

REF 985822

de

Test 8-22 04.23

NANOCOLOR® BSB₅**Methode:**

Rundkuvettentest zur Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach 5 Tagen (BSB₅) nach dem sogenannten Verdünnungsprinzip (DIN EN 1899-1-H51). Die Inkubation der Proben erfolgt in Sauerstoff-Flaschen nach Winkler. Die Bestimmung des gelösten Sauerstoffs an Tag 0 und nach 5 Tagen erfolgt in Anlehnung an das Winkler-Verfahren DIN EN 25813-G21 durch photometrische Auswertung der Iod-Farbe.

Messbereich:	2 – 3000 mg/L O ₂	
Faktor:	007.0	007.6
Messwellenlänge (HW = 5 – 12 nm):	436 nm	445 nm
Reaktionszeit:	5 Tage	
Reaktionstemperatur:	20 ± 1 °C	

Inhalt Reagenziensatz:

3 leere Rundkuvetten
15 mL BSB₅ R1
15 mL BSB₅ R2
30 mL BSB₅ R3

Gefahrenhinweise:

Reagenz R1 enthält Mangan(II)-chlorid 25 – 83 %, Reagenz R2 enthält Natriumhydroxid-Lösung 20 – 55 %, Reagenz R3 enthält Schwefelsäure 51 – 80 %.

H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

P260, P280, P301+330+331, P303+361+353, P304+340, P305+351+338 Dampf nicht einatmen. Schutzhandschuhe / Augenschutz tragen. BEI VERSCHLÜCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. BEI EINATMEN: Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Für weitere Informationen können Sie ein Sicherheitsdatenblatt anfordern.

Störungen:

Verschiebungen des pH-Wertes, Anhäufungen besonderer mikrobieller Stoffwechselprodukte sowie für Mikroorganismen toxische Stoffe (z. B. Mykotoxine, freies Chlor, bestimmte Schwermetalle) können zu einer Herabsetzung des Substratumsatzes und somit zu einer Reduzierung des BSB₅ führen. Eisen(II)-salze, Schwefeldioxid und Schwefelwasserstoff verbrauchen Sauerstoff und verfälschen ebenfalls das BSB₅-Messergebnis. Durch die Anwesenheit von Algen oder nitrifizierenden Mikroorganismen können erhöhte Ergebnisse auftreten.

Probenvorbereitung:

Die Probe wird zunächst auf Raumtemperatur gebracht, dann wird der pH-Wert überprüft. Der pH-Wert der Probe sollte zwischen pH 6 und 8 liegen und muss gegebenenfalls nachkorrigiert werden. Falls sich hierbei eine Ausfällung bildet, sollte die Probe gut homogenisiert oder filtriert werden (Membranfiltrationssatz, REF 916511). Bei algalhaltigen Proben ebenfalls eine Filtration in Erwägung ziehen, um Überbefunde zu vermeiden. Bei Anwesenheit von freiem und/oder gebundenem Chlor dieses durch Zugabe einer geeigneten Menge an Natriumsulfid entfernen.

Hinweis: Die Probe unmittelbar nach der Probenahme in einer randvoll gefüllten, dicht verschlossenen Flasche bei einer Temperatur von 0 – 4 °C bis zur Durchführung der Analyse aufbewahren. Die BSB₅-Bestimmung sobald wie möglich und innerhalb von 24 Stunden nach Beendigung der Probenahme beginnen. Für längere Konservierungen können Proben auch eingefroren werden. **Eingefrorene Proben** nach dem Auftauen homogenisieren und in diesen Fällen immer **beimpfte BSB₅-Nährsalzlösung** verwenden (siehe BSB₅-Nährsalzgemisch, REF 918994, bzw. BSB₅-Nährsalzgemisch PLUS, REF 918995).

Verdünnungswasser, BSB₅-Nährsalzlösungen und Impfwasser:

Die Herstellung und Handhabung von Verdünnungswasser ist im BSB₅-Zubehörsatz (REF 916918) ausführlich beschrieben. Einsatz und Anwendung von BSB₅-Nährsalzlösungen und Impfwasser entnehmen Sie bitte den Gebrauchsanweisungen zu den Reagenziensätzen BSB₅-Nährsalzgemisch (REF 918994) bzw. BSB₅-Nährsalzgemisch PLUS (REF 918995). Bitte beachten Sie die dort vorgegebenen Kenndaten.

Durchführung der BSB₅-Bestimmung:

Benötigtes Zubehör: BSB₅-Zubehörsatz (REF 916918), BSB₅-Nährsalzgemisch (REF 918994) oder BSB₅-Nährsalzgemisch PLUS (REF 918995), Messzylinder (Nennvolumen 100 mL und 500 mL), Kolbenhubpipetten mit Spitzen, Inkubationseinrichtung mit Temperaturregelung auf 20 ± 1 °C (z. B. Wasserbad oder Temperierschrank) oder alternativ ein dunkler Raum mit ca. 20 °C Raumtemperatur

Arbeitsschritt 1: Kontrollansatz (Eigenzehrung des Verdünnungswassers)

