

DIN EN ISO 5815-1



ICS 13.060.50

Einsprüche bis 2018-01-24
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 1899-1:1998-05

Entwurf

**Wasserbeschaffenheit –
Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n) –
Teil 1: Verdünnungs- und Impfverfahren mit Zugabe von Allylthioharnstoff
(ISO/DIS 5815-1:2017);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 5815-1:2017**

Water quality –

Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n) –

Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition (ISO/DIS 5815-1:2017);

German and English version prEN ISO 5815-1:2017

Qualité de l'eau –

Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO_n) –

Partie 1: Méthode par dilution et ensemencement avec apport d'allylthiourée
(ISO/DIS 5815-1:2017);

Version allemande et anglaise prEN ISO 5815-1:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-11-24 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 67 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 5815-1:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitskreis NA 119-01-03-05-10 AK „BSB“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Bezeichnung des Verfahrens:

Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n) - Verdünnungs- und Impfverfahren mit Zugabe von Allylthioharnstoff:

Verfahren DIN EN ISO 5815-1

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 5667-3:2012	siehe DIN EN ISO 5667-3:2013-03
ISO 5814	siehe DIN EN ISO 5814
ISO 6060:1989	siehe DIN ISO 6060:1991-10*)
ISO 6107-2:2006	siehe DIN ISO 6107-2:2017-11
ISO 7393-1:1985	siehe DIN EN ISO 7393-1:2000-04
ISO 7393-2:1985	siehe DIN EN ISO 7393-2:2000-04
ISO 10523:2008	siehe DIN EN ISO 10523:2014-04
ISO 15705:2002	siehe DIN ISO 15705:2003-01
ISO 17289:2014	siehe DIN ISO 17289:2014-12
ISO 20079:2005	siehe DIN EN ISO 20079:2006-12

*) wurde ohne Ersatz 1997-04 zurückgezogen.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 1899-1:1998-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Änderung in der Durchführung der Analyse;
- b) 5.2, Impfwasser: Es wird auf die Möglichkeit verwiesen bei neueingesetzten Impfmaterialien im Impfwasser mit dem Glucose-Glutaminsäure-Standard die Tauglichkeit zu prüfen;
- c) 5.3.2, Phosphat-Puffer: Der pH-Wert-Zielwert wird von 7,2 +/- 0,1 auf 7-8 verändert;
- d) 5.9, Glucose-Glutaminsäure-Standard: Änderung des Zielwertes für den BSB_n über 5 Tage von 210 +/- 40 mg/l O₂ auf 198 +/- 40 mg/l O₂;
- e) 8.3 Anwesenheit von Peroxiden und Peroxid-Verbindung ergänzt;
- f) 9.3 Berechnungen von Verdünnungen ausführlicher dargestellt;
- g) 9.6 Kontrolluntersuchungen: Vorgehensweise präzisiert;
- h) Ergänzung um 10.3, um die Einhaltung und Aufzählung aller Gültigkeitskriterien;
- i) Ergänzung um Anhang B –Multitestig Mehrfachbestimmungen;
- j) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n) - Verdünnungs- und Impfverfahren mit Zugabe von Allylthioharnstoff.

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 5667-3:2013-03, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben (ISO 5667-3:2012); Deutsche Fassung EN ISO 5667-3:2012*

DIN EN ISO 5814, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des gelösten Sauerstoffs — Elektrochemisches Verfahren*

DIN EN ISO 7393-1:2000-04, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von freiem Chlor und Gesamtchlor — Teil 1: Titrimetrisches Verfahren mit N,N-Diethyl-1,4-Phenylendiamin (ISO 7393-1:1985) Deutsche Fassung EN ISO 7393-1:2000*

DIN EN ISO 7393-2:2000-04, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von freiem Chlor und Gesamtchlor — Teil 2: Kolorimetrisches Verfahren mit N,N-Diethyl-1,4-Phenylendiamin für Routinekontrollen (ISO 7393-2:1985); Deutsche Fassung EN ISO 7393-2:2000*

DIN EN ISO 10523:2014-04, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Werts (ISO 10523:2008); Deutsche Fassung EN ISO 10523:2012*

DIN EN ISO 20079:2006-12, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (Lemna minor) — Wasserlinsen-Wachstumshemmtest (ISO 20079:2005); Deutsche Fassung EN ISO 20079:2006*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke; Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO 6060:1991-10, *Wasserbeschaffenheit; Bestimmung des Chemischen Sauerstoffbedarfs; Identisch mit ISO 6060:1989*

DIN ISO 6107-2:2017-11, *Wasserbeschaffenheit — Wörterbuch — Teil 2 (ISO 6107-2:2006 + Amd 1:2012); Text Deutsch, Englisch, Französisch und Russisch*

DIN ISO 15705:2003-01, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs (ST-CSB) — Küvettentest (ISO 15705:2002)*

DIN ISO 17289:2014-12, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des gelösten Sauerstoffs — Optisches Sensorverfahren (ISO 17289:2014)*

— Leerseite —

Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n) — Teil 1: Verdünnungs- und Impfverfahren mit Zugabe von Allylthioharnstoff (ISO/DIS 5815-1:2017)

Qualité de l'eau — Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO_n) — Partie 1 : Méthode par dilution et ensemencement avec apport d'allylthiourée (ISO/DIS 5815-1:2017)

