

1.00687.0001

## Spectroquant® BOD Cell Test

# BOD

### 1. Definition

The BOD (biochemical oxygen demand) is defined as that mass of oxygen that is consumed by microorganisms in the course of n days to oxidatively degrade the organic substances present in 1 l of water at 20 °C.

**BOD<sub>n</sub> (usually BOD<sub>5</sub>) = BOD during n (5) days**

Under aerobic conditions, the BOD in the outflow of communal wastewater is approximately 2 - 50 mg/l. The approximate BOD value can be estimated using the COD value. In the case of untreated communal and industrial wastewater, the BOD value is roughly 35 - 65% of the COD value, for mechanically/biologically treated wastewater roughly 25%.

### 2. Method

The dissolved oxygen oxidizes manganese(II) to manganese(III). In acidic solution, this reacts with Titriplex® II to form a red complex that is determined photometrically (modified Winkler method). The BOD<sub>n</sub> is calculated as the difference between the oxygen concentration determined immediately after sampling and that after n days of incubation of a water sample to which allyl thiourea has been added to inhibit nitrification.

**The method is analogous to EPA 405.1 (modified Winkler method).**

### 3. Measuring range and number of determinations

Measuring range mg/l BOD	Number of determinations
0.5 - 8.0 <sup>1)</sup> 8.0 - 3000 <sup>2)</sup>	50

<sup>1)</sup> The oxygen saturation of water at 20 °C and normal pressure is 8.8 mg/l oxygen

<sup>2)</sup> after corresponding dilution; details see section 7

For programming data for selected photometers / spectrophotometers see [www.sigmaaldrich.com/photometry](http://www.sigmaaldrich.com/photometry).

### 4. Applications

#### Sample material:

Communal and industrial wastewater

### 5. Influence of foreign substances

The determination may be interfered with by substances that are toxic for microorganisms. Among these are certain metals such as e.g. chromium and copper and also free halogens and bactericides. Peroxides and reducing agents such as sulfite or Fe<sup>2+</sup> also yield false-low results.

### 6. Reagents and auxiliaries

#### Please note the warnings on the packaging materials!

The test reagents are stable up to the date stated on the pack when stored closed at +15 to +25 °C.

#### Package contents:

1 bottle of reagent BOD-1K  
1 bottle of reagent BOD-2K  
1 bottle of reagent BOD-3K  
1 bottle containing glass beads  
3 empty round cells with bar code

#### Also required:

MQuant® Oxygen Reaction Bottle (1 pc), Cat. No. 1.14663  
Spectroquant® BOD Nutrient Salt Mixture (with allyl thiourea), Cat. No. 1.00688, for 12 x 1 l nutrient salt solution

#### Other reagents:

MQuant® pH-indicator strips pH 5.0 - 10.0, Cat. No. 1.09533  
Sodium hydroxide solution 1 mol/l Titripur®, Cat. No. 1.09137  
Sulfuric acid 0.5 mol/l Titripur®, Cat. No. 1.09072  
MQuant® Total Hardness Test, Cat. No. 1.10025, measuring range <4 - >26 °e  
MQuant® pH-indicator strips pH 0 - 6.0, Cat. No. 1.09531  
Spectroquant® BOD Standard (analogous to EN ISO 5815-1), 198 ± 40 mg/l, Cat. No. 1.00718, for 10 x 1 l standard solution

### 7. Preparation

**The temperature of the samples and of all reagents and auxiliaries must be within the range 19 - 21 °C!**

- Homogenize and analyze immediately after sampling. The samples must not be filtered!
- The pH must be within the range 6 - 8.** Adjust, if necessary, with sodium hydroxide solution or sulfuric acid.
- Samples with a BOD higher than 8.0 mg/l** must be diluted with inoculated nutrient salt solution according to the following table:

BOD in mg/l	8 - 30	30 - 100	100 - 500	500 - 1000	1000 - 3000
Sample + nutrient salt solution	1 + 3	1 + 19	1 + 99	1 + 199	1 + 499
Dilution factor	4	20	100	200	500

### Preparation of inoculated nutrient salt solution:

Fill 20 ml of wastewater<sup>1)</sup> into a 1-litre volumetric flask. Dissolve the total contents of the vial containing the BOD nutrient salt mixture with drinking water<sup>2)</sup> and transfer quantitatively to the volumetric flask. Fill the volumetric flask to the mark with drinking water<sup>2)</sup> and mix.

<sup>1)</sup> settled wastewater from the outflow of the preliminary clarification

<sup>2)</sup> with a total hardness below 800 mg/l Ca<sup>2+</sup> (140 °e), chlorine-free and aerated at 20 ± 1 °C as follows: Leave 1 l of chlorine-free drinking water to stand in an open glass beaker until it has reached a temperature of 20 ± 1 °C, stirring several times with a glass rod.

- Samples with a BOD up to 8.0 mg/l** must be inoculated as follows: Dissolve the total contents of one vial containing BOD nutrient salt mixture in 1 l of the original sample.

### 8. Procedure

#### 8.1 Preparation of the oxygen reaction bottles

Using the microspoon (in the cap of the bottle containing the glass beads) place 1 - 2 glass beads in each of four oxygen reaction bottles.

Fill two of the oxygen reaction bottles **bubble-free to overflowing** with the prepared **sample**; for the **blank** fill the other two with **inoculated nutrient salt solution** in the same manner (approx. 55 ml of each is required).

**Immediately** determine the oxygen concentration in one bottle with sample and one bottle with nutrient salt solution (blank) as described in step 8.2 below (**initial oxygen concentration**).

Close the two other bottles with the corresponding ground-glass stoppers **bubble-free**, incubate protected from light for n days at 20 ± 1 °C in a thermostated incubation cabinet, and subsequently determine the oxygen concentration as described in step 8.2 below (**final oxygen concentration**).