Man füllt in eine 1-L-Laborflasche (BSB ₅ -Zubehörsatz, REF 916918)
500 mL belüftetes Verdünnungswasser und
2,5 mL Nährsalzlösung (1,25 mL R1 + 1,25 mL R2 aus Reagenziensatz BSB ₅ -Nährsalzgemisch, REF 918994 oder BSB ₅ -Nährsalzgemisch PLUS, REF 918995), verschließt das Gefäß und mischt zur Sauerstoffanreicherung unter kurzem kräftigen Schütteln (Kontrollansatz).
1 Sauerstoff-Flasche nach Winkler und
1 Rundkuvette öffnen, mit einigen Millilitern des Kontrollansatzes vorspülen und luftblasenfrei bis zum Überlaufen auffüllen.
Sauerstoff-Flasche nach Winkler durch langsames Eindrücken des abgeschrägten Glasstopfens luftblasenfrei verschließen und im Wasserbad oder Temperierschrank 5 Tage im Dunkeln bei 20 ± 1 °C inkubieren.
Rundkuvette luftblasenfrei verschließen und sofort eine Sauerstoffmessung gemäß Arbeitsschritt 3 durchführen.

Arbeitsschritt 2: Probenansatz

Je nach dem zu erwartenden BSB₅ einer Probe wird in einer 1-L-Laborflasche (BSB₅-Zubehörsatz, REF 916918) die dünnste Verdünnung gemäß nachfolgender Tabelle hergestellt. Liegen hinsichtlich des zu erwartenden BSB₅ keine Erfahrungen vor, sollten zur sicheren Bestimmung mindestens zwei, besser sogar drei verschiedene Verdünnungen einer Probe angesetzt werden. Zur Erhöhung der Ergebnissicherheit empfehlen wir generell den Ansatz von **Doppelbestimmungen**.

Erwarteter BSB ₅ [mg/L O ₂]	Verdünnung	Beispiel für typische Wässer	Probe [mL]	Belüftetes Verdünnungswasser [mL]	Nährsalzlösung* [mL] R1 R2
< 5	–	R	500	0	1,25 1,25
4 – 12	1 + 1	R, E	250	250	1,25 1,25
10 – 30	1 + 4	R, E	100	400	1,25 1,25
20 – 60	1 + 9	E	50	450	1,25 1,25
40 – 120	1 + 19	S	25	475	1,25 1,25
100 – 300	1 + 49	S, C	10	490	1,25 1,25
200 – 600	1 + 99	S, C	5	495	1,25 1,25
400 – 1200	1 + 199	I, C	2	398	1,0 1,0
800 – 2400	1 + 399	I	1	399	1,0 1,0
1000 – 3000	1 + 499	I	1	499	1,25 1,25

* BSB₅-Nährsalzgemisch (REF 918994) oder BSB₅-Nährsalzgemisch PLUS (REF 918995)

R: Flusswasser

E: Biologisch gereinigtes kommunales Abwasser

S: Geklärttes kommunales Abwasser oder leicht verschmutztes Industrieabwasser

C: Kommunales Rohabwasser

I: Stark verschmutztes Industrieabwasser

Verschließen der Laborflasche nach Herstellung des Probenansatzes anhand obiger Tabelle und zur Sauerstoffanreicherung mischen unter kurzem kräftigen Schütteln.

1 Sauerstoff-Flasche nach Winkler und
1 Rundkuvette öffnen, mit einigen Millilitern des Probenansatzes vorspülen und luftblasenfrei bis zum Überlaufen auffüllen.

Sauerstoff-Flasche nach Winkler durch langsames Eindrücken des abgeschrägten Glasstopfens **luftblasenfrei** verschließen und im Wasserbad oder Temperierschrank **5 Tage** im Dunkeln bei **20 ± 1 °C** inkubieren.

Rundkuvette **luftblasenfrei** verschließen und sofort eine Sauerstoffmessung gemäß **Arbeitsschritt 3** durchführen.

Bei allen weiteren Proben bzw. Probenverdünnungen auf die gleiche Weise verfahren.

Hinweis: Die im Rahmen des BSB₅-Zubehörsatzes mitgelieferte 1-L-Laborflasche kann zum Ansetzen sämtlicher zu prüfender Proben (Kontrollansatz, Probenansätze) eingesetzt werden. Sie muss jedoch nach jedem Ansatz bzw. vor jedem neuen Ansatz gründlich mit Leitungswasser gespült werden.

Arbeitsschritt 3: Sauerstoffmessung**Vorbemerkungen:**

Die in der BSB₅-Packung enthaltenen Rundkuvetten können nach Gebrauch in den Ausguss entleert werden und nach gründlicher Reinigung mit Leitungswasser zur erneuten Sauerstoffmessung im Rahmen der BSB₅-Bestimmung eingesetzt werden. Zusätzliche leere Rundkuvetten können bei Bedarf unter der REF 91680 bei MACHEREY-NAGEL angefordert werden.

Sauerstoffmessung an Tag 0: Bei den zu Versuchsbeginn an **Tag 0** bereits abgefüllten Rundkuvetten wird sofort mit der Durchführung der Sauerstoffbestimmung begonnen.

Sauerstoffmessung an Tag 5: Bei der Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in den angesetzten Winkler-Flaschen nach **5 Tagen** wird zunächst pro Winkler-Flasche eine leere Rundkuvette (bei Doppelbestimmungen zwei leere Rundkuvetten) bis zum Überlaufen mit dem zu prüfenden Wasser (Kontroll- und Probenansätze) gefüllt und luftblasenfrei verschlossen. Anschließend wird verfahren wie unter „Durchführung“ beschrieben.