Water quality — Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n) — Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition (ISO/DIS 5815-1:2017)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.8l

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	7
4 Grundlage des Verfahrens	8
5 Reagenzien	9
6 Geräte	11
7 Probenahme und Konservierung	12
8 Störungen	13
8.1 Anwesenheit von freiem und/oder gebundenem Chlor	13
8.2 Anwesenheit von Algen	13
8.3 Anwesenheit von Peroxiden und Peroxidverbindungen	13
9 Durchführung	14
9.1 Vorbehandlung	14
9.1.1 Neutralisation der Probe	14
9.1.2 Homogenisierung	14
9.2 Herstellung der Analysenansätze	14
9.3 Berechnung von Verdünnungen	15
9.3.1 Empirische Bestimmung von Verdünnungen	15
9.3.2 Bestimmung über die Faktoren R des TOC, des Permanganat-Index oder des CSB	16
9.3.3 Berechnung von Verdünnungsstufen über den CSB	17
9.4 Blindwertbestimmung	17
9.5 Bestimmung des gelösten Sauerstoffs	17
9.5.1 Bestimmung durch Messung des gelösten Sauerstoffs mit dem iodometrischen Verfahren (nach ISO 5813)	17
9.6 Kontrolluntersuchung	18
10 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	19
10.1 Überprüfung der Analysenansätze im Hinblick auf einen gültigen Sauerstoffverbrauch während des Tests	19
10.2 Berechnung des biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n)	19
10.3 Einhaltung der Gültigkeitskriterien	20
11 Analysenbericht	20
Anhang A (informativ) Alternative Inkubationszeiten und Temperaturen	21
Anhang B (informativ) Mehrfachbestimmungen	23
Anhang C (informativ) Direkte Beimpfung der Analysenansätze	27
Anhang D (informativ) Verfahrenskennndaten	28
Literaturhinweise	30

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 5815-1:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 5815-1:2017 wurde von CEN als prEN ISO 5815-1:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 147, *Water quality*, Subcommittee SC 5, *Biological methods*.

Diese dritte Ausgabe ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 5815-1:2003), die technisch überarbeitet wurde.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 5815 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Einleitung

Die in diesem Teil von ISO 5815 angegebene Inkubationszeit beträgt 5 Tage. Anhang A beschreibt eine Inkubationszeit von 7 Tagen. Dies entspricht der Praxis in mehreren nordischen Ländern.

WARNUNG — Anwender dieses Dokuments sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen.

WICHTIG — Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach diesem Dokument Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt die Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs in Wässern durch Verdünnung und Impfen mit Nitrifikationshemmung nach 5 d Inkubationsdauer fest.

Es ist für alle Wässer geeignet, deren biochemischer Sauerstoffbedarf in der Regel zwischen 3 mg/l und 6 000 mg/l liegt. Es ist insbesondere für Abwässer anwendbar. Für einen biochemischen Sauerstoffbedarf von mehr als 6 000 mg/l Sauerstoff ist das Verfahren zwar noch anwendbar, aber die Fehler, die durch die dafür notwendigen Verdünnungen hervorgerufen werden, können die Qualität des Testverfahrens beeinflussen. Die Ergebnisse sind daher mit entsprechender Vorsicht zu interpretieren.

Die erzielten Ergebnisse beruhen auf einer Kombination von biochemischen und chemischen Reaktionen unter Beteiligung von lebender Materie, welche sich nur selten reproduzierbar verhält. Die erhaltenen Ergebnisse haben daher keinen exakten und eindeutigen Charakter wie z. B. die eines einzelnen gut definierten chemischen Prozesses, liefern aber dennoch einen Hinweis, der auf die Beschaffenheit von Wässern schließen lässt.

ANMERKUNG Eine Bestimmungsgrenze, wie sie in der Statistik eindeutig definiert ist, lässt sich für dieses Verfahren nicht ermitteln.

Die Untergrenze des Anwendungsbereichs ergibt sich aus den Anforderungen, die in 10.1 („Zehrungsregel“) sowie Tabelle 1 dargelegt werden.

Anhang A beschreibt das Verfahren für eine Inkubationszeit von 7 Tagen.

Anhang B beschreibt Mehrfachbestimmungen, mit deren Hilfe eine höhere Präzision erreicht oder die Anwesenheit von Substanzen angezeigt wird, die gegenüber Mikroorganismen giftig sind.

Anhang C beschreibt eine Beimpfungsmethode, bei der das Beimpfen direkt beim Ansetzen des Analysenansatzes vorgenommen wird.

Anhang D enthält Verfahrenskennndaten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO 5667-3:2012, *Water quality — Preservation and handling of water samples*

ISO 5813, *Water quality — Determination of dissolved oxygen — Iodometric method*

ISO 5814, *Water quality — Determination of dissolved oxygen — Electrochemical probe method*

ISO 6060:1989, *Water quality — Determination of chemical oxygen demand*

ISO 8245:1999, *Water quality — Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC)*

ISO 8467, *Water quality — Determination of permanganate index*

ISO 10523:2008, *Water quality — Determination of pH*

ISO 15705:2002, *Water quality — Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) — Small-scale sealed-tube method*

ISO 17289:2014, *Water quality — Determination of dissolved oxygen — Optical sensor method*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>

— ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

biochemischer Sauerstoffbedarf nach n Tagen

BSB_n

Massenkonzentration an gelöstem Sauerstoff, die unter festgelegten Bedingungen durch die biochemische Oxidation von organischen und/oder anorganischen Stoffen im Wasser verbraucht wird; n ist die Inkubationszeit; entweder 5 d oder 7 d

Anmerkung 1 zum Begriff: Angelehnt an ISO 6107-2:2006 [2].

