

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по определению биохимического потребления кислорода
при санитарной оценке воды в рыбохозяйственных водоемах

1. Общие положения

1.1. Методические указания предназначены для оценки ветеринарно-санитарного состояния рыбохозяйственных водоемов методом определения биохимического потребления кислорода за пять суток (БПК₅), который позволяет установить загрязненность воды по количеству кислорода, израсходованного за пять суток на аэробное биохимическое разложение органических веществ, содержащихся в исследуемой воде (при температуре 20°C, в мг/л O₂).

1.3. Метод БПК; может быть использован в качестве дополнительного для санитарной оценки воды рыбохозяйственных водоемов. Простота метода позволяет проводить исследование непосредственно в хозяйстве. Особенно важны эти исследования при выборе водисточника для сооружения новых хозяйств.

2. Отбор проб

2.1. Пробы воды берут в чистые стеклянные сосуды емкостью 1-2 л с глубины 0,25-0,5 м от поверхности воды и не менее 10-15 см от дна, не допуская взмучивания грунта. Из проруби пробы берут на глубине 10-15 см от нижней поверхности льда. Для отбора глубинных проб применяют батометры Рутнера, Францева и др. Перед взятием проб сосуд два-три раза ополаскивают водой из исследуемого водоема.

2.2. Из больших водоемов пробы берут в нескольких местах с учетом гидробиологических особенностей каждого участка (заросли, заболоченные участки, плесы и т.д.), в однотипных по гидробиологическим показателям водоемах - в одном-двух местах на расстоянии 3-4 м от берега.

2.3. Пробы для определения БПК₅ не консервируют. К исследованию приступают не позднее, чем через 5 часов с момента отбора. При хранении проб при 3-4°C допускается проведение исследований через 12 часов.

2.4. К отобранной пробе прилагают сопроводительный документ, в котором указывают наименование и местонахождение водоема, дату отбора пробы, место (расстояние от берега, глубина); метеорологические условия (температура воды в день отбора пробы и за последние 10 дней, сила и направление ветра); особые обстоятельства, которые могут повлиять на результаты исследования; должность и фамилию лица, производившего отбор пробы.

3. Определение БПК₅

3.1. Определение БПК₅ проводится в первоначальной или соответственно разбавленной пробе по разности между содержанием кислорода до и после инкубации в течение пяти суток без доступа кислорода и света.

3.2. Определение кислорода в воде можно проводить любым из существующих методов - йодометрическим определением по Винклеру (см. приложение 1), пирофосфатным, полярографическим или электродметрическим с применением автоматически действующего прибора "Зонд".

3.3. Содержание кислорода в первоначальной или разбавленной пробе должно оставаться в течение всего периода инкубации таким, чтобы были обеспечены нормальные условия протекания аэробных биохимических процессов. Эти условия будут соблюдены, если анализируемая проба перед началом определения будет насыщена кислородом воздуха (приблизительно до 8-9 мг/л O₂ при 20°C), и если во время инкубации произойдет снижение концентрации кислорода на 2 мг/л или больше, но так, чтобы спустя пять суток она составляла не менее 2 мг/л O₂.

3.4. Пробы с предполагаемым БПК от 0 до 6 мг/л O₂ исследуют без разбавления. Пробы с предполагаемым БПК; выше 6 мг/л O₂ необходимо разбавлять. В случае, когда предполагаемое БПК₅ неизвестно, рекомендуется делать несколько разбавлений: 1; 0,5; 0,2.

3.5. Рекомендуется следующее разбавление проб исследуемой воды:

Разбавление	Объем пробы в 1 л смеси, мл	Диапазон определяемого БПК ₅ , мг/л	Округление результатов
1	неразбавленная проба	0-6	0,1
0,5	500	4-12	0,2
0,2	200	10-30	0,5

0,1	100	20-60	1,0
0,05	50	40-120	2,0
0,02	20+	100-300	5,0
0,01	10+	200-600	10,0
0,005	5++	400-1200	20,0
0,002	2++	1000-3000	50,0
0,001	1++	2000-6000	100,0

- + - при отмеривании цилиндром необходимо провести добавочное разбавление;
 ++-при отмеривании пипеткой необходимо провести добавочное разбавление.

3.6. Требуемое разбавление можно ориентировочно рассчитать по результату определения окисляемости: величину окисляемости воды, выраженную в мг/л, делят на 4 или 5. Полученный результат показывает, во сколько раз следует разбавить исследуемую воду.