Durchführung:

Mit dem Kontrollansatz bzw. dem Probenansatz gefüllte Rundkuvette öffnen,
2 Tropfen BSB₅ R1 zugeben,
2 Tropfen BSB₅ R2 zugeben, **luftblasenfrei** verschließen und zum Verteilen schütteln.
2 min warten.

Rundkuvette öffnen,
5 Tropfen BSB₅ R3 zugeben, **luftblasenfrei** verschließen und schwenken, bis der Niederschlag aufgelöst ist.
Rundkuvette außen säubern und messen.

Messung:

Bei NANOCOLOR® Photometern und PF-11 / PF-12 siehe Handbuch, Test 8-22.

Fremdphotometer:

Bei anderen Photometern prüfen, ob die Messung von Rundkuvetten möglich ist. Den Faktor für jeden Gerätetyp durch Messung von Standardlösungen überprüfen.

Arbeitsschritt 4: Auswertung**Wichtige Hinweise:**

Es wird nur von solchen Probenansätzen der BSB₅-Wert berechnet, bei denen der Restsauerstoffgehalt nach 5-tägiger Inkubation noch mindestens 2 mg/L O₂ beträgt und andererseits die Zehrung selbst zwischen 2 und 6 mg/L O₂ liegt.

Sauerstoffverbrauch des Verdünnungswassers O_V (Kontrollansatz):

$O_V = O_{V0} - O_{V5}$ O_{V0} = Sauerstoffgehalt des Kontrollansatzes zu Versuchsbeginn (Tag 0)
 O_{V5} = Sauerstoffgehalt des Kontrollansatzes am Versuchsende (Tag 5)

Sauerstoffverbrauch der Probe O_P (Probenansatz):

$O_P = O_{P0} - O_{P5}$ O_{P0} = Sauerstoffgehalt des Probenansatzes zu Versuchsbeginn (Tag 0)
 O_{P5} = Sauerstoffgehalt des Probenansatzes am Versuchsende (Tag 5)

Berechnung des BSB₅:

$BSB_5 = V \times (O_P - O_V) + O_V$ V = Reziprokwert der Probenverdünnung (z. B. Probenverdünnung 1 + 199 → V = 200)

Angabe der Ergebnisse:

Der BSB₅ wird in mg/L O₂ ausgedrückt und folgendermaßen angegeben:
< 10 mg/L O₂ gerundet auf mg/L (z. B. 6,7 mg/L O₂ runden auf 7 mg/L O₂)
10 – 1000 mg/L O₂ Angabe mit zwei signifikanten Stellen (z. B. 314 mg/L O₂ angeben als 310 mg/L O₂)
> 1000 mg/L O₂ Angabe mit drei signifikanten Stellen (z. B. 1578 mg/L O₂ angeben als 1580 mg/L O₂)

Analytische Qualitätssicherung:

NANOCOLOR BSB₅ (REF 92582)

Entsorgung:

Rundkuvetten nach dem Gebrauch in die Originalverpackung zurücksetzen. Alle NANOCOLOR® Reagenziensätze werden von MACHEREY-NAGEL kostenlos zurückgenommen und in unserem Entsorgungszentrum fachgerecht entsorgt.

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Deutschland

Tel.: +49 24 24 21 969-0 · info@mn-net.com · www.mn-net.com

Schweiz: MACHEREY-NAGEL AG · Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Schweiz

Tel.: 062 388 55 00 · sales-ch@mn-net.com

Probenbezeichnung: _____ Datum der Analyse: _____

CSB [mg/L O₂]: _____ pH-Wert: _____

gesamt-Phosphat [mg/L P]: _____ Ammonium-N [mg/L NH₄-N]: _____

Nitrit-N [mg/L NO₂-N]: _____ Nitrat-N [mg/L NO₃-N]: _____

Ergebnisse BSB₅-Bestimmung:

Ansatzdatum BSB₅ (Tag 0): _____ Auswertedatum BSB₅ (Tag 5): _____

Kontrollansatz:		O _{V0} [mg/L O ₂]	O _{V5} [mg/L O ₂]	O _V [mg/L O ₂] = (O _{V0} - O _{V5})	
Probenansatz:	Probenverdünnung V	O _{P0} [mg/L O ₂]	O _{P5} [mg/L O ₂]	O _P [mg/L O ₂] = (O _{P0} - O _{P5})	BSB ₅ [mg/L O ₂] = [V x (O _P - O _V) + O _V]

Ø BSB₅ [mg/L O₂]: _____

O_V = Sauerstoffverbrauch des Kontrollansatzes nach 5 Tagen
 O_{V0} = Sauerstoffgehalt des Kontrollansatzes zu Versuchsbeginn (Tag 0)
 O_{V5} = Sauerstoffgehalt des Kontrollansatzes am Versuchsende (Tag 5)

O_P = Sauerstoffverbrauch des Probenansatzes nach 5 Tagen
 O_{P0} = Sauerstoffgehalt des Probenansatzes zu Versuchsbeginn (Tag 0)
 O_{P5} = Sauerstoffgehalt des Probenansatzes am Versuchsende (Tag 5)

V = Reziprokwert der Probenverdünnung (z. B. Probenverdünnung 1 + 199 → V = 200)

REF 985822

en

Test 8-22 04.23

NANOCOLOR® BOD₅**Method:**

Tube test for the determination of the biochemical oxygen demand in 5 days (BOD₅) by using the diluting principle according to the German Standard Method DIN 38409-H51. The incubation of the samples is carried out in Winkler oxygen flasks. The determination of oxygen dissolved in water at day 0 and after 5 days is carried out similarly to the Winkler Method DIN EN 25813-G21 by photometric evaluation of iodine-color.