Anmerkung 2 zum Begriff: Für die Anwendung dieses Teils von ISO 5815 ist „biochemische Oxidation“ gleichbedeutend mit „biologischer Oxidation“.

Anmerkung 3 zum Begriff: n ist entweder 5 Tage oder 7 Tage.

[Quelle: ISO 5815-1:2003, 3.1]

3.2

chemischer Sauerstoffbedarf

CSB

Massenkonzentration an Sauerstoff, die der Menge an Dichromat äquivalent ist, die von in der Wasserprobe enthaltenen gelösten und suspendierten Stoffen verbraucht wird, wenn die Wasserprobe unter den festgelegten Bedingungen behandelt wird

[QUELLE: ISO 6060:1989, 3]

3.3

gesamter organischer Kohlenstoff

TOC

Summe des organisch gebundenen Kohlenstoffs im Wasser, gebunden an gelösten oder suspendierten Stoffen, inklusive den Cyanaten, des elementaren Kohlenstoffs, und den Thiocyanaten

[QUELLE: ISO 8245:1999, 3.3]

3.4

Permanganat-Index (Wasser)

gibt die Massenkonzentration an Sauerstoff an, die der Massenkonzentration an verbrauchten Permanganat-Ionen äquivalent ist, wenn die Wasserprobe unter definierten Bedingungen mit diesem Oxidationsmittel behandelt wird

[QUELLE: ISO 8467:1993, 3.1]

3.5

Impfwasser

Wasser mit angepassten (aeroben) Mikroorganismen, durch die die Oxidation der Wasserinhaltsstoffe erfolgt. Das Impfwasser wird zur Herstellung des beimpften Verdünnungswassers verwendet

3.6

Verdünnungswasser

Sauerstoffgesättigtes und mit Nährsalzen versetztes Wasser, mit dem das beimpfte Verdünnungswasser hergestellt wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Zusammensetzung des Wassers wird im jeweiligen Test vorgegeben.

[QUELLE: ISO 20079:2005 [5], 3.7, ergänzt]

3.7

beimpftes Verdünnungswasser

Verdünnungswasser, dem eine definierte Menge an Impfwasser zugegeben wird

3.8

freies Chlor

Chlor, das als hypochlorige Säure, Hypochlorit-Ion oder als gelöstes elementares Chlor vorliegt

[QUELLE: ISO 7393-1:2000 [3], 2.1]

3.9

gebundenes Chlor

Anteil des gesamten Chlors, der in Form von Chloraminen und organischen Chloraminen vorliegt

[QUELLE: ISO 7393-1:2000 [3], 2.2]

3.10

Nitrifikation

Oxidation von Ammoniumsalzen durch Bakterien, wobei üblicherweise als Zwischenprodukt Nitrit und als Endprodukt Nitrat entsteht

[QUELLE: ISO 11733:2004, 3.9]

4 Grundlage des Verfahrens

Bestimmung des BSB_n , unter Hemmung der Nitrifikation, mithilfe der Verdünnungsmethode. Eine Ansatzreihe mit verschiedenen Verdünnungen der Probe wird hergestellt und untersucht. Wenn genügend Informationen über den Sauerstoffverbrauch der Probe vorliegen, kann im Testansatz nur eine Verdünnung ausreichen, wenn diese Verdünnung die Gültigkeitskriterien erfüllt. Das Verdünnungswasser wird mit gelöstem Sauerstoff angereichert und mit adaptierten aeroben Mikroorganismen beimpft.

Inkubation bei $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ für eine festgelegte Zeit (n), 5 d oder 7 d, im Dunkeln, in einer vollständig gefüllten, Luftblasen freien verschlossenen Flasche. Bestimmung der Konzentration an gelöstem Sauerstoff vor und nach der Inkubation. Berechnung der Masse an verbrauchtem Sauerstoff je Liter Probe.

5 Reagenzien

Nur Reagenzien mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse“ verwenden.

5.1 Wasser, Qualität 3 entsprechend ISO 3696.

Das Wasser darf nicht mehr als 0,01 mg/l Kupfer und kein Chlor oder Chloramine enthalten.

5.2 Impfwasser, kann auf einem der folgenden Wege erhalten werden:

- a) Kommunales Abwasser, dekantiert oder grobfiltriert mit einem CSB von etwa 300 mg/l oder einen TOC von etwa 100 mg/l (siehe 5.5.).

Entspricht der CSB oder TOC nicht dieser Konzentration, dann von dem kommunalen Abwasser ein entsprechend geändertes Volumen für die Beimpfung des Verdünnungswassers (5.4) verwenden.

