.

Примечания

1 Для определения потерь, понесенных от воспламенения летучих взвешенных веществ, тест необходимо проводить, используя фильтр из стекловолокна, или после промывки взвешенных веществ вместе с фильтровальной бумагой в тигле или чашке для выпаривания, высушивать и сжигать в муфельной печи.

2 В случае если растворимый выпаренный остаток составляет менее 500 ppm, уточнение (для разницы в массе фильтрата до и после фильтрации) допускается не проводить. Однако при использовании аналитических весов более легкий фильтр должен применяться в качестве дополнительной массы. Должна быть проведена повторная фильтрация фильтрата.

При использовании весов с прямым отсчетом масса изменяется в зависимости от гигроскопических свойств веществ, содержащихся в тестируемом растворе, и от других условий, поэтому желательно, чтобы уточнение было проведено путем получения холостой величины для фильтра, через который пропускают фильтрат. В случае если тестируемый раствор содержит жиры или масла, смазочные вещества, воск и пр., часть данных материалов должна быть определена как взвешенные вещества.

В случае если требуется определение взвешенных веществ отдельно от жиров и масел, необходимо пропускать по 10 мл н-гексана несколько раз через фильтр, который был высушен и взвешен после фильтрации, и вымывать жиры и масла. После этого фильтр высушивают и взвешивают.

3 Метод фильтрования через стекловолокно: на подходящей подставке закрепляют фильтр с известной массой, который после промывки был высушен при температуре 100 °С—105 °С в течение 2 ч. Добавляют тестируемый раствор так, чтобы масса взвешенных веществ после высушивания составляла более 5 мг. После вакуумной фильтрации порцию фильтрата возвращают в сосуд, содержащий тестируемый раствор. Взвешенные вещества, осевшие на стенках сосуда, смывают и снова фильтруют через стекловолокно вакуумной фильтрацией. Данную операцию повторяют несколько раз. Затем стекловолокно отделяют от фильтра и помещают в сосуд с дистиллированной водой. Дальнейшие действия предпринимают в соответствии с методом воронки Бюхнера и определяют количество взвешенных веществ в частях на миллион (ppm).

После определения количества взвешенных веществ устанавливают воспламеняющийся остаток взвешенных веществ в соответствии с процедурой, описанной для фильтрации через асбестовый фильтр.

В.2 Метод воронки Бюхнера

Данный метод может использоваться для проб, содержащих большое количество взвешенных веществ.

В.2.1 Оборудование

Перфорированная тарелка, изготовленная из нержавеющей стали, приблизительно 0,5 мм толщиной, 50 или 90 мм в диаметре, с небольшими отверстиями примерно 0,5 мм в диаметре.

Резиновая прокладка: резиновое кольцо толщиной от 2 до 3 мм, от 10 до 90 мм в диаметре и примерно 10 мм шириной, может быть помещено в воронку Бюхнера и использовано для вакуумной фильтрации с перфорированной тарелкой.

Воронка Бюхнера: 50 или 90 мм.

В.2.2 Процедура

Готовят две перфорированные тарелки. Резиновую прокладку опускают в воронку Бюхнера, затем на воронку помещают перфорированную тарелку. Закрепляют фильтровальную бумагу (класс 6) и несколько раз фильтруют воду вакуумным отсасыванием. Затем удаляют фильтровальную бумагу и перфорированную тарелку, высушивают в течение 2—3 ч при температуре от 105—110 °С. Охлаждают в сушильном шкафу и взвешивают до постоянной массы (при использовании аналитических весов более легкий фильтр применяется в качестве дополнительной массы).

Затем помещают более тяжелую перфорированную тарелку вместе с фильтровальной бумагой на воронку и фильтруют от 200 до 400 мл тестируемого раствора. Затем фильтрат пропускают через более легкий фильтр и перфорированную тарелку.

Определяют разницу в массе до и после фильтрования, рассчитывают количество взвешенных веществ, ppm, содержащихся в тестируемом растворе, по соотношению (6):

$$S = (a - b) \cdot \frac{1000}{V}, \qquad (6)$$

где S — взвешенные вещества, ppm;

a — разница в массе до и после фильтрации тестируемого раствора, мг;

b — разница в массе до и после повторной фильтрации, мг (при использовании аналитических весов $b = 0$);

V — объем тестируемого раствора, мл.