Range:	2 – 3000 mg/L O ₂	
Factor:	007.0	007.6
Wavelength (HW = 5 – 12 nm):	436 nm	445 nm
Reaction time:	5 days	
Reaction temperature:	20 ± 1 °C	

Contents of reagent set:

3 empty test tubes
15 mL BOD₅ R1
15 mL BOD₅ R2
30 mL BOD₅ R3

Hazard warning:

Reagent R1 contains manganese(II) chloride 25 – 83 %, reagent R2 contains sodium hydroxide solution 20 – 55 %, reagent R3 contains sulfuric acid 51 – 80 %.
H314 Causes severe skin burns and eye damage.
P260, P280, P301+330+331, P303+361+353, P304+340, P305+351+338 Do not breathe vapors. Wear protective gloves/eye protection. IF SWALLOWED: rinse mouth. Do NOT induce vomiting. IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. IF INHALED: Remove to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. For further information ask for a safety data sheet.

Interferences:

Changes in pH-value, accumulation of special microbial metabolites and compounds, which are toxic to microorganisms (e. g. mycotoxins, free chlorine, heavy metals) can cause a decrease of substrate metabolism and a reduction of the oxygen consumption. Iron(II) salts, sulfur dioxide and sulfur hydrogen consume oxygen and falsify the BOD₅-results, meaning they cause false negative results, also. If algae or nitrified microorganisms are present, increased results could occur.

Sample preparation:

At the beginning, the sample is adjusted to room temperature. Then the pH-value is checked. The pH-value of the sample should be between pH 6 and 8, and has to be adjusted, if necessary. If, in this case, a precipitate has been developed, the sample should be homogenized very well or filtrated (membrane filtration kit, REF 916511). In case of samples containing algae, filtration may also be necessary in order to avoid exaggerated results. Remove free and/or bounded chlorine by addition of sodium sulfite.

Remark: Store the sample in a tightly closed bottle full to the brim at a temperature of 0–4 °C immediately after taking the sample until carrying out the analysis. Start the BOD₅ determination as soon as possible or within 24 hours of taking the sample. Samples may also be frozen to keep longer. Homogenise **frozen samples** after thawing and always use **inoculated BOD₅-Nutrient Solution** (see BOD₅ Nutrient Mixture, REF 918994, or BOD₅-Nutrient Mixture PLUS, REF 918995).

Diluting water, BOD₅-Nutrient Solutions and inoculating water:

Details on the preparation and handling of diluting water are given in the BOD₅-Accessories Set (REF 916918). For the use and application of BOD₅-Nutrient Solutions and inoculating water, refer to the instructions for reagent sets BOD₅-Nutrient Mixture (REF 918994) or BOD₅-Nutrient Mixture PLUS (REF 918995). Make sure to observe the data specified there.

Determination of BOD₅:

Requisite accessories: BOD₅-Accessories Set (REF 916918), BOD₅-Nutrient Mixture (REF 918992) or BOD₅-Nutrient Mixture PLUS (REF 918995), graduated cylinders (volume 100 mL and 500 mL), piston pipettes with tips, equipment for incubation with thermostat for 20 ± 1 °C (e. g. water bath or incubator) or as an alternative a dark room with a room temperature of about 20 °C

Step 1: Control (oxygen consumption of the diluting water)

Fill in a 1 L laboratory flask (BOD₅-Accessories Set, REF 916918)

500 mL aerated diluting water and

2.5 mL nutrient solution (1.25 mL R1 + 1.25 mL R2 from reagent set BOD₅-Nutrient Mixture, REF 918994, or BOD₅-Nutrient Mixture PLUS, REF 918995), close the vessel and mix to enrich the oxygen content by shaking vigorously for a few seconds (**control**).

Open

1 Winkler oxygen flask and
1 test tube, wash both with several milliliters of the control and fill to the brim without letting air bubbles in.

Close the Winkler oxygen flask, **without letting air bubbles** in, by slowly pressing in the obliquely cut glass stopper and incubate in a water bath or an incubator for **5 days at 20 ± 1 °C** in the dark.

Close the test tube **without letting air bubbles** in and immediately start the measurement of dissolved oxygen according to **step 3**.

Step 2: Sample dilutions

Depending on the expected BOD₅ of a sample, the most suitable dilution in accordance to the following table must be prepared in a 1 L-laboratory flask (BOD₅-Accessories Set, REF 916918). If there is no experience regarding the expected BOD₅ of a sample, at least two, preferably three, different dilutions of this sample should be prepared to assure accuracy of the determination. For more reliable results, we recommend **duplicate determinations**.