Die unter b) bis e) genannten Wässer dürfen verwendet werden, wenn die Bedingungen bezüglich CSB bzw. TOC unter a) erreicht werden. Die Volumenzunahme des Verdünnungswasser durch Impfwasser sollte möglichst gering sein und der unter 5.5 genannte Blindwert sollte im Verdünnungswasser erreicht werden.

- b) Oberflächenwasser, das kommunales Abwasser enthält;
- c) abgesetzter Ablauf aus einer Kläranlage;
- d) Wasser, das flussabwärts von der Einleitung des zu analysierenden Wassers entnommen wurde, oder Wasser, das Mikroorganismen enthält, die an das zu untersuchende Wasser angepasst sind;
- e) im Handel erhältliches Impfmateriail.

Wenn die Probe aus einer Behandlung stammt, in der eine Desinfektion vorgenommen wurde (UV, Ozon, oder andere), ein Inokulum verwenden, auch wenn keine Desinfektionsmittelrückstände mehr vorhanden sind.

5.3 Salzlösungen

5.3.1 Allgemeines

Die folgenden Lösungen sind mindestens sechs Monate in Glasflaschen im Dunkeln bei $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ haltbar. Bei den ersten Anzeichen von Niederschlägen oder Trübung durch biologisches Wachstum die Lösungen verwerfen.

5.3.2 Phosphat-Pufferlösung

8,50 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4), 21,75 g Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4), 33,40 g Dinatriumhydrogenphosphat-heptahydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) und 1,70 g Ammoniumchlorid (NH_4Cl), in etwa 500 ml Wasser (5.1) lösen. Mit Wasser (5.1) auf 1 000 ml verdünnen und mischen. Den pH-Wert bestimmen. Liegt der pH-Wert außerhalb des Bereichs von pH 7 bis pH 8, eine neue Lösung herstellen.

5.3.3 Magnesiumsulfat-heptahydrat-Lösung; $\rho = 22,5 \text{ g/l}$.

22,5 g Magnesiumsulfat-heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) in Wasser (5.1) lösen. Mit Wasser (5.1) auf 1 000 ml verdünnen und mischen.

5.3.4 Calciumchlorid-Lösung, $\rho = 27,5$ g/l.

27,5 g wasserfreies Calciumchlorid (CaCl_2) (oder eine äquivalente Menge, wenn das Hydrat verwendet wird [z. B. 36,40 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]) in Wasser (5.1) lösen, mit Wasser (5.1) auf 1 000 ml verdünnen und mischen.

5.3.5 Eisen(III)-chlorid-hexahydrat-Lösung, $\rho = 0,25$ g/l.

0,25 g Eisen(III)-chlorid-hexahydrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), in Wasser (5.1) lösen. Mit Wasser (5.1) auf 1 000 ml verdünnen und mischen.

5.4 Verdünnungswasser.

Das für die jeweils geplanten Untersuchung benötigte Gesamtvolumen an Verdünnungswasser ermitteln. In das Vorlagegefäß für das Verdünnungswasser (6.3) je nach Bedarf etwa die Hälfte des insgesamt benötigten Wassers (5.1) vorlegen und je 1 ml der Salzlösungen (5.3.2, 5.3.3, 5.3.4 und 5.3.5) je Liter hinzugeben. Anschließend mit Wasser (5.1) auf die benötigte Menge auffüllen. Das so erhaltene Verdünnungswasser auf eine Temperatur von (20 ± 1) °C bringen, bei dieser Temperatur halten und zur Durchmischung schwach belüften. Wenn speziell adaptiertes Impfwasser oder Impfmateriel benötigt wird, kann nach Anhang C verfahren werden.

BEISPIEL Bei einem Bedarf von 20 l Verdünnungswasser 10 l Wasser (5.1) vorlegen. Unter ständigem Rühren je 20 ml der Salzlösungen einzeln hinzugeben anschließend und mit Wasser (5.1) auf 20 l auffüllen.

5.5 Beimpftes Verdünnungswasser

Dieser Abschnitt gilt nicht in Verbindung mit der in Anhang C beschriebenen Vorgehensweise und automatischen Systemen.

Wenn Probe aus einem Prozess stammt, bei dem eine Desinfektion vorgenommen wurde (z. B. Chlorung, UV, Ozonierung oder andere), ebenfalls geeignetes Impfmateriel (5.2) verwenden, auch wenn keine Desinfektionsrückstände mehr vorhanden sind.

Die Sauerstoffzehrung des beimpften Verdünnungswassers bei (20 ± 1) °C über $n = 5$ Tage, die den Blindwert (siehe 9.4) darstellt, muss zwischen 0,3 mg/l und 1,5 mg/l liegen.

Die Menge des Impfwassers kann so berechnet werden, dass ein theoretischer CSB von 0,6 mg/l bis 3,0 mg/l, entsprechend der angestrebten Sauerstoffzehrung von 0,3 mg/l bis 1,5 mg/l mit Nitrifikationshemmung durch Zugabe von ATH in den Blindwerten erreicht werden kann, siehe Gleichung (1):

$$V_{\text{Impfwasser}} = \frac{\text{CSB}_{\text{Soll}} \cdot V_{\text{Verdünnungswasser}}}{\text{CSB}_{\text{Impfwasser}}} \quad (1)$$

Dabei ist

$V_{\text{Impfwasser}}$	das Volumen des zuzusetzenden Impfwassers (5.2) zum Verdünnungswasser (5.4) in Liter, (l);
CSB_{Soll}	der theoretische CSB (0,6 mg/l O_2 bis 3 mg/l O_2) im beimpften Verdünnungswasser (5.5) in Milligramm je Liter Sauerstoff, (mg/l O_2);
$\text{CSB}_{\text{Impfwasser}}$	der CSB des Impfwassers (5.2) in Milligramm je Liter Sauerstoff (mg/l O_2);
$V_{\text{Verdünnungswasser}}$	das Volumen des zu beimpfenden Verdünnungswassers (5.4) in Liter (l).