#### 8.2 Determination of the oxygen concentration

	Measurement sample (preparation in the bottle with <b>sample</b> ) and blank (preparation in the bottle with <b>nutrient salt solution</b> )	
Reagent BOD-1K	5 drops <sup>1)</sup>	Add to each oxygen reaction bottle.
Reagent BOD-2K	10 drops <sup>1)</sup>	Add to each oxygen reaction bottle, close the bottles <b>bubble-free</b> with the corresponding ground-glass stoppers, and mix <b>for 10 sec.</b>
<b>Leave to stand for 1 min (reaction time).</b>		
Reagent BOD-3K	10 drops <sup>1)</sup>	Add to each oxygen reaction bottle, close the bottles <b>bubble-free</b> with the corresponding ground-glass stoppers, and mix.
<b>Immediately</b> fill the measurement sample and the blank into round cells and measure in the photometer.		
Measurement of <b>initial oxygen concentration</b> : <b>measurement value 1 and blank value 1</b>		
Measurement of <b>final oxygen concentration</b> : <b>measurement value 2 and blank value 2</b>		

<sup>1)</sup> **Hold the bottle vertically while adding the reagent!**

#### Calculation of the BOD<sub>n</sub> value:

BOD<sub>n</sub> of measurement sample in mg/l (**A**) =  
= measurement value 1 - measurement value 2

BOD<sub>n</sub> of blank in mg/l (**B**) = blank value 1 - blank value 2

**BOD<sub>n</sub> of original sample in mg/l = (A - B) x dilution factor**



**It is advisable to perform each determination in duplicate. In this case the BOD<sub>n</sub> of the original sample must be calculated using the respective mean values of A and B.**

#### Notes on the measurement:

- For photometric measurement the cells must be clean. Wipe, if necessary, with a clean dry cloth.
- Measurement of turbid solutions yields false-high readings.
- The pH of the measurement solution must be within the range 2.3 - 3.3.
- The color of the measurement solution remains stable for only a short time.**

### 9. Analytical quality assurance

it is recommended prior to each measurement series to check the photometric measurement system (test reagents, measurement device, handling) and the mode of working, a standard solution with 198 ± 40 mg/l BOD prepared from Spectroquant® BOD standard can be used.

Additional notes see under [www.qa-test-kits.com](http://www.qa-test-kits.com).

For quality and batch certificates for Spectroquant® test kits see the website, where you will find all data in production control, that are determined in accordance with ISO 8466-1 and DIN 38402 A51.

### 10. Notes

- Reclose the reagent bottles immediately after use.
- Information on disposal can be obtained at [www.disposal-test-kits.com](http://www.disposal-test-kits.com).**

1.00687.0001

## Spectroquant® BSB-Küvettentest

BSB

### 1. Definition

Der BSB (biochemischer Sauerstoffbedarf) ist definiert als die Masse an Sauerstoff, die im Laufe von n Tagen von Mikroorganismen verbraucht wird, um die in 1 l Wasser vorhandenen organischen Stoffe bei 20 °C oxidativ abzubauen.

#### BSB<sub>n</sub> (meistens BSB<sub>5</sub>) = BSB in n (5) Tagen

Bei aerober Prozessführung beträgt der BSB im Ablauf kommunaler Abwässer etwa 2 - 50 mg/l. Zur Abschätzung des ungefähren BSB-Werts dient der CSB-Wert. Für unbehandeltes kommunales und industrielles Abwasser beträgt der BSB-Wert etwa 35 - 65 % des CSB-Werts, für mechanisch/biologisch geklärtes Abwasser etwa 25 %.

### 2. Methode

Der gelöste Sauerstoff oxidiert Mangan(II) zu Mangan(III). Dieses bildet in saurer Lösung mit Titriplex® II einen roten Komplex, der photometrisch bestimmt wird (modifizierte Winkler-Methode). Der BSB<sub>n</sub> ergibt sich als Differenz zwischen dem sofort nach der Probenahme und dem nach n Tagen Inkubation bestimmten Sauerstoff-Gehalt einer mit Allylthioharnstoff als Nitrifikationshemmer versetzten Wasserprobe.

Das Verfahren ist analog EPA 405.1 (modifizierte Winkler-Methode).

### 3. Messbereich und Anzahl der Bestimmungen

Messbereich mg/l BSB	Anzahl der Bestimmungen
0,5 - 8,0 <sup>1)</sup> 8,0 - 3000 <sup>2)</sup>	50

<sup>1)</sup> Die Sauerstoffsättigung von Wasser bei 20 °C und Normaldruck beträgt 8,8 mg/l Sauerstoff

<sup>2)</sup> bei entsprechender Verdünnung - Einzelheiten s. Abschnitt 7

Programmierdaten für ausgewählte Photometer / Spektralphotometer s. [www.sigmaaldrich.com/photometry](http://www.sigmaaldrich.com/photometry).

### 4. Anwendungsbereich

#### Probenmaterial:

Kommunale und industrielle Abwässer

### 5. Einfluss von Fremdstoffen

Die Bestimmung kann durch Substanzen gestört werden, die für Mikroorganismen giftig sind. Hierzu gehören bestimmte Metalle wie z. B. Chrom und Kupfer sowie freie Halogene und Bakterizide. Auch Peroxide und Reduktionsmittel wie Sulfid oder Fe<sup>2+</sup> führen zu Minderbefunden.

### 6. Reagenzien und Hilfsmittel

#### Gefahrenkennzeichnung auf den einzelnen Bestandteilen der Packung beachten!

Die Testreagenzien sind - bei +15 bis +25 °C verschlossen aufbewahrt - bis zu dem auf der Packung angegebenen Datum verwendbar.

#### Packungsinhalt:

- 1 Flasche Reagenz BOD-1K
- 1 Flasche Reagenz BOD-2K
- 1 Flasche Reagenz BOD-3K
- 1 Flasche mit Glasperlen
- 3 leere Rundküvetten mit Barcode

#### Zusätzlich erforderlich:

MQuant® Sauerstoff-Reaktionsflasche (1 Stück), Art. 1.14663  
Spectroquant® BSB-Nährsalzgemisch (mit Allylthioharnstoff), Art. 1.00688, für 12 x 1 l Nährsalzlösung

#### Weitere Reagenzien:

- MQuant® pH-Indikatorstäbchen pH 5,0 - 10,0, Art. 1.09533
- Natronlauge 1 mol/l Titripur®, Art. 1.09137
- Schwefelsäure 0,5 mol/l Titripur®, Art. 1.09072
- MQuant® Gesamthärte-Test, Art. 1.10025, Messbereich <3 - >21 °d
- MQuant® pH-Indikatorstäbchen pH 0 - 6,0, Art. 1.09531
- Spectroquant® BSB-Standard (analog DIN EN ISO 5815-1), 198 ± 40 mg/l, Art. 1.00718, für 10 x 1 l Standardlösung