3.7. При определении БПК₅ рН воды устанавливают в пределах 6,5-8,5.

3.8. Исследуемую воду (при 20°C) наливают в бутылку на 2/3 объема и аэрируют путем встряхивания или продувания воздуха. Затем с помощью сифона воду наливают в четыре склянки с притертыми пробками. Лучше применять склянки с притертыми пробками и шлифованными колпачками. В таком случае при постановке склянок на пятисуточную инкубацию в колпачок наливают дистиллированную воду, и склянки ставят вверх дном. Склянки без шлифованных колпачков помещают в кюветы пробкой вниз - так, чтобы пробка была под водой, которую наливают в кюветы.

3.9. В двух склянках (параллельные пробы) кислород определяют не позднее, чем через 15 минут. Его содержание должно быть примерно 8-9 мг/л O₂.

3.10. Две другие склянки помещают в термостат при 20°C или при комнатной температуре (без доступа света) на пять суток. Затем в них определяют содержание кислорода. Оно должно быть не менее 2 мг/л O₂.

3.11. Вычисляют БПК₅ неразбавленной пробы по формуле:

$Y = A_1 - A_2$, где:

Y - искомое БПК₅, в мг/л O₂;

A₁ - содержание растворенного в воде кислорода до инкубации в мг/л O₂.

A₂ - содержание растворенного в воде кислорода после инкубации в течение пяти суток в мг/л O₂.

3.12. Определение БПК₅ методом разбавления проводят при его значении больше 6 мг/л O₂

3.13. Испытываемую воду (20°C) смешивают с разбавляющей водой (20°C) (см. приложение 1).

3.14. Разбавленную пробу аэрируют, наливают в склянки и определяют содержание кислорода так же, как при определении БПК₅ неразбавленной пробы. Для контроля определяют БПК₅ разбавляющей воды.

3.15. Вычисляют БПК₅ разбавленной пробы по формуле:

$X = (B_1 - B_2) / P$, где:

X - искомое БПК₅ в мг/л O₂,

B₁ - концентрация растворенного кислорода в пробе воды до инкубации;

B₂ - концентрация растворенного кислорода в пробе воды на пятый день инкубации;

P - разбавление, т.е. объем пробы в 1 л смеси пробы и разбавляющей воды.

3.16. Для проб, исследование которых проводилось при нескольких разбавлениях, приводят результат того определения, где было израсходовано приблизительно 50% кислорода от первоначального его содержания.

3.17. При записи результатов отмечают разбавление (P) и предварительную обработку пробы.

4. Оценка результатов

4.1. В зависимости от величины БПК₅ все водоемы разделяются на три категории (по среднеарифметической величине всех проб исследования за сезон эксплуатации):

Категория	Оценка	Величина БПК ₅ мг/л O ₂
Первая	чистые	до 7
Вторая	загрязненные	от 7 до 14
Третья	грязные	свыше 14

- 4.2. Водоемы первой категории (чистые) наиболее отвечают ветеринарно-санитарным требованиям и могут эксплуатироваться без ограничений.
- 4.3. Допускается эксплуатация высокопродуктивных карповых прудов второй категории (загрязненные). В таких прудах в течение сезона эксплуатации происходит колебание БПК₅, от показателей первой категории до показателей третьей. Водоснабжение водоемов этой категории производится, как правило, из чистых водоемисточников.
- 4.4. Водоемы третьей категории (грязные) не должны использоваться для карпового рыбоводства. Водоемы этой категории необходимо выводить на летование или реконструировать систему водоснабжения.
- 4.5. При повышении БПК₅ до 20 мг/л О₂ могут наступить заморные явления среди рыб. Поэтому необходимо принимать меры к снижению этого показателя путем увеличения проточности, аэрации и др. С утверждением настоящих Методических указаний утрачивают силу Методические указания по санитарной оценке воды, используемой в карповом рыбоводстве, путем определения биохимического потребления кислорода за пять суток. (БПК₅), утвержденные ГУВ МСХ СССР 5 марта 1979 г.

Приложение 1
к "Методическим указаниям по определению
биохимического потребления кислорода при
санитарной оценке воды в рыбохозяйственных
водоемах", утв. 4 октября 1999 г.