Wenn der CSB oder TOC des kommunalen Abwassers [5.2 a)], das als Impfwasser verwendet wird, von 300 mg/l CSB oder 100 mg/l TOC abweicht, ein entsprechend größeres oder kleineres Volumen hinzugeben. Das Impfwasser (5.2) zum Verdünnungswasser (5.1) geben und mittels Rühren oder Schütteln mischen. Den Sauerstoffgehalt nach ISO 5813, ISO 17289 oder ISO 5814 bestimmen. Das so erhaltene beimpfte Verdünnungswasser vorzugsweise bis zu einem Sauerstoffgehalt von mindestens 8 mg/l belüften. Eine Sauerstoffübersättigung muss vermieden werden: das Wasser vor der Verwendung für ungefähr 1 h in einem offenen Gefäß stehen lassen. Das beimpfte Verdünnungswasser bei $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ aufbewahren. Das fertig gestellte beimpfte Verdünnungswasser ist für Analysenansätze sofort verwendbar.

Die Reste des Verdünnungswassers sind am Ende des Arbeitstages zu verwerfen, es sei denn, die Erfahrungen des Anwenders zeigen über die eingehaltenen Qualitätssicherungsmaßnahmen (9.6) mit dem Kontrollstandard (5.9) und die Blindwertbestimmungen (9.4), dass das Wasser über einen längeren Zeitraum verwendbar ist.

5.6 Salzsäure (HCl) oder **Schwefelsäure** (H_2SO_4), z. B. $c(\text{HCl}) \approx 0,5 \text{ mol/l}$ oder $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 0,25 \text{ mol/l}$.

5.7 Natriumhydroxid-Lösung (NaOH), z. B. $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$ $\rho \approx 20 \text{ g/l}$.

5.8 Natriumsulfit-Lösung (Na_2SO_3), z. B. $\rho(\text{Na}_2\text{SO}_3) = 50 \text{ g/l}$.

5.9 Glucose-Glutaminsäure (GGS), Standardlösung.

Wasserfreie D-Glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) und L-Glutaminsäure ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$) bei $(105 \pm 5)^\circ\text{C}$ 1 h trocknen. $(150 \pm 1) \text{ mg}$ von jeder Substanz einwiegen, in Wasser (5.1) lösen, mit Wasser auf 1 000 ml verdünnen und mischen. Der theoretische Sauerstoffbedarf dieser Lösung beträgt 307 mg/l Sauerstoff (der empirische BSB₅ beträgt $(198 \pm 40) \text{ mg/l}$ Sauerstoff und der BSB₇ $(225 \pm 40) \text{ mg/l}$ Sauerstoff).

Die Lösung unmittelbar vor Gebrauch herstellen und Reste davon am Ende des Arbeitstages verwerfen. Die Lösung kann auch in kleinen Portionen eingefroren werden. Die Lösung kann tiefgefroren höchstens 3 Monate aufbewahrt werden. Die aufgetaute Lösung muss unmittelbar nach dem Auftauen verwendet werden.

5.10 Allylthioharnstoff (ATH)- Lösung, $\rho = 1,0 \text{ g/l}$.

200 mg Allylthioharnstoff ($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$) in Wasser (5.1) lösen, mit Wasser (5.1) auf 200 ml verdünnen und mischen. Die Lösung bei $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ aufbewahren. Die Lösung ist mindestens zwei Wochen haltbar.

WARNUNG — Das Reagenz ist toxisch und muss deshalb nach dem Sicherheitsdatenblatt gehandhabt werden.

Nicht in allen Fällen wird durch die Zugabe von 2 ml ATH-Lösung ($\rho = 1,0 \text{ g/l}$) je Liter Testansatz eine Nitrifikationshemmung erreicht. Die Zugabe eines deutlich größeren Volumens als 2 ml dieser ATH-Lösung kann die Titration nach ISO 5813 (siehe 9.5.1) stören.

6 Geräte

Übliche Laborgeräte und zusätzlich:

6.1 Allgemeines

Kunststoff- und Glasgefäße müssen sorgfältig gereinigt und insbesondere frei von adsorbierten giftigen und biologisch abbaubaren Verbindungen sein und müssen vor Verunreinigung geschützt werden.

6.2 Inkubationsflaschen, BSB-Flaschen (Karlsruher Art) oder Steilbrustflaschen mit Stopfen mit einem Inhalt zwischen 100 ml und 300 ml und geeignetem Trichter, oder andere geeignete, luftblasenfrei verschließbare Flaschen.