### 7. Vorbereitung

#### Die Temperatur der Proben sowie aller Reagenzien und Hilfsmittel muss im Bereich 19 - 21 °C liegen!

- Proben sofort nach der Probenahme homogenisieren und analysieren. Die Proben dürfen **nicht** filtriert werden!
- pH-Wert soll im Bereich 6 - 8 liegen.** Falls erforderlich, mit Natronlauge bzw. Schwefelsäure einstellen.
- Proben mit mehr als 8,0 mg/l BSB** sind nach folgendem Schema mit angepflerter Nährsalzlösung zu verdünnen:

BSB in mg/l	8-30	30-100	100-500	500-1000	1000-3000
Probe + Nährsalzlösung	1 + 3	1 + 19	1 + 99	1 + 199	1 + 499
Verdünnungsfaktor	4	20	100	200	500

### Herstellung von angepflerter Nährsalzlösung:

20 ml Abwasser<sup>1)</sup> in einen 1-Liter-Messkolben füllen. Den gesamten Inhalt des Fläschchens mit dem BSB-Nährsalzgemisch mit Trinkwasser<sup>2)</sup> lösen und quantitativ in den Messkolben überführen. Messkolben bis zur Marke mit Trinkwasser<sup>2)</sup> auffüllen und mischen.

- abgesetztes Abwasser aus dem Ablauf der Vorklärung
- mit einer Gesamthärte von weniger als 800 mg/l Ca<sup>2+</sup> (110 °d), chlorfrei und wie folgt bei 20 ± 1 °C belüftet: 1 l chlorfreies Trinkwasser im Becherglas offen stehen lassen, bis 20 ± 1 °C erreicht sind und dabei mehrfach mit einem Glasstab umrühren.

- Proben mit bis zu 8,0 mg/l BSB** sind wie folgt anzupflern: Den gesamten Inhalt eines Fläschchens mit BSB-Nährsalzgemisch in 1 l Originalprobe lösen.

### 8. Durchführung

#### 8.1 Vorbereitung der Sauerstoff-Reaktionsflaschen

In vier Sauerstoff-Reaktionsflaschen mit Hilfe des Mikrolöffels (im Deckel der Flasche mit Glasperlen) je 1 - 2 Glasperlen geben.

Zwei der Sauerstoff-Reaktionsflaschen **bis zum Überlaufen luftblasenfrei** mit der vorbereiteten **Probe** füllen und für die **Blindprobe** die beiden anderen auf die gleiche Weise mit **angepflerter Nährsalzlösung** füllen (es werden je ca. 55 ml benötigt).

In einer Flasche mit Probe und einer Flasche mit Nährsalzlösung (Blindprobe) **sofort** nach 8.2 die Sauerstoff-Konzentration bestimmen (**Sauerstoff-Anfangskonzentration**).

Die beiden anderen Flaschen mit den zugehörigen Schliffstopfen **luftblasenfrei** verschließen, für n Tage bei 20 ± 1 °C in einem Thermostatschrank lichtgeschützt inkubieren und dann nach 8.2 die Sauerstoff-Konzentration bestimmen (**Sauerstoff-Endkonzentration**).

#### 8.2 Bestimmung der Sauerstoff-Konzentration

	Messprobe (Ansatz in der Flasche mit <b>Probe</b> ) und Blindprobe (Ansatz in der Flasche mit <b>Nährsalzlösung</b> )	
Reagenz BOD-1K	je 5 Tropfen <sup>1)</sup>	In Sauerstoff-Reaktionsflasche geben.
Reagenz BOD-2K	je 10 Tropfen <sup>1)</sup>	In Sauerstoff-Reaktionsflasche geben, Flasche mit dem Schliffstopfen <b>luftblasenfrei</b> verschließen und <b>10 Sekunden</b> mischen.
<b>1 min stehen lassen (Reaktionszeit).</b>		
Reagenz BOD-3K	je 10 Tropfen <sup>1)</sup>	In Sauerstoff-Reaktionsflasche geben, Flasche mit dem Schliffstopfen <b>luftblasenfrei</b> verschließen und mischen.
Messprobe und Blindprobe <b>sofort</b> in Rundküvetten füllen und im Photometer messen.		
Messung der <b>Sauerstoff-Anfangskonzentration</b> : Messwert 1 und Blindwert 1		
Messung der <b>Sauerstoff-Endkonzentration</b> : Messwert 2 und Blindwert 2		

<sup>1)</sup> Flasche während der Zugabe des Reagenzes senkrecht halten!

#### Berechnung des BSB<sub>n</sub>-Werts:

BSB<sub>n</sub> der Messprobe in mg/l (A) = Messwert 1 - Messwert 2

BSB<sub>n</sub> der Blindprobe in mg/l (B) = Blindwert 1 - Blindwert 2

BSB<sub>n</sub> der Originalprobe in mg/l = (A - B) x Verdünnungsfaktor



Es wird empfohlen, jeweils **Doppelbestimmungen** durchzuführen. In diesem Fall müssen für die Berechnung des BSB<sub>n</sub> der Originalprobe jeweils die Mittelwerte von A und B verwendet werden.

#### Hinweise zur Messung:

- Zur photometrischen Messung müssen die Küvetten sauber sein. Ggf. mit einem trockenen, sauberen Tuch abwischen.
- Trübungen nach vollendeter Reaktion ergeben zu hohe Messwerte.
- pH-Wert der Messlösung soll im Bereich 2,3 - 3,3 liegen.
- Die Farbe der Messlösung bleibt nur kurze Zeit stabil.**

### 9. Analytische Qualitätssicherung

wird vor jeder Messerie empfohlen

Zur Überprüfung des photometrischen Messsystems (Testreagenzien, Messvorrichtung, Handhabung) und der Arbeitsweise kann eine aus Spectroquant® BSB-Standard hergestellte Standardlösung mit 198 ± 40 mg/l BSB eingesetzt werden. Zusätzliche Hinweise unter [www.qa-test-kits.com](http://www.qa-test-kits.com). Qualitäts- und Chargenzertifikate für Spectroquant® Testsätze s. Website. Dort sind alle Daten der Produktionskontrolle aufgeführt, die nach ISO 8466-1 und DIN 38402 A51 ermittelt wurden.