1. Аппараты и реактивы

Сосуды емкостью 1-2 л для отбора проб исследуемой воды;

Приборы для определения растворенного в воде кислорода (в зависимости от метода определения: электрохимический анализатор кислорода "ЭГ-152-003", анализатор АКВА-Л; переносный кислородомер типа КМ-101);

Склянки емкостью 150-300 мл с притертыми пробками, калиброванные с точностью до 0,1 мл;

Устройство для аэрации (шары Ричардсона, компрессоры для аквариумов и др.);

Пипетки на 1, 2, 5, 10 мл с подразделением через 0,1 мл;

Цилиндры на 100, 250, 500 мл;

Весы оптические или рычажные;

Весы аналитические;

Дистиллированная вода;

Разбавляющая вода (готовится в день применения из дистиллированной воды, не содержащей меди, цинка, железа, хлора, хлорамина, органических веществ). К 1 л дистиллированной воды прибавляют по 1 мл следующих четырех растворов, приготовленных из расчета на 1 л дистиллированной воды из реактивов ч.д.а.;

1) фосфатно-буферный рН 7,2 (8,5 г KH_2PO_4 ; 21,75 г K_2HPO_4 ;

33,4 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 1,7 г NH_4Cl);

2) сульфат магния (22,5 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$);

3) хлорид кальция (27,5 безводного CaCl_2);

4) хлорид железа (0,25 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

2. Реактивы для определения растворимого в воде кислорода по методу Винклера:

Раствор сульфата марганца или хлорида марганца (400 г $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ или 480 г $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ или 364 г $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ или 425 г $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 1 л дистиллированной воды);

Щелочной раствор йодида калия (700 г КОН или 500 г NaOH и 150 г йодида калия растворяют в 1 л дистиллированной воды);

Концентрированная соляная кислота (HCl) х.ч. уд.в. 1,19 или 25% серная кислота х.ч. (H_2SO_4); 0,01 или 0,02 и раствор тиосульфата натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)

(1 мл 0,01 и раствора тиосульфата натрия эквивалентен 0,008 мг кислорода);

0,5 или 1%-ный раствор крахмала (0,5 или 1 г растворимого крахмала добавляют к 100 мл дистиллированной воды и кипятят 3-5 минут):

3. Определение растворимого в воде кислорода по методу Винклера

Принцип метода. При прибавлении к воде, содержащей растворенный кислород, хлористого марганца или сульфата марганца и едкого калия или натрия образуется осадок закиси марганца, который окисляется кислородом, растворенным в воде, в гидрат окиси марганца. Гидрат окиси марганца окисляется в кислой воде йодид калия, введенный ранее с щелочью, с образованием свободного йода в количестве эквивалентном кислороду. Выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата

натрия.

Порядок анализа и техника работы при определении растворенного в воде кислорода:

В склянку с притертой пробкой емкостью 150-300 мл наливают исследуемую воду до горлышка так, чтобы под пробкой не осталось пузырьков воздуха.

В склянку с исследуемой водой пипеткой с оттянутым кончиком немедленно на дно наливают 3 мл раствора сульфата марганца и 3 мл щелочного раствора йодистого калия.

Склянку закрывают пробкой, под которой не должно быть пузырьков воздуха, хорошо взбалтывают и оставляют до полного осаждения образовавшегося осадка.

После осаждения гидрата окиси марганца в ту же склянку прибавляют 5 мл концентрированной соляной кислоты (или 25%-ной серной кислоты), закрывают пробкой, энергично встряхивают пока не растворится осадок гидрата окиси марганца и жидкость не просветлеет, а от выделившегося йода не окрасится в желтый цвет.

В коническую колбу емкостью 250 мл наливают из склянки 50 или 100 мл исследуемого раствора и выделившийся йод титруют 0,01 и или 0,02 г раствором тиосульфата натрия. Титрование проводят вначале до светло-желтого цвета, а затем прибавляют раствор крахмала и титруют до обесцвечивания.

Можно титровать весь объем склянки.

Расчет количества растворенного кислорода производят по формуле:

$A = 0.16f \times n \times 1000 / (v_1 - v_2)$ мг O_2 на 1 л, где:

0,16 - эквивалентность 1 мл 0,02 н раствора тиосульфата, мг O_2 ;

n- количество 0,02 н раствора тиосульфата, пошедшего на титрование;

f- поправка на титр 0,02 н раствора тиосульфата;

v_1 - объем воды в склянке, мл;

v_2 - объем взятых реактивов.