Expected BOD ₅ [mg/L O ₂]	Dilution	Examples for typical waters	Sample [mL]	Aerated diluting water [mL]	Nutrient Solution* [mL] R1 R2
< 5	–	R	500	0	1.25 1.25
4 – 12	1 + 1	R, B	250	250	1.25 1.25
10 – 30	1 + 4	R, B	100	400	1.25 1.25
20 – 60	1 + 9	B	50	450	1.25 1.25
40 – 120	1 + 19	C	25	475	1.25 1.25
100 – 300	1 + 49	C, M	10	490	1.25 1.25
200 – 600	1 + 99	C, M	5	495	1.25 1.25
400 – 1200	1 + 199	M, I	2	398	1.0 1.0
800 – 2400	1 + 399	I	1	399	1.0 1.0
1000 – 3000	1 + 499	I	1	499	1.25 1.25

* BSB₅-Nutrient Mixture (REF 918994) or BOD₅-Nutrient Mixture PLUS (REF 918995)

R: River water

B: Biologically suitable biomass from a sewage plant

C: Clarified biomass from a sewage plant or mildly polluted industrial waste water

M: Raw municipal sewage

I: Heavily polluted industrial waste water

After preparation of the sample dilution based on the above table, close the laboratory flask and mix to enrich the oxygen content by shaking vigorously for a few seconds.

Open

1 Winkler oxygen flask and

1 test tube, wash both with some milliliters of the sample dilution and fill to the brim without letting air bubbles in.

Close the Winkler oxygen flask, **without letting air bubbles** in, by slowly pressing in the obliquely cut glass stopper and incubate in a water bath or in an incubator for **5 days at 20 ± 1 °C** in the dark.

Close the test tube **without letting air bubbles** in and immediately start the measurement of dissolved oxygen according to **step 3**.

Proceed in the same way for all other samples or sample dilutions.

Remark: The added laboratory flask in the BOD₅-Accessories Set can be used for all preparations of any water samples to be tested (control, sample dilutions). Before using, the flask must be washed thoroughly by using tap water, after every preparation and before every new preparation, respectively.

Step 3: Measurement of dissolved oxygen**Preliminary remarks:**

The added test tubes in the reagent set NANOCOLOR® BOD₅ can be used for all measurements of dissolved oxygen. Before using for a new determination of dissolved oxygen the test tube is directly be emptied down the drain and thoroughly washed with tap water. Additional empty test tubes (REF 91680) can be ordered at MACHEREY-NAGEL.

Measurement of dissolved oxygen on day 0: The measurement of dissolved oxygen in test tubes filled at the beginning of the test (day 0) has to be started immediately.

Measurement of dissolved oxygen on day 5: The measurement of the concentration of dissolved oxygen in the incubated Winkler flasks after 5 days of incubation starts with the filling of one empty test tube (for double determinations two empty test tubes) to the brim, with the water sample to be tested (control and sample dilutions). After the filling, the test tubes are carefully closed without letting air bubbles in, and the determination of dissolved oxygen is carried out as in the following chapter "Procedure" described.

Procedure:

Open test tube, filled with control or sample dilution, add

2 drops BOD₅ R1,

2 drops BOD₅ R2, close **without letting air bubbles** in and shake.

Wait **2 min.**

Open test tube, add

5 drops BOD₅ R3, close **without letting air bubbles** in and shake to dissolve the flakes.

Clean outside of test tube and perform measurement.

Measurement:

For NANOCOLOR® photometers and PF-11 / PF-12 see manual, test 8-22.

Photometers of other manufacturers:

For other photometers check whether measurement of round glass tubes is possible. Verify factor for each type of instrument by measuring standard solutions.

Step 4: Evaluation**Important:**

The BOD₅ value is only calculated for samples in which the residual oxygen concentration after 5 days incubation still amounts to at least 2 mg/L O₂ and where the oxygen consumption lies between 2 and 6 mg/L O₂.

Oxygen consumption of the diluting water O_c (control):

$O_c = O_{c0} - O_{c5}$ O_{c0} = oxygen concentration in the control at the beginning of the test (day 0)
 O_{c5} = oxygen concentration in the control at the end of the test (day 5)

Oxygen consumption of the sample O_s (sample dilution):

$O_s = O_{s0} - O_{s5}$ O_{s0} = oxygen concentration in the sample dilution at the beginning of the test (day 0)
 O_{s5} = oxygen concentration in the sample dilution at the end of the test (day 5)

Calculation of BOD₅:

$$BOD_5 = D \times (O_s - O_c) + O_c$$

D = reciprocal value of the sample dilution
(e. g. sample dilution 1 + 199 → V = 200)

Presentation of the results:

The BOD₅ is given in mg/L O₂ and noted as follows:

< 10 mg/L O ₂	rounded up to mg/L (e. g. 6.7 mg/L O ₂ is rounded up to 7 mg/L O ₂)
10 – 1000 mg/L O ₂	reported with two significant digits (e. g. 314 mg/L O ₂ is reported as 310 mg/L O ₂)
> 1000 mg/L O ₂	reported with three significant digits (e. g. 1578 mg/L O ₂ is reported as 1580 mg/L O ₂)

Analytical Quality Control:

NANOCOLOR BOD₅ (REF 92582)

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienn Str. 11 · 52355 Düren · Germany

Tel.: +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · www.mn-net.com

PD 14123 / A011671 / 985822 / 043xx

Table for evaluation for NANOCOLOR® BOD₅ - Test 8-22

en

Sample: _____ Date: _____

COD [mg/L O₂]: _____ pH-value: _____

total Phosphate [mg/L P]: _____ Ammonia-N [mg/L NH₄-N]: _____

Nitrite-N [mg/L NO₂-N]: _____ Nitrate-N [mg/L NO₃-N]: _____

Results of the determination of BOD₅:

Date of test beginning (day 0): _____ Date of test end (day 5): _____

Control:	O _{C0} [mg/L O ₂]	O _{C5} [mg/L O ₂]	O _C [mg/L O ₂] = (O _{C0} - O _{C5})

Sample dilutions:	Dilution D	O _{S0} [mg/L O ₂]	O _{S5} [mg/L O ₂]	O _S [mg/L O ₂] = (O _{S0} - O _{S5})	BOD ₅ [mg/L O ₂] = [D x (O _S - O _C) + O _C]

Ø BOD₅ [mg/L O₂]: _____

O_C = Oxygen consumption of the control after an incubation period of 5 days

O_{C0} = Oxygen concentration in the control at the beginning of the test (day 0)

O_{C5} = Oxygen concentration in the control at the end of the test (day 5)

D = Reciprocal value of the sample dilution (e. g. sample dilution 1 + 199 → V = 200)

O_S = Oxygen consumption of the sample dilution after an incubation period of 5 days

O_{S0} = Oxygen concentration in the sample dilution at the beginning of the test (day 0)

O_{S5} = Oxygen concentration in the sample dilution at the end of the test (day 5)

REF 985822

Test 8-22 04.23

NANOCOLOR® DBO₅

fr

Méthode :

Test en cuvette ronde pour la détermination biochimique d'oxygène après 5 jours (DBO₅) selon le principe de dilution (DIN 38409-H51). L'incubation des échantillons a lieu dans des bouteilles d'oxygène d'après Winkler. La détermination de l'oxygène dissous au jour 0 et après 5 jours a lieu d'après le procédé Winkler DIN EN 25813-G21 par évaluation photométrique de la couleur de l'iode.

Domaine de mesure :	2 – 3000 mg/L O ₂	
Facteur :	007.0	007.6
Longueur d'onde de mesure (LMH = 5 – 12 nm) :	436 nm	445 nm
Temps de réaction :	5 jours	
Température de réaction :	20 ± 1 °C	

Contenu du jeu de réactifs :

3 cuves rondes vides
15 mL DBO₅ R1
15 mL DBO₅ R2
30 mL DBO₅ R3

Indications de danger :

Le réactif R1 contient de manganèse(II) chlorure 25 – 83 %, le réactif R2 contient de solution de sodium hydroxyde 20 – 55 %, le réactif R3 contient d'acide sulfurique 51 – 80 %.
H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
P260, P280, P301+330+331, P303+361+353, P304+340, P305+351+338 Éviter de respirer les vapeurs. Porter des gants de protection / un équipement de protection des yeux. EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche. NE PAS faire vomir. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau / se rincer. EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut respirer confortablement. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Pour avoir des informations supplémentaires, commandez s.v.p. une fiche de données de sécurité.

Interférences :

Les décalages de la valeur pH, les accumulations de produits du métabolisme microbien particulier ainsi que, pour les microorganismes, les substances toxiques (par ex. mycotoxine, chlore libre, certains métaux lourds) peuvent entraîner une diminution du taux de substrat et par conséquent une réduction de la DBO₅. Les sels ferreux(II), le dioxyde de soufre et l'acide sulfhydrique consomment de l'oxygène et altèrent également le résultat de la DBO₅. La présence d'algues ou de micro-organismes nitrifiants peut entraîner des résultats plus élevés.

Préparation des échantillons :

L'échantillon est mis dans un premier temps à température ambiante ; ensuite, la valeur pH est vérifiée. La valeur pH de l'échantillon doit se situer entre pH 6 et 8 et doit être le cas échéant corrigée ultérieurement. Si une précipitation se forme alors, l'échantillon doit être bien homogénéisé ou filtré (set de filtration, REF 916511). En présence d'algues dans les échantillons, considérer un filtrage afin d'éviter des résultats trop élevés. En présence de chlore libre et/ou lié, l'enlever par addition d'une quantité appropriée de sulfite de sodium.

Indication : Conserver l'échantillon immédiatement après le prélèvement dans un flacon rempli jusqu'au bord, fermé hermétiquement à une température comprise entre 0 – 4 °C jusqu'à la fin de l'analyse. Commencer la détermination de la valeur DBO₅ le plus tôt possible ou dans les 24 heures qui suivent le prélèvement. Pour des conservations plus longues, les échantillons peuvent également être congelés. Homogénéiser les échantillons congelés une fois décongelés et dans ce cas toujours utiliser une DBO₅ Solution de Sels Nutritifs inoculée (voir DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs, REF 918994, ou DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs PLUS, REF 918995).

Eau de dilution, DBO₅ Solutions de Sels Nutritifs et eau d'inoculation :

La préparation et la manipulation de l'eau de dilution est décrite en détail sur le Set d'accessoires DBO₅ (REF 916918). Pour l'utilisation et l'application de DBO₅ Solutions de Sels Nutritifs et de l'eau d'inoculation, veuillez consulter les modes d'emploi des préparations du jeu de réactifs DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs (REF 918994) et DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs PLUS (REF 918995). Veuillez observer les données caractéristiques qui y sont assignées.