В.3 Фильтрация через асбестовый фильтр

В.3.1 Оборудование

Тигель Гуча, от 25 до 35 мл.

В.3.2 Реагенты

Суспензия асбеста: 15 г асбеста разводят дистиллированной водой и после удаления небольших порций путем фильтрования доводят водой до метки 1 л.

В.3.3 Фильтрация

Готовят два тигля Гуча (одинаковой формы и примерно одинакового веса). После высушивания тиглей в них наливают порядка 20 мл хорошо перемешанной суспензии асбеста для получения слоя асбеста примерно 3 мм толщиной, весом около 0,3 г (когда вылита половина раствора асбеста, в тигель помещают перфорированную тарелку и выливают другую половину раствора) и проводят фильтрацию.

Затем помещают тигли Гуча в воздушную печь. После высушивания в течение 2 ч при температуре 105—110 °С охлаждают до постоянного веса в эксикаторе и измеряют массу каждого тигля (при использовании аналитических весов более легкий тигель применяется в качестве дополнительного веса). Подсоединяют более тяжелый тигель к отсосной емкости и заливают достаточное количество тестируемого раствора так, чтобы масса взвешенных веществ составляла более 5 мг после высушивания, затем аккуратно фильтруют. В то же время осуществляют повторную фильтрацию.

Затем заливают малое количество фильтрата в более легкий тигель и фильтруют несколько раз, высушивают в воздушной печи в течение 2 ч при температуре 105 °С—110 °С, охлаждают в эксикаторе. Взвешивают тигель для определения разницы в массе (используя тигель как дополнительный вес) и вычисляют количество взвешенных веществ в ppm по соотношению (7):

$$S = (a - b) \cdot \frac{1000}{V}, \quad (7)$$

где S — взвешенные вещества, ppm;

a — разница в массе до и после фильтрации тестируемого раствора, мг;

b — разница в массе до и после повторной фильтрации, мг (при использовании аналитических весов $b = 0$);

V — объем тестируемого раствора, мл.

Примечание — Тестируемый раствор должен быть подготовлен так, как описано в методе для фильтрации через стекловолокно.

В.4 Центрифугирование

Данный метод используется для образцов, которые трудно поддаются фильтрации в силу содержания большого количества взвешенных веществ.

В.4.1 Оборудование

Центробежный сепаратор (центрифуга) со скоростью 2000 об/мин. Емкость для осаждения объемом от 50 до 100 мл.

В.4.2 Процедура центрифугирования

В колбу для осаждения заливают достаточное количество тестируемого раствора для обеспечения содержания взвешенных веществ боле 5 мг.

После взвешивания колбы проводят центрифугирование при 2000 об/мин в течение 20 мин и осаждение взвешенных веществ в тестируемом растворе. Поверхностную жидкость удаляют.

Добавляют 10 мл тестируемого раствора к осадку, снова проводят центрифугирование и сливают поверхностную жидкость. Если необходимо проводить определение растворимого осадка, то поверхностную жидкость сохраняют.

Переносят осадок в чашку для выпаривания, предварительно нагретую до постоянной массы при 105 °С—110 °С и полностью высушивают осадок на паровой бане. После высушивания в сушильном шкафу в течение 2 ч при температуре 105 °С—110 °С охлаждают и взвешивают (при использовании аналитических весов чашку для выпаривания такой же формы допускается использовать в качестве дополнительной массы). Разницу в массе определяют до и после проведения центрифугирования. Массу взвешенных веществ, ppm, определяют по соотношению (8):

$$S = (a - b) \cdot \frac{1000}{V}, \quad (8)$$

где S — взвешенные вещества, ppm;

a — разница в весе до и после фильтрации тестируемого раствора, мг;

b — разница в весе до и после повторной фильтрации, мг (при использовании аналитических весов $b = 0$);

V — объем тестируемого раствора, мл.