6.3 Vorlagegefäß für das beimpfte und nicht beimpfte Verdünnungswasser, aus Glas oder Kunststoff.

Dafür sorgen, dass die Gefäße immer sauber, frei von Mikroorganismenbewuchs und vor Lichteinfall geschützt sind.

6.4 Temperierbarer Schrank, Raum oder Inkubator, auf $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ thermostatisierbar und abdunkelbar.

6.5 Geräte zur Bestimmung des gelösten Sauerstoffs, nach ISO 5813 (iodometrisches Verfahren) oder ISO 5814 (elektrochemisches Verfahren) oder ISO 17289 (optisches Sensorverfahren) mit optischer Sauerstoffmessung.

6.6 Kühl- und Gefriervorrichtung, für Transport und Lagerung der Proben. Für eine Probenlagerung bis zu 24 h bei $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ kühlen. Bei einer Probenlagerung von über 24 h bis zu sechs Monaten die Proben in einer Gefriervorrichtung bei $\leq -18^\circ\text{C}$ lagern.

6.7 Verdünnungsgefäß, Mischbehälter vorzugsweise aus Glas, z. B. Kolben oder graduierter Messzylinder, mit ausreichendem Volumen für den Verdünnungsansatz und der Möglichkeit einer guten Durchmischung.

6.8 Belüftungseinrichtung, Pressluftstahlflasche oder Kompressor. Die Luft muss so beschaffen sein, dass die Belüftung nicht zu Verunreinigungen führt, insbesondere durch organische Stoffe, oxidierende oder reduzierende Substanzen oder Metalle. Wird eine Kontamination befürchtet, muss die Luft filtriert und gewaschen werden.

6.9 pH-Messgerät, das die Anforderungen für die Bestimmung des pH-Werts nach ISO 10523 erfüllt.

6.10 Rührer, so betreiben, dass die Probe zur Entnahme von Teilproben homogen ist und keine Luft eingetragen wird.

6.11 Glasfaserfilter GF 6.

7 Probenahme und Konservierung

Für die Probenahme eignen sich verschließbare Gefäße aus Glas oder Kunststoff. Das Volumen sollte groß genug sein, um eine hinreichende Verdünnungsreihe daraus herzustellen. Die Probenahmegefäße füllen und luftblasenfrei verschließen. Bis zur Bearbeitung nach spätestens 24 h die Proben zur Verhinderung von Algenwachstum dunkel und kühl $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ lagern.

Bei einer längeren Lagerung als 24 h, die Proben bei $\leq -18^\circ\text{C}$ bis zu einem Monat, oder bis zu 6 Monaten, wenn der BSB $> 50\text{ mg/l}$ liegt, in einem geeigneten Gefäß dunkel oder in dunklen Flaschen (ISO 5667-3) lagern. Sicherstellen, dass die Flaschen keine überhöhten Blindwerte verursachen (9.6). Die Proben so schnell wie möglich nach der Probenahme einfrieren. Da vollständig befüllte Gefäße transportiert werden, erfolgt die Verringerung des Volumens auf ein Volumen, das eine Ausdehnung durch das Einfrieren ohne Zerschlagen des Gefäßes ermöglicht, im Labor nach Homogenisierung der Probe.

Die Probe bei $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ auftauen, jedoch nicht länger als 16 h, da sonst die einsetzenden bakteriellen Prozesse das Ergebnis verfälschen können. Es empfiehlt sich daher, dass die Probe in Portionen von nicht mehr als einem Liter einzufrieren. Ein vollständiges Auftauen der Probe ist erforderlich, da durch das Einfrieren Konzentrationsprozesse im Kern der Probe, der zuletzt gefriert, auftreten können. Das Auftauen der Proben durch Erhitzung jeglicher Art ist nicht erlaubt und führt zu falschen Ergebnissen. Eine einmal aufgetaute Probe darf nicht noch einmal eingefroren werden.

8 Störungen

Substanzen, die gegenüber Mikroorganismen giftig sind, z. B. Bakterizide, freies Chlor hemmen die biochemische Oxidation und führen zu Minderbefunden. Durch die Anwesenheit von nitrifizierenden Mikroorganismen können erhöhte Ergebnisse auftreten. Die Anwesenheit von Algen kann zu einer Überschätzung des BSB führen und die Bestimmung stören.

8.1 Anwesenheit von freiem und/oder gebundenem Chlor

Freies und/oder gebundenes Chlor durch Zusatz des erforderlichen Volumens an Natriumsulfit-Lösung (5.8) entfernen. Überschuss vermeiden: Die Bestimmung des freien und gebundenen Chlor nach ISO 7393-1 [3] oder ISO 7393-2 [4] durchführen und nach Gleichung (2) die Menge Natriumsulfit berechnen.

$$V_1 = \frac{1,78 \times V_p \times \rho_2}{\rho_3} \quad (2)$$

Dabei ist

- V_1 das Volumen der Natriumsulfit-Lösung (5.8) in Milliliter (ml);
- V_p das zu behandelnde Probenvolumen in Milliliter (ml);
- ρ_2 das gemessene freie Chlor in der Probe in Gramm je Liter (g/l);
- ρ_3 die Konzentration der Natriumsulfit-Lösung in Gramm je Liter (g/l).