Exécution de la détermination de la DBO₅ :

Accessoires nécessaires : Set d'accessoires DBO₅ (REF 916918), DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs (REF 918994) ou DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs PLUS (REF 918995), cylindres gradués (vol. 100 mL et 500 mL), pipettes à piston avec embouts, appareil de l'incubation avec réglage de température sur 20 ± 1 °C (par exemple : bain-marie ou incubateur) ou alternativement une pièce sombre avec environ 20 °C

Etape de travail 1 : Contrôle (demande en oxygène de l'eau de dilution)

Verser dans une bouteille de laboratoire de 1 litre (Set d'accessoires DBO₅, REF 916918)

500 mL d'eau de dilution aérée et

2,5 mL de solution de sels nutritifs (1,25 mL R1 + 1,25 mL R2 de la préparation de réactifs DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs, REF 918994, ou DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs PLUS, REF 918995), fermer le récipient et mélanger en agitant vigoureusement pour l'enrichir en oxygène (contrôle).

Ouvrir

1 bouteille d'oxygène selon Winkler et
1 cuve ronde, pré-rincer après quelques millilitres de préparation de contrôle et remplir sans formation de bulles d'air jusqu'à débordement.

Fermer la bouteille d'oxygène selon Winkler en enfonçant lentement le bouchon oblique en verre en évitant la formation de bulles d'air et faire incubé dans un bainmarie ou dans un incubateur durant 5 jours dans le noir à 20 ± 1 °C.

Fermer la cuve ronde en évitant la formation des bulles d'air et réaliser immédiatement une mesure de l'oxygène conformément à l'étape de travail 3.

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienn Str. 11 · 52355 Düren · Allemagne
Tél. : +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · www.mn-net.com

France : MACHEREY-NAGEL SAS · 1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt · France
Tél. : 03 88 68 22 68 · sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simiplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Etape de travail 2 : Dilution de l'échantillon

Selon la DBO₅ attendue d'un échantillon, la dilution la plus favorable est réalisée dans une bouteille de laboratoire de 1 litre (Set d'accessoires DBO₅, REF 916918) conformément au tableau suivant. S'il n'existe aucune expérience en ce qui concerne la DBO₅ attendue, il convient de préparer au minimum deux, au mieux trois dilutions différentes d'un échantillon en vue d'une détermination plus sûre.

DBO ₅ attendu [mg/L O ₂]	Dilution	Exemples d'eau typiques	Echantillon [mL]	Eau de dilution aérée [mL]	Solution de Sels Nutritifs* [mL] R1 R2
< 5	–	F	500	0	1,25 1,25
4 – 12	1 + 1	F, B	250	250	1,25 1,25
10 – 30	1 + 4	F, B	100	400	1,25 1,25
20 – 60	1 + 9	B	50	450	1,25 1,25
40 – 120	1 + 19	E	25	475	1,25 1,25
100 – 300	1 + 49	E, C	10	490	1,25 1,25
200 – 600	1 + 99	E, C	5	495	1,25 1,25
400 – 1200	1 + 199	C, I	2	398	1,0 1,0
800 – 2400	1 + 399	I	1	399	1,0 1,0
1000 – 3000	1 + 499	I	1	499	1,25 1,25

* DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs (REF 918994) ou DBO₅ Mélange de Sels Nutritifs PLUS (REF 918995)

F : Eaux fluviales

B : Eaux communales usées nettoyées biologiquement

E : Eaux communales usées épurées ou eaux industrielles légèrement souillées

C : Eaux communales usées brutes

I : Eaux industrielles fortement souillées

Fermer la bouteille de laboratoire après réalisation de la préparation de dilution de l'échantillon selon le tableau ci-dessus et mélanger en agitant vigoureusement pour l'enrichir en oxygène.

Ouvrir

1 bouteille d'oxygène selon Winkler et

1 cuve ronde, pré-rincer après quelques millilitres de préparation de contrôle et remplir sans formation de bulles d'air jusqu'à débordement.

Fermer la bouteille d'oxygène selon Winkler en enfonçant lentement le bouchon oblique en verre en évitant la formation de bulles d'air et faire incubé dans un bainmarie ou dans un incubateur durant 5 jours dans le noir à 20 ± 1 °C.

Fermer la cuve ronde en évitant la formation des bulles d'air et réaliser immédiatement une mesure de l'oxygène conformément à l'étape de travail 3.

Pour toutes les autres dilutions d'un échantillon ou pour tous les autres échantillons, procéder de la même manière.

Remarque : La bouteille de laboratoire d'un litre fournie avec Set d'accessoires DBO₅ peut être utilisée pour la préparation de tous les échantillons devant être vérifiés (préparation de contrôle, préparations de dilution des échantillons). Elle doit être cependant rincée à fond avec de l'eau de conduite avant chaque préparation ou nouvelle préparation.

Etape de travail 3 : Mesure de l'oxygène**Remarques préliminaires :**

Les cuves rondes comprises dans le jeu de réactif NANOCOLOR® DBO₅ peuvent être vidées après usage dans l'évier et de nouveau utilisées après avoir été nettoyées à fond avec de l'eau de conduite en vue d'une nouvelle mesure de l'oxygène dans le cadre de la détermination de la DBO₅. Les cuves vides supplémentaires peuvent être si nécessaire achetées chez MACHEREY-NAGEL sous le REF 91680.