### 10. Hinweise

- Flaschen nach Reagenzentnahme umgehend wieder verschließen.
- Hinweise zur Entsorgung können auf [www.disposal-test-kits.com](http://www.disposal-test-kits.com) angefordert werden.**

1.00687.0001

# Spectroquant® Test en tube DBO

# DBO

## 1. Définition

La DBO (demande biochimique en oxygène) représente la quantité d'oxygène nécessaire aux micro-organismes pendant n jours pour oxyder la matière organique présente dans 1 l d'eau maintenue à 20°C.

**DBO<sub>n</sub> (principalement DBO<sub>5</sub>) = DBO sur n (5) jours**

Avec l'emploi d'un procédé aérobique, la DBO est d'environ 2 - 50 mg/l dans les effluents des eaux usées communales. La valeur de la DCO sert à l'évaluation de la valeur approximative de la DBO. Pour des eaux usées communales et industrielles non traitées la DBO est d'environ 35 - 65 % de la DCO, pour des eaux usées traitées mécaniquement/biologiquement elle est d'environ 25 %.

## 2. Méthode

L'oxygène dissous oxyde le manganèse(II) en manganèse(III). Dans une solution acide celui-ci forme avec le Titripex® II un complexe rouge qui est dosé par photométrie (méthode de Winkler modifiée). La DBO<sub>n</sub> représente la différence entre la teneur en oxygène obtenue aussitôt après le prélèvement d'échantillon et celle obtenue après n jours d'incubation d'un échantillon d'eau additionné d'allylthio-urée comme inhibiteur de nitrification. **La méthode est analogue à EPA 405.1 (méthode de Winkler modifiée).**

## 3. Domaine de mesure et nombre de dosages

Domaine de mesure mg/l de DBO	Nombre de dosages
0,5 - 8,0 <sup>1)</sup> 8,0 - 3000 <sup>2)</sup>	50

<sup>1)</sup> La saturation de l'eau en oxygène à 20 °C et pression atmosphérique est de 8,8 mg/l d'oxygène

<sup>2)</sup> en cas de dilution conforme - détails cf. § 7

Données de programmation pour les photomètres / spectrophotomètres choisis, cf. www.sigmaaldrich.com/photometry.

## 4. Applications

### Echantillons :

Eaux usées communales et industrielles

## 5. Influence des substances étrangères

Le dosage peut être perturbé par des substances nocives pour les micro-organismes comme par exemple certains métaux comme le chrome et le cuivre ainsi que les halogènes libres et les bactéricides. Les peroxydes et les réducteurs comme les sulfites ou le Fe<sup>2+</sup> donnent aussi des résultats trop faibles.

## 6. Réactifs et produits auxiliaires

**Tenir compte de tous les avertissements figurant sur l'emballage et les réactifs.**

Conservés hermétiquement fermés entre +15 et +25 °C, les réactifs-test sont utilisables jusqu'à la date indiquée sur l'emballage.

### Contenu d'un emballage :

- 1 flacon de réactif BOD-1K
- 1 flacon de réactif BOD-2K
- 1 flacon de réactif BOD-3K
- 1 flacon de perles de verre
- 3 tubes vides avec code-barres

### Nécessaire en plus :

MQuant® Flacon-réaction à l'oxygène (1 unité), art. 1.14663  
Spectroquant® Mélange de sels nutritifs pour la DBO (à l'allylthio-urée), art. 1.00688, pour 12 x 1 l de solution de sels nutritifs

### Autres réactifs:

MQuant® Bandelettes indicatrices de pH pH 5,0 - 10,0, art. 1.09533  
Sodium hydroxyde en solution 1 mol/l Titripur®, art. 1.09137  
Acide sulfurique 0,5 mol/l Titripur®, art. 1.09072  
MQuant® Test Dureté totale, art. 1.10025, domaine de mesure <5 - >37 °f  
MQuant® Bandelettes indicatrices de pH pH 0 - 6,0, art. 1.09531  
Spectroquant® Etalon DBO (analogue à EN ISO 5815-1), 198 ± 40 mg/l, art. 1.00718, pour 10 x 1 l de solution étalon

## 7. Préparation

**La température des échantillons et de tous les réactifs et auxiliaires doit être comprise entre 19 et 21 °C.**

- Homogénéiser et analyser les échantillons immédiatement après leur prélèvement. Les échantillons **ne** doivent **pas** être filtrés.
- Le pH doit être compris entre 6 et 8.** L'ajuster si nécessaire avec de l'hydroxyde de sodium en solution ou de l'acide sulfurique.
- Les échantillons de plus de 8,0 mg/l de DBO** doivent être dilués avec une solution de sels nutritifs inoculée selon le schéma suivant :

DBO en mg/l	8-30	30-100	100-500	500-1000	1000-3000
Echantillon + solution de sels nutritifs	1 + 3	1 + 19	1 + 99	1 + 199	1 + 499
Facteur de dilution	4	20	100	200	500

## Préparation de la solution de sels nutritifs inoculée :

Verser 20 ml d'eaux usées<sup>1)</sup> dans un ballon jaugé de 1 litre. Dissoudre tout le contenu du flacon de mélange de sels nutritifs pour la DBO avec de l'eau potable<sup>2)</sup> et transvaser quantitativement dans le ballon jaugé. Remplir le ballon jaugé d'eau potable<sup>2)</sup> jusqu'au trait de jauge et mélanger.

- eaux usées décantées des effluents de la prédécantation
- d'une dureté totale inférieure à 800 mg/l de Ca<sup>2+</sup> (200 °f), exempte de chlore et aérée à une température de 20 ± 1 °C de la manière suivante : Laisser reposer, tout en agitant plusieurs fois avec une baguette de verre, 1 l d'eau potable exempte de chlore dans un bécher ouvert jusqu'à ce qu'une température de 20 ± 1 °C soit atteinte.