8.2 Anwesenheit von Algen

Bei algenhaltigen Proben eine Filtration nach der Probenahme vor Ort oder sofort nach Ankunft im Labor erwägen, um Überbefunde zu vermeiden. Glasfaserfilter (6.11) verwenden. Durch das Filtrieren können sich die BSB-Werte drastisch ändern. Deshalb nur filtrieren, wenn dies zur Beurteilung der Wasserbeschaffenheit notwendig erscheint oder die Bestimmung aus einer algenfreien Probe verlangt wird. Die Filtration muss im Analysenbericht angegeben werden (siehe Abschnitt 11).

8.3 Anwesenheit von Peroxiden und Peroxidverbindungen

ANMERKUNG Peroxide und Peroxidverbindungen können u. a. in Abwässern der Chipindustrie oder Großwäschereien gefunden werden.

Peroxide und Peroxidverbindungen erzeugen Minderbefunde, deshalb sind Peroxide aus den zu untersuchenden Proben zu eliminieren.

Bei Verdacht auf Peroxide kann nach folgenden Methoden ein Nachweis erfolgen:

- Überprüfung mit Iodidstärke-Papier. Iodid und stärkehaltiges Filterpapier wird bei Anwesenheit von Peroxid blau gefärbt, es reagiert aber auch mit freiem Chlor. Im Handel sind für diese Methode Peroxid-Teststäbchen erhältlich.
- Überprüfung mittels Sauerstoffmessung (9.5.2). Eine Übersättigung mit gelöstem Sauerstoff in der Probe kann ein Hinweis auf Peroxide und Peroxidverbindungen sein.

Wurden Peroxide nachgewiesen, können sie mit verschiedenen Methoden zerstört werden:

- Durch starkes Schütteln oder Rühren der Probe in einem offenen Gefäß können Peroxide ausgetrieben werden. Von Zeit zu Zeit, höchstens jedoch über einen Zeitraum von 2 h, ist mit Peroxid-Teststäbchen die Anwesenheit von Peroxiden zu prüfen. Das Austreiben der Peroxide ist dann beendet, wenn die gelöste Sauerstoffkonzentration innerhalb 30 min nicht mehr ansteigt oder die Teststäbchen keine Peroxide mehr anzeigen.

- Einige Peroxidverbindungen lassen sich nicht mit diesen Methoden eliminieren. Dann können die Peroxidverbindungen mit einer Natriumsulfit-Lösung (5.8) zerstört werden. Peroxide und Peroxidverbindungen durch Zusatz des erforderlichen Volumens an Natriumsulfit-Lösung (5.8) in einer Teilprobe entfernen. Ein Überschuss ist zu vermeiden und mittels Bestimmung der spontanen Sauerstoffzehrung zu prüfen. Die Prüfung auf vollständige Zerstörung kann auch mit Peroxidteststäbchen erfolgen. Auf Grundlage dieser Bestimmung das Volumen der Natriumsulfit-Lösung berechnen, dass für das im Test einzusetzende Probenvolumen benötigt wird. Das entsprechende Volumen der Teilprobe, die für die BSB-Bestimmung vorgesehen ist, äquivalent zugeben.

Es ist zu beachten, dass durch die Behandlung der Probe, diese verändert werden kann, daher ist die Probenbehandlung zur Elimination von Peroxiden im Testbericht zu dokumentieren.

9 Durchführung

Besteht der Verdacht auf Vorhandensein von Substanzen, die für Mikroorganismen giftig sind, sollten mehrere unterschiedliche Verdünnungen der Probe nach Anhang B angesetzt werden.

Die Anzahl der anzusetzenden Flaschen hängt von dem ausgewählten Verfahren zur Bestimmung des Sauerstoffgehalts und der Anzahl der gewünschten Replikate ab.

Das Verfahren mit direkter Beimpfung der Analysenansätze ist in Anhang C beschrieben.

9.1 Vorbehandlung

Die Probenvorbehandlung wird mit frischen oder tiefgekühlten Proben nach vollständigem Auftauen der Probe durchgeführt.

9.1.1 Neutralisation der Probe

Die Probe mit Salzsäure (5.6) bzw. Natriumhydroxid-Lösung (5.7) neutralisieren, falls der pH-Wert nicht zwischen 6 und 8 liegt. Die Konzentration von Salzsäure (5.6) oder Natriumhydroxid-Lösung (5.7) so wählen, dass das zuzufügende Volumen nicht mehr als 5 % des Gesamtvolumens beträgt. Etwaige Niederschläge, die dabei entstehen, sind im Probenprotokoll festzuhalten.

ANMERKUNG Wenn die Gesamtprobe die Anforderung an den pH-Wert erfüllt, wird auch jede daraus hergestellte Verdünnung die Anforderung erfüllen.

9.1.2 Homogenisierung

Zur Herstellung von Teilproben die frische oder aufgetaute Probe vor der Probenaufteilung kräftig durchmischen. Eine gleichmäßige Verteilung aller gelösten und ungelösten Inhaltsstoffe sollte sichergestellt werden (z. B. durch Rühren oder starkes Schütteln). Wenn die Probe größere Partikel enthält, die die Entnahme einer aliquoten Teilprobe stören, wird eine Homogenisierung durch Zerkleinern der Partikel, z. B. mit einem Dispergiergerät empfohlen.

9.2 Herstellung der Analysenansätze

Die Probe (oder die vorbehandelte Probe) auf eine Temperatur von $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ bringen und mit einem Rührer ohne Lufteintrag homogenisieren, bis alle Analysenansätze hergestellt sind.

Den Test mit mindestens 2 Replikaten je Verdünnungsstufe durchführen.

Das für den Analysenansatz mit mindestens 3 Verdünnungsstufen benötigte Volumen unter Berücksichtigung von 9.3 zur Auswahl der Verdünnungsstufen ermitteln. Bei Anwendung des iodometrischen Verfahrens (9.5.1) wird eine zweite Serie von Flaschen benötigt.

Ein definiertes Volumen der Probe (oder der vorbehandelten Probe) in die Verdünnungsgefäße (6.7) geben, je Liter Ansatzvolumen 2 ml Allylthioharnstoff-Lösung (5.10), zusetzen und mit beimpften Verdünnungswasser (5.5) bis zur Marke auffüllen. Bei einem Verdünnungsfaktor > 100 eine serielle Verdünnung in zwei oder mehreren Schritten durchführen. Bei Verwendung automatischer Analysensysteme wird ein definiertes Volumen der Probe (oder der vorbehandelten Probe) in die Inkubationsflasche geben. Die Zugabe von 2 ml Allylthioharnstoff-Lösung (5.10) je Liter Ansatz und des Verdünnungswassers (5.4) erfolgt vollautomatisch durch das System.

ANMERKUNG 1 Für die Verwendung automatischer Systeme ist es wichtig, Inkubationsflaschen mit einem definierten Volumen zu verwenden, da die Inkubationsflaschen als Verdünnungsgefäße dienen.

9.3 Berechnung von Verdünnungen

9.3.1 Empirische Bestimmung von Verdünnungen

Da der richtige Verdünnungsgrad einer Probe, der zu einem bestimmbaren BSB_n in mindestens einer Verdünnung führt, nicht genau zu erreichen ist, wird empfohlen, mehrere unterschiedliche Verdünnungen anzusetzen. Der Verdünnungsfaktor ist der reziproke Wert von Probenvolumen zu Gesamtvolumen des Testansatzes. Die Verdünnungsreihen werden in einer arithmetischen Reihe angesetzt, die die Verdünnung einschließt, die dem erwarteten BSB_n entspricht (siehe Tabelle 1 und Anhang B). 9.3.2 und 9.3.3 beschreiben verschiedene Möglichkeiten zur Ermittlung von Verdünnungsfaktoren und Verdünnungsreihen. Wenn genügend Informationen zum Sauerstoffbedarf einer Probe vorliegen (z. B. bei bekannter, wiederholbarer, stabiler Zusammensetzung der zu untersuchenden Proben) ist auch die Untersuchung nur einer Verdünnung zulässig, sofern die Testergebnisse für diese Verdünnung die Validitätskriterien (10.1) erfüllen. Besteht der Verdacht, dass die Probe giftige Substanzen enthält (z. B. starker chemischer Geruch), müssen mehrere unterschiedliche Verdünnungen der Probe angesetzt werden. Der Ansatz von Verdünnungen über einen größeren Konzentrationsbereich wird dann empfohlen.

Tabelle 1 — Beispiel für eine typische Verdünnungsreihe (jeweils 3 Verdünnungsstufen) zur Bestimmung des BSB_5

erwarteter BSB_n <i>n</i> = 5 d Sauerstoff mg/l	Mögliches Probenvolumen je Liter Testansatz ml/l	Verdünnungsfaktor^a	Mögliches Probenvolumen je Liter Testansatz ml/l	Verdünnungsfaktor^a
3 bis 6	250, 500, 750 ^b	4 bis 1,33	oder 200, 400, 600	5 bis 1,67
4 bis 12	200, 400, 600 ^b	5 bis 1,67	oder 200, 300, 400	5 bis 2,5
10 bis 30	200, 400, 600	5 bis 1,67	oder 50, 100, 150	20 bis 6,67
20 bis 60	100, 200, 300	10 bis 3,33	oder 40, 60, 80	25 bis 12,5
40 bis 120	40, 80, 120	25 bis 8,33	oder 20, 30, 40	50 bis 25
100 bis 300	30, 40, 50	33,3 bis 20	oder 5, 10, 15	200 bis 66,7
200 bis 600	10, 20, 30	100 bis 33,3	oder 3, 6, 9	333,3 bis 111,1
400 bis 1 200	4, 8, 12	250 bis 83,3	oder 1, 2, 3	1 000 bis 333,3
1 000 bis 3 000	2, 4, 6 ^c	500 bis 166,7	oder 0,5; 1,0; 1,5 ^c	2 000 bis 666,7
2 000 bis 6 000	1, 2, 3 ^c	1 000 bis 333,3	oder 0,3; 0,6; 0,9 ^c	3 333 bis 1 111,1
^a eingesetztes Probenvolumen im Verhältnis zum Gesamtvolumen des Analysenansatzes ^b Empfehlung für Proben aus Klärwerksabläufen mit guter biologischer Reinigung ^c Hierzu vorzugsweise Vorverdünnungen von zum Beispiel 1 : 10 ansetzen. (Angaben inklusive Vorverdünnung).				