Mesure de l'oxygène au jour 0 : Pour les cuves rondes déjà remplies au commencement du test, jour 0, il est possible de commencer immédiatement la réalisation de la détermination de l'oxygène.

Mesure de l'oxygène au jour 5 : Lors de la détermination de la teneur en oxygène dans les bouteilles Winkler préparées après 5 jours, une cuve ronde par bouteille Winkler et deux pour les doubles déterminations sont remplies dans un premier temps d'eau de test (préparations de contrôle et d'échantillon) jusqu'à débordement et fermées en évitant la formation des bulles d'air. Ensuite, procéder comme décrit au point « Exécution ».

Exécution :

Ouvrir la cuve ronde remplie de préparation de contrôle ou de préparation de l'échantillon, ajouter

2 gouttes DBO₅ R1 et

2 gouttes DBO₅ R2, fermer la cuve en évitant la formation des bulles d'air et homogénéiser.

Attendre 2 min.

Ouvrir la cuve ronde, ajouter

5 gouttes DBO₅ R3, fermer la cuve en évitant la formation des bulles d'air et secouer jusqu'à dissolution du précipité.

Nettoyer la cuve à l'extérieur et mesurer.

Mesure :

Pour les photomètres NANOCOLOR® et PF-11 / PF-12, voir manuel, test 8-22.

Photomètres étrangers :

Pour d'autres photomètres, vérifier si l'utilisation de cuves rondes soit possible. Contrôler le facteur pour chaque type d'appareil au moyen de la mesure des standards.

Etape de travail 4 : Evaluation**Remarques importantes :**

Seuls les échantillons dont la teneur restante en oxygène s'élève encore au minimum à 2 mg/L O₂ après 5 jours d'incubation et, d'autre part, pour lesquels la réduction se situe entre 2 et 6 mg/L O₂ font l'objet d'une évaluation.

Consommation de l'oxygène de l'eau de dilution OC (contrôle) :

O_C = O_{C0} - O_{C5}

O_{C0} = Teneur en oxygène de l'eau de dilution au début de l'essai (jour 0)

O_{C5} = Teneur en oxygène de l'eau de dilution au bout de cinq jours d'incubation (jour 5)

Consommation de l'oxygène de l'échantillon O_E (dilution de l'échantillon) :

O_E = O_{E0} - O_{E5}

O_{E0} = Teneur en oxygène de la préparation de l'échantillon au début de l'essai (jour 0)

O_{E5} = Teneur en oxygène de la préparation de l'échantillon au bout de cinq jours d'incubation (jour 5)

Le calcul de la DBO₅ :

DBO₅ = D x (O_E - O_C) + O_C

D = Valeur réciproque de la dilution de l'échantillon
(par exemple : dilution de l'échantillon 1 + 199 → D = 200)

Indication des résultats :

La DBO₅ est exprimée en mg/L O₂ et indiquée de la manière suivante :

< 10 mg/L O₂ arrondi au mg/L (par ex. 6,7 mg/L O₂ : arrondir à 7 mg/L O₂)

10 – 1000 mg/L O₂ donnée avec un nombre à deux chiffres importants (par ex. 314 mg/L O₂ : exprimer 310 mg/L O₂)

> 1000 mg/L O₂ donnée avec un nombre à trois chiffres importants (par ex. 1578 mg/L O₂ : exprimer 1580 mg/L O₂)

Assurance qualité analytique :

NANOCONTROL DBO₅ (REF 925822)

Dénomination de l'échantillon : _____ Date de l'analyse : _____

DCO [mg/L O₂] : _____ pH : _____

Phosphate total [mg/L P] : _____ Ammonium-N [mg/L NH₄-N] : _____

Nitrite-N [mg/L NO₂-N] : _____ Nitrate-N [mg/L NO₃-N] : _____

Les résultats de la détermination de la BOD₅ :

Date du début de l'essai (jour 0) : _____ Date de l'évaluation (jour 5) : _____

Contrôle :	O _{C0} [mg/L O ₂]	O _{C5} [mg/L O ₂]	O _C [mg/L O ₂] = (O _{C0} - O _{C5})

Dilution de l'échantillon :	Dilution D	O _{E0} [mg/L O ₂]	O _{E5} [mg/L O ₂]	O _E [mg/L O ₂] = (O _{E0} - O _{E5})	BOD ₅ [mg/L O ₂] = [D x (O _E - O _C) + O _C]

Ø DBO₅ [mg/L O₂] : _____

O_C = Consommation de l'oxygène de l'eau de dilution au bout de 5 jours d'incubation

O_{C0} = Teneur en oxygène de l'eau de dilution au début de l'essai (jour 0)

O_{C5} = Teneur en oxygène de l'eau de dilution au bout de cinq jours d'incubation (jour 5)

D = Valeur réciproque de la dilution de l'échantillon (par ex. : dilution de l'échantillon 1 + 199 → V = 200)

O_E = Consommation de l'oxygène de l'une des dilutions de l'échantillon au bout de 5 jours d'incubation

O_{E0} = Teneur en oxygène de l'une des dilutions de l'échantillon au début de l'essai (jour 0)

O_{E5} = Teneur en oxygène de l'une des dilutions de l'échantillon au bout de cinq jours d'incubation (jour 5)