- Inoculer **les échantillons contenant jusqu'à 8,0 mg/l de DBO** comme suit : Dissoudre tout le contenu d'un flacon de mélange de sels nutritifs pour la DBO dans 1 l d'échantillon original.

## 8. Mode opératoire

### 8.1 Préparation des flacons-réaction à l'oxygène

A l'aide de la microcuiller (fixée dans le bouchon du flacon de perles de verre), mettre 1 à 2 perles de verre dans quatre flacons-réaction à l'oxygène.

Remplir **jusqu'au trop-plein** deux des flacons-réaction à l'oxygène avec l'**échantillon** préparé **sans former de bulles d'air** et pour l'**échantillon à blanc** de la même manière les deux autres avec la **solution de sels nutritifs inoculée** (on a besoin d'environ 55 ml respectivement).

Déterminer **immédiatement** la concentration d'oxygène (**concentration de départ en oxygène**) dans un flacon d'échantillon et un flacon de solution de sels nutritifs (l'échantillon à blanc) comme décrit au point 8.2.

Fermer hermétiquement de leur bouchon rodé les deux autres flacons, **sans former de bulles d'air**, incubé à l'abri de la lumière dans une armoire thermostatique à 20 ± 1 °C pendant n jours et déterminer la concentration d'oxygène (**concentration finale en oxygène**) comme décrit au point 8.2.

### 8.2 Dosage de la concentration d'oxygène

	Echantillon à mesurer (prise d'essai dans le flacon avec l'échantillon) et échantillon à blanc (prise d'essai dans le flacon avec la solution de sels nutritifs)	
Réactif BOD-1K	5 gouttes <sup>1)</sup>	Mettre dans chaque flacon-réaction à l'oxygène. Mettre dans chaque flacon-réaction à l'oxygène, fermer hermétiquement les flacons de leur bouchon rodé, <b>sans former de bulles d'air</b> , et mélanger pendant 10 secondes.
Réactif BOD-2K	10 gouttes <sup>1)</sup>	
<b>Laisser reposer 1 minute (temps de réaction).</b>		
Réactif BOD-3K	10 gouttes <sup>1)</sup>	Mettre dans chaque flacon-réaction à l'oxygène, fermer hermétiquement les flacons de leur bouchon rodé, <b>sans former de bulles d'air</b> , et mélanger.
Verser <b>immédiatement</b> l'échantillon à mesurer et l'échantillon à blanc dans des tubes et mesurer dans le photomètre.		
Mesure de la <b>concentration de départ en oxygène</b> : <b>valeur mesurée 1 et valeur à blanc 1</b>		
Mesure de la <b>concentration finale en oxygène</b> : <b>valeur mesurée 2 et valeur à blanc 2</b>		

<sup>1)</sup> Pendant l'addition du réactif tenir le flacon verticalement.

### Calcul de la DBO<sub>n</sub>:

DBO<sub>n</sub> de l'échantillon à mesurer en mg/l (A) = valeur mesurée 1 - valeur mesurée 2

DBO<sub>n</sub> de l'échantillon à blanc en mg/l (B) = valeur à blanc 1 - valeur à blanc 2

**DBO<sub>n</sub> de l'échantillon original en mg/l = (A - B) x le facteur de dilution**



**Il est conseillé d'effectuer à chaque fois un double dosage. Dans ce cas employer chaque fois les moyennes de A et de B pour le calcul de la DBO<sub>n</sub> de l'échantillon original.**

### Remarques concernant la mesure:

- Les tubes utilisés pour la mesure photométrique doivent être propres. Les essuyer le cas échéant avec un chiffon sec et propre.
- Les troubles éventuels se développant après la réaction donnent des résultats trop élevés.
- Le pH de la solution à mesurer doit être compris entre 2,3 et 3,3.
- La couleur de la solution à mesurer ne reste que peu de temps stable.**

## 9. Assurance de la qualité d'analyse

conseillé avant chaque série de mesures

Pour le contrôle du système de mesure photométrique (réactifs-test, dispositif de mesure, manipulation) et du mode opératoire, on peut utiliser une solution étalon avec 198 ± 40 mg/l de DBO préparée à partir de l'étalon DBO Spectroquant®.

Remarques complémentaires, cf. sous [www.qa-test-kits.com](http://www.qa-test-kits.com).

Certificats de qualité et de lot pour les tests Spectroquant®, cf. site web. On y trouve une liste de toutes les données de contrôle en cours de production qui ont été déterminées selon ISO 8466-1 et DIN 38402 A51.

## 10. Remarques

- Reboucher les flacons immédiatement après le prélèvement des réactifs.
- Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cf. [www.disposal-test-kits.com](http://www.disposal-test-kits.com).**

1.00687.0001

# Spectroquant® Test en cubetas DBO

DBO

## 1. Definición

La DBO (demanda bioquímica de oxígeno) se define como la masa de oxígeno que es consumida por microorganismos en el transcurso de n días, para descomponer por oxidación las sustancias orgánicas presentes en 1 l de agua a 20 °C.

**DBO<sub>n</sub> (generalmente DBO<sub>5</sub>) = DBO en n (5) días**

Realizando el proceso en forma aerobia la DBO en la salida de aguas residuales comunales es de aprox. 2 - 50 mg/l. El valor DQO sirve para estimar el valor DBO aproximado. Para aguas residuales comunales e industriales no tratadas el valor DBO es aprox. 35 - 65 % del valor DQO, para aguas residuales tratadas mecánicamente/biológicamente aprox. el 25 %.

## 2. Método

El oxígeno disuelto oxida manganoso(II) a manganoso(III). En solución ácida este último forma con Titrplex® II un complejo rojo que se determina fotométricamente (método de Winkler modificado). La DBO<sub>n</sub> resulta de la diferencia entre el contenido de oxígeno de una muestra de agua tratada con alitiourea como inhibidor de nitrificación determinado inmediatamente después de tomar la muestra y después de n días de incubación.

**El procedimiento es análogo a EPA 405.1 (método de Winkler modificado).**

## 3. Intervalo de medida y número de determinaciones

Intervalo de medida mg/l de DBO	Número de determinaciones
0,5 - 8,0 <sup>1)</sup> 8,0 - 3000 <sup>2)</sup>	50

<sup>1)</sup> La saturación de oxígeno del agua a una temperatura de 20 °C y una presión normal es de 8,8 mg de oxígeno por litro

<sup>2)</sup> para la correspondiente dilución - detalles, ver apartado 7

Datos de programación para determinados fotómetros / espectrofotómetros, ver www.sigmaaldrich.com/photometry.

## 4. Campo de aplicaciones

**Material de las muestras:**

Aguas residuales comunales e industriales

## 5. Influencia de sustancias extrañas

La determinación puede ser interferida por sustancias que son tóxicas para microorganismos. Pertenecen a este grupo de sustancias determinados metales como cromo y cobre, así como halógenos libres y bactericidas. También peróxidos y reductores como sulfitos o Fe<sup>2+</sup> conducen a resultados falsamente bajos.

## 6. Reactivos y auxiliares

**¡Tener en cuenta las advertencias de peligro que se encuentran en los diferentes componentes del envase!**

Los reactivos del test son utilizables hasta la fecha indicada en el envase si se conservan cerrados entre +15 y +25 °C.

### Contenido del envase:

- 1 frasco de reactivo BOD-1K
- 1 frasco de reactivo BOD-2K
- 1 frasco de reactivo BOD-3K
- 1 frasco con perlas de vidrio
- 3 cubetas redondas vacías con código de barras

### Necesario además:

MQuant® Frasco de reacción del oxígeno (1 unidad), art. 1.14663  
Spectroquant® Mezcla salina nutritiva para DBO (con alitiourea), art. 1.00688, para 12 x 1 l de solución salina nutritiva

### Otros reactivos:

MQuant® Tiras indicadoras del pH pH 5,0 - 10,0, art. 1.09533  
Sodio hidróxido en solución 1 mol/l Titripur®, art. 1.09137  
Ácido sulfúrico 0,5 mol/l Titripur®, art. 1.09072  
MQuant® Test Dureza total, art. 1.10025, intervalo de medida <5 - >37 °f  
MQuant® Tiras indicadoras del pH pH 0 - 6,0, art. 1.09531  
Spectroquant® Patrón DBO (análogo a EN ISO 5815-1), 198 ± 40 mg/l, art. 1.00718, para 10 x 1 l de solución patrón

## 7. Preparación

**¡La temperatura de las muestras y de todos los reactivos y auxiliares debe encontrarse en el intervalo 19 - 21 °C!**

- Homogenizar y analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras. **¡No** deben filtrarse las muestras!
- **El valor del pH debe encontrarse en el intervalo 6 - 8.** Si es necesario, ajustar con solución de hidróxido sódico o con ácido sulfúrico.
- **Las muestras con más de 8,0 mg/l de DBO** deben diluirse según el siguiente esquema con solución salina nutritiva inoculada:

DBO en mg/l	8-30	30-100	100-500	500-1000	1000-3000
Muestra + solución salina nutritiva	1 + 3	1 + 19	1 + 99	1 + 199	1 + 499
Factor de dilución	4	20	100	200	500

La división Life Science de Merck opera como MilliporeSigma en los Estados Unidos y en Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. Merck, Supelco, Sigma-Aldrich y Spectroquant son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

## Preparación de solución nutritiva inoculada:

Introducir 20 ml de agua residual<sup>1)</sup> en un matraz aforado de 1 litro. Disolver con agua potable<sup>2)</sup> el contenido completo del frasco con la mezcla salina nutritiva para DBO y transferir cuantitativamente al matraz aforado. Completar el matraz aforado hasta la señal de enrase con agua potable<sup>2)</sup> y mezclar.

- 1) agua residual sedimentada procedente de la efluencia de la presedimentación
- 2) con una dureza total inferior a 800 mg/l de Ca<sup>2+</sup> (200 °f), exenta de cloro y aireada a 20 ± 1 °C de la manera siguiente: Dejar en reposo 1 l de agua potable exenta de cloro en un vaso de precipitados abierto, hasta que se alcancen los 20 ± 1 °C, y revolver varias veces con una varilla de vidrio.

- **Las muestras con hasta 8,0 mg/l de DBO** deben inocularse tal como sigue: En 1 l de muestra original disolver el contenido total de un frasco con mezcla salina nutritiva para DBO.

## 8. Técnica

### 8.1 Preparación de los frascos de reacción del oxígeno

En cada uno de cuatro frascos de reacción del oxígeno añadir de 1 a 2 perlas de vidrio con la ayuda de la microcuchara (en la tapa del frasco con perlas de vidrio).

Lenar dos de los frascos de reacción del oxígeno **hasta derramarse sin que queden burbujas de aire** con la **muestra** preparada y para **muestra en blanco** los otros dos de la misma manera con **solución salina nutritiva inoculada** (se necesitan en cada caso aprox. 55 ml).

En un frasco con muestra y un frasco con solución salina nutritiva (muestra en blanco) determinar **inmediatamente** según 8.2 la concentración de oxígeno (**concentración inicial de oxígeno**).

Cerrar los otros dos frascos con el correspondiente tapón esmerilado **sin que queden burbujas de aire**, incubar al abrigo de la luz durante n días a 20 ± 1 °C en una incubadora y luego determinar la concentración de oxígeno según 8.2 (**concentración final de oxígeno**).

### 8.2 Determinación de la concentración de oxígeno

	Muestra de medición (preparación en el frasco con <b>muestra</b> ) y muestra en blanco (preparación en el frasco con <b>solución salina nutritiva</b> )	
Reactivo BOD-1K	5 gotas <sup>1)</sup>	Introducir en cada frasco de reacción del oxígeno. Introducir en cada frasco de reacción del oxígeno, cerrar los frascos con el correspondiente tapón esmerilado <b>sin que queden burbujas de aire</b> y mezclar <b>durante 10 segundos</b> .
Reactivo BOD-2K	10 gotas <sup>1)</sup>	
<b>Dejar en reposo 1 minuto (tiempo de reacción).</b>		
Reactivo BOD-3K	10 gotas <sup>1)</sup>	Introducir en cada frasco de reacción del oxígeno, cerrar los frascos con el correspondiente tapón esmerilado <b>sin que queden burbujas de aire</b> y mezclar.
Introducir la muestra de medición y la muestra en blanco <b>inmediatamente</b> en cubetas redondas y medirlas en el fotómetro.		
Medición de la <b>concentración inicial de oxígeno</b> : valor de medición 1 y valor en blanco 1		
Medición de la <b>concentración final de oxígeno</b> : valor de medición 2 y valor en blanco 2		

<sup>1)</sup> **¡Mantener el frasco verticalmente durante la adición del reactivo!**

### Cálculo del valor DBO<sub>n</sub>:

DBO<sub>n</sub> de la muestra de medición en mg/l (**A**) = valor de medición 1 - valor de medición 2

DBO<sub>n</sub> de la muestra en blanco en mg/l (**B**) = valor en blanco 1 - valor en blanco 2

**DBO<sub>n</sub> de la muestra original en mg/l = (A - B) x factor de dilución**



**Se recomienda realizar cada determinación por duplicado. En este caso para el cálculo de la DBO<sub>n</sub> de la muestra original deben usarse cada vez los valores medios de A y B.**

### Notas sobre la medición:

- Para la medición fotométrica las cubetas deben estar limpias. Si es necesario, limpiarlas con un paño seco y limpio.
- Las turbideces después de acabada la reacción dan como resultado valores falsamente elevados.
- El valor del pH de la solución de medición debe encontrarse en el intervalo 2,3 - 3,3.
- **El color de la solución de medición permanece estable sólo por breve tiempo.**

## 9. Aseguramiento analítico de la calidad

se recomienda antes de cada serie de mediciones

Para comprobar el sistema fotométrico de medición (reactivos del test, dispositivo de medición, manipulación) y el modo de trabajo puede usarse una solución patrón con 198 ± 40 mg/l de DBO preparada a partir del patrón DBO Spectroquant®.

Notas adicionales, ver bajo [www.qa-test-kits.com](http://www.qa-test-kits.com).

Certificados de calidad y lote para Kits de test de Spectroquant®, véase el sitio web. Allí se indican todos los datos del control de producción que se han obtenido según ISO 8466-1 y DIN 38402 A51.

## 10. Notas

- Cerrar de nuevo inmediatamente los frascos tras la toma de los reactivos.
- **Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación en [www.disposal-test-kits.com](http://www.disposal-test-kits.com).**

1.00687.0001

# Spectroquant® Test in cuvetta BOD

BOD

## 1. Definizione

La BOD (domanda biochimica d'ossigeno) rappresenta la massa di ossigeno che viene utilizzata in n giorni dai microorganismi per decomporre ossidativamente a 20 °C le sostanze organiche presenti in 1 l d'acqua.

**BOD<sub>n</sub> (di solito BOD<sub>5</sub>) = BOD in n (5) giorni**

In caso di processo aerobico il valore BOD nello scolo delle acque di scarico comunali è di circa 2 - 50 mg/l. Per un stima approssimativa del valore BOD si usa il valore COD. Le acque di scarico comunali e industriali non purificate hanno un valore BOD di circa il 35 - 65 % del valore COD, le acque di scarico purificate meccanicamente/biologicamente di circa il 25 %.

## 2. Metodo

L'ossigeno disciolto ossida manganese(II) a manganese(III). Quest'ultimo forma in soluzione acida con Titriplex® II un complesso rosso, il quale viene determinato fotometricamente (metodo di Winkler modificato). La BOD<sub>n</sub> è il risultato della differenza fra il contenuto di ossigeno di un campione d'acqua con allitiourea (inibitore di nitrificazione) mescolato subito dopo il prelievo di campione e quello dopo n giorni di incubazione. **Il procedimento è analogo a EPA 405.1 (metodo di Winkler modificato).**

## 3. Intervallo di misura e numero delle determinazioni

Intervallo di misura mg/l BOD	Numero delle determinazioni
0,5 - 8,0 <sup>1)</sup> 8,0 - 3000 <sup>2)</sup>	50

<sup>1)</sup> La saturazione in ossigeno dell'acqua a 20 °C e a pressione normale è di 8,8 mg/l di ossigeno

<sup>2)</sup> con appropriata diluizione - per ulteriori dettagli vedere punto 7

Per i dati di programmazione per fotometri / spettrofotometri selezionati - visitare [www.sigmaaldrich.com/photometry](http://www.sigmaaldrich.com/photometry).

## 4. Settore d'impiego

### Materiale d'esame:

Acque di scarico comunali e industriali

## 5. Interferenze

L'analisi può essere disturbata da sostanze tossiche per microorganismi. Fra queste sostanze ci sono metalli come per esempio il cromo e il rame così anche come alogeni liberi e battericidi. Anche perossidi e agenti riducenti come i solfiti e Fe<sup>2+</sup> danno valori troppo bassi.

## 6. Reattivi ed accessori

### Osservare tutte le avvertenze di pericolo sulle singole parti della confezione!

I reattivi del test, conservati sigillati a +15 fino a +25 °C, si mantengono inalterati fino alla data indicata sulla confezione.

### Contenuto della confezione:

- 1 flacone di reattivo BOD-1K
- 1 flacone di reattivo BOD-2K
- 1 flacone di reattivo BOD-3K
- 1 flacone con perle di vetro
- 3 cuvette rotonde vuote con barcode

### Inoltre necessario:

MQuant® Flacone di reazione ossigeno (1 unità), art. 1.14663  
Spectroquant® Miscela di sali nutritivi BOD (con allitiourea), art. 1.00688, per 12 x 1 l di soluzione di sali nutritivi

### Ulteriori reattivi:

MQuant® Strisce indicatrici pH pH 5,0 - 10,0, art. 1.09533  
Sodio idrossido soluzione 1 mol/l Titripur®, art. 1.09137  
Acido solforico 0,5 mol/l Titripur®, art. 1.09072  
MQuant® Test Durezza totale, art. 1.10025, intervallo di misura <5 - >37 °f  
MQuant® Strisce indicatrici pH pH 0 - 6,0, art. 1.09531  
Spectroquant® Standard BOD (analogo a EN ISO 5815-1), 198 ± 40 mg/l, art. 1.00718, per 10 x 1 l di soluzione standard

## 7. Preparazione

### La temperatura dei campioni e di tutti i reattivi e accessori deve rientrare nell'intervallo 19 - 21 °C!

- Omogeneizzare e analizzare i campioni subito dopo il prelievo. I campioni non devono venir filtrati!
- Il pH deve rientrare nell'intervallo 6 - 8.** Se necessario, regolare con sodio idrossido in soluzione o acido solforico.
- I campioni con più di 8,0 mg/l BOD** devono venir diluiti con soluzione di sali nutritivi inoculata in base al seguente schema:

BOD in mg/l	8 - 30	30 - 100	100 - 500	500 - 1000	1000 - 3000
Campione + soluzione di sali nutritivi	1 + 3	1 + 19	1 + 99	1 + 199	1 + 499
Fattore di diluizione	4	20	100	200	500

## Preparazione della soluzione di sali nutritivi inoculata:

Riempire un matraccio da 1 litro con 20 ml di acqua di scarico<sup>1)</sup>. Disciogliere tutto il contenuto del flacone con la miscela di sali nutritivi BOD con acqua potabile<sup>2)</sup> e trasferirlo nel matraccio. Riempire il matraccio fino alla tacca con acqua potabile<sup>2)</sup> e mescolare.

- acqua di scarico lasciata depositare proveniente dallo scolo della depurazione preliminare
- con una durezza totale inferiore a 800 mg/l Ca<sup>2+</sup> (110 °d), libera di cloro e aeraggiata a 20 ± 1 °C come segue: Lasciar riposare 1 l di acqua potabile libera di cloro in un bicchiere aperto fino al raggiungimento di 20 ± 1 °C e agitare più volte con una bacchetta di vetro.

- I campioni con un valore BOD fino a 8,0 mg/l** sono da inoculare come segue:  
Disciogliere in 1 l di campione originale l'intero contenuto di un flacone con miscela di sali nutritivi BOD.

## 8. Esecuzione

### 8.1 Preparazione dei flaconi di reazione ossigeno

Mettere in ognuno dei quattro flaconi di reazione ossigeno 1 - 2 perle di vetro usando il microcucchiaino (nel tappo del flacone con le perle di vetro).

Riempire **fino al traboccamento, evitando la formazione di bolle d'aria**, due dei flaconi di reazione ossigeno con il **campione** preparato. Per **bianco**: riempire gli altri due nello stesso modo ma con **soluzione di sali nutritivi inoculata** (sono necessari ciascuno di circa 55 ml).

Determinare **immediatamente** la concentrazione di ossigeno in un flacone col campione e in uno con la miscela di sali nutritivi (bianco), seguendo lo schema in 8.2 (**concentrazione iniziale di ossigeno**).

Chiudere gli altri due flaconi con i rispettivi tappi **evitando la formazione di bolle d'aria**. Incubare in assenza di luce per n giorni a 20 ± 1 °C in un incubatore, in seguito determinare la concentrazione di ossigeno in base a 8.2 (**concentrazione finale di ossigeno**).

### 8.2 Determinazione della concentrazione di ossigeno

	Campione da analizzare (preparazione nel flacone col campione) e <b>bianco</b> (preparazione nel flacone con la soluzione di sali nutritivi)	
Reattivo BOD-1K	5 gocce <sup>1)</sup>	Mettere in ogni flacone di reazione ossigeno.
Reattivo BOD-2K	10 gocce <sup>1)</sup>	Mettere in ogni flacone di reazione ossigeno. Chiudere i flaconi con i rispettivi tappi <b>evitando la formazione di bolle d'aria</b> e mescolare <b>per 10 sec.</b>
<b>Lasciar riposare per 1 min. (tempo di reazione).</b>		
Reattivo BOD-3K	10 gocce <sup>1)</sup>	Mettere in ogni flacone di reazione ossigeno. Chiudere i flaconi con i rispettivi tappi <b>evitando la formazione di bolle d'aria</b> e mescolare.
Versare <b>subito</b> il campione da analizzare e il bianco in cuvette rotonde e misurare nel fotometro.		
Misurazione della <b>concentrazione iniziale di ossigeno</b> : <b>valore di misura 1 e valore del bianco 1</b>		
Misurazione della <b>concentrazione finale di ossigeno</b> : <b>valore di misura 2 e valore del bianco 2</b>		

<sup>1)</sup> **Tenere il flacone in posizione verticale durante l'aggiunta del reattivo!**

### Calcolo del valore BOD<sub>n</sub>:

BOD<sub>n</sub> del campione da analizzare in mg/l (**A**) = valore di misura 1 - valore di misura 2

BOD<sub>n</sub> del bianco mg/l (**B**) = valore del bianco 1 - valore del bianco 2

**BOD<sub>n</sub> del campione originale in mg/l = (A - B) x fattore di diluizione**



**Si consiglia di eseguire ogni determinazione in duplicato. In questo caso per il calcolo della BOD<sub>n</sub> del campione originale si devono usare ogni volta i valori medi di A e B.**

### Indicazioni per la misurazione:

- Per la misurazione fotometrica le cuvette devono essere ben pulite. Eventualmente asciugare con panno asciutto e pulito.
- Eventuali intorbidamenti che si creano a reazione avvenuta danno valori troppo elevati.
- Il pH della soluzione di misura deve rientrare nell'intervallo 2,3 - 3,3.
- Il colore della soluzione di misura rimane stabile solo per breve tempo.**

## 9. Assicuramento della qualità analitica

si raccomanda prima de ogni serie di misurazioni  
Per il controllo del sistema di misura fotometrico (reattivi del test, dispositivo di misura, maneggio) e della modalità operativa, si può utilizzare una soluzione standard preparata dallo standard BOD Spectroquant® con 198 ± 40 mg/l BOD.  
Per ulteriori indicazioni, consultare [www.qa-test-kits.com](http://www.qa-test-kits.com).  
Per i certificati di qualità e dei lotti nei kit dei test Spectroquant® consultare il sito Internet dove sono raccolti tutti i dati di controllo della produzione determinati secondo ISO 8466-1 e DIN 38402 A51.

## 10. Avvertenze

- Chiudere i flaconi immediatamente dopo il prelievo dei reattivi.
- Per richiedere informazioni sullo smaltimento visitare [www.disposal-test-kits.com](http://www.disposal-test-kits.com).**