Примечание — Для проведения центрифугирования должна быть установлена разница в плотности между дисперсной и дисперсионной фазами. Если частица весом 1 мг центрифугируется с угловой скоростью w, рад/с, в позиции r, см от центра вращения, то центробежная сила рассчитывается следующим образом (9):

$$F = (m - m')w^2 r. \quad (9)$$

Принимая во внимание, что центробежная сила RCF и частота вращения в минуту N, об/мин, соотносятся, как указано ниже:

$$RCF = \frac{F}{(m - m)g} = \frac{w^2 r}{g} = 0{,}00001118 r N^2,$$

центробежная сила у поверхности жидкости отличается от центробежной силы в нижней части жидкости. Например, при $N = 2000$ об/мин и расстоянии между поверхностью жидкости в емкости для осаждения и центром вращения, равным 5 см ($r = 5$ см), $RCF = 223$ г, при расстоянии от поверхности жидкости в емкости для осаждения и центральной осью вращения $RCF = 581$ г. Таким образом, величина RCF должна быть рассчитана как для поверхности жидкости, так и для нижней части жидкости.

Глубина слоя жидкости h рассчитывается следующим образом:

$$\frac{(RCF \text{ на основании}) - (RCF \text{ на поверхности})}{(RCF \text{ на основании})} \cdot (\text{расстояние до основания}).$$

За стандарт принимают центробежный сепаратор, основание которого находится на расстоянии 13 см от центральной оси вращения с частотой вращения 2000 об/мин.

В.4.3 Расчет количества взвешенных веществ из разницы в массе между полным выпаренным осадком и растворимым выпаренным осадком

Рассчитывают количество взвешенных веществ из разницы в весе между полным выпаренным осадком и растворимым выпаренным осадком по следующему соотношению (10):

$$A = B - C, \quad (10)$$

где A — взвешенные вещества, ppm;

B — полный выпаренный осадок, ppm;

C — растворимый выпаренный осадок, ppm.

Приложение С
(справочное)

Взвешенные вещества, образующиеся при pH = 7

С.1 Для взвешенных веществ, образующихся при нейтрализации тестируемого раствора до pH = 7 ± 0,5

С.1.1 Реагенты:

- NaOH (натрия гидроксид) раствор (от 4 до 24 масс/об %);
- уксусная кислота, разбавленная 1:2 до 1:16, кислота: вода.

С.1.2 Процедура

Помещают достаточное количество тестируемого раствора (содержание взвешенных веществ должно составить более 5 мг) в пробирку и проводят нейтрализацию раствором гидроксида натрия или разбавленной уксусной кислотой в зависимости от pH тестируемого раствора, принимая во внимание увеличение объема раствора за счет добавления нейтрализующих агентов. Затем действуют в соответствии с процедурами, описанными выше, для получения взвешенных веществ при pH = 7 и вычисляют количество взвешенных веществ, образующихся при pH = 7, ppm, по соотношению (10).

Примечания

1 В зависимости от тестируемого раствора количество взвешенных веществ при нейтрализации может уменьшаться. В подобных случаях количество взвешенных веществ должно представляться как количество взвешенных веществ, образующихся при pH = 7.

2 Взвешенные вещества, образующиеся при pH = 7, могут быть определены вместе с поверхностной жидкостью или фильтратом после удаления взвешенных веществ. Данный метод используется для тестируемого раствора, содержащего относительно малое количество взвешенных веществ, которые в то же время могут образовывать большое количество осадка при нейтрализации (без изменения начальных взвешенных веществ), или для сточных вод, которые образуют относительно малое количество осадка. Данный метод не должен применяться для сточных вод, которые могут образовывать комплексные осадки или разлагаются при нейтрализации.

УДК 658.382.3:006.354 МКС 71.040.50 Т58 IDT

Ключевые слова: химическая продукция, окружающая среда, водная среда, метод испытаний, биоразложение, инокулят, активный ил

Редактор *Г.В. Зотова*
Технический редактор *Е.В. Беспрозванная*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 24.02.2015. Подписано в печать 25.03.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,30. Тираж 32 экз. Зак. 1419.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru