

REF 985 822

# Test 8-22 09.13

## NANOCOLOR® BOD<sub>5</sub>

it

**Metodo:**

Test in cuvette rotonde per la determinazione del consumo di ossigeno biochimico dopo 5 giorni (BOD<sub>5</sub>) secondo il cosiddetto principio di diluizione (DIN EN 1899-1-H51). L'incubazione delle prove avviene in ampole di ossigeno Winkler. La determinazione di ossigeno disciolto al giorno 0 e dopo 5 giorni avviene sulla base del procedimento Winkler DIN EN 25813-G21, tramite valutazione fotometrica del colore di iodio.

Campo di misura:	2-3000 mg/L O <sub>2</sub>	
Fattore:	007.0	007.6
Lunghezza d'onda misurata (onda H = 5-12 nm):	436 nm	445 nm
Tempo di reazione:	5 giorni	
Temperatura di reazione:	20 ± 1 °C	

**Contenuto set di reagenti:**

3 cuvette rotonde vuote  
15 mL BOD<sub>5</sub> R1  
15 mL BOD<sub>5</sub> R2  
30 mL BOD<sub>5</sub> R3

**Avvertenze di pericolo:**

Il reagente R1 contiene manganese(II) cloruro 25-83%, il reagente R2 contiene sodio idrossido soluzione 20-55%, il reagente R3 contiene acido solforico 51-80%.  
H314 Provoca ustioni della pelle e gravi lesioni oculari.  
P260, P280, P301+330+331, P303+361+353, P304+340, P305+351+338 Non respirare i vapori. Indossare guanti / Proteggere gli occhi. IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle / fare una doccia. IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Per ulteriori informazioni potete richiedere una scheda informativa in materia di sicurezza.

**Interferenze:**

Alterazioni del valore pH, accumuli di particolari prodotti metabolizzanti microbici nonché di sostanze tossiche per i microorganismi (per es. micotossine, cloro libero, determinati metalli pesanti) possono portare ad una riduzione della trasformazione del substrato e quindi ad una diminuzione del BOD<sub>5</sub>. Sali di ferro(II), anidride solforosa e idrogeno solforoso consumano ossigeno e falsificano quindi i risultati di misurazione del BOD<sub>5</sub>. È possibile che si ottengano valori elevati per la presenza di alghe o microorganismi nitrificanti.

**Preparazione della prova:**

La prova deve essere dapprima portata a temperatura ambiente. Dopodiché si controlla il pH, il cui valore dovrebbe essere compreso tra 6 e 8 e deve essere corretto ove necessario. In caso di sedimentazioni si dovrebbe provvedere ad una buona omogeneizzazione o filtrazione della prova (CHROMAFIL® filtro, REF 916 511). Nel caso di provette contenenti alghe considerare la possibilità di effettuare una filtrazione per evitare risultati troppo elevati. In presenza di cloro libero e/o legato si deve provvedere ad eliminarlo con un'adeguata quantità di solfito di sodio.

*Nota: Immediatamente dopo il prelievo conservare la prova fino all'esecuzione dell'analisi in una bottiglia riempita fino all'orlo e chiusa ermeticamente a una temperatura compresa fra 0-4 °C. Iniziare la determinazione BOD<sub>5</sub> prima possibile o comunque entro 24 ore dal termine del prelievo. Le prove possono anche essere congelate per essere conservate più a lungo. Dopo lo scongelamento omogeneizzare i prove congelate ed utilizzare sempre ed esclusivamente Soluzione di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> inoculata (vedi Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub>, REF 918 994, e Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> PLUS, REF 918 995).*

**Acqua di diluizione, Soluzione di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> ed acqua di inoculazione:**

La produzione e la manipolazione dell'acqua di diluizione sono descritte dettagliatamente nel Set Accessorio BOD<sub>5</sub> (REF 916 918). Per informazioni sull'impiego e sull'uso delle Soluzioni di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> e dell'acqua di inoculazione fare riferimento alle istruzioni per l'uso dei set dei reattivi della Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> (REF 918 994) oppure della Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> PLUS (REF 918 995). La preghiamo di osservare le istruzioni ivi indicate.

**Procedimento della determinazione BOD<sub>5</sub>:**

**Accessori necessari:** Set Accessorio BOD<sub>5</sub> (REF 916 918), Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> (REF 918 994) oppure Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> PLUS (REF 918 995), cilindro di misurazione (volume nominale 100 mL e 500 mL), pipette a stantuffo a punta, dispositivo di incubazione con regolazione della temperatura su 20 ± 1 °C (per es. bagnomaria oppure armadio regolatore di temperatura), oppure in alternativa una stanza buia con temperatura ambiente di circa 20 °C

**1° fase: Preparato di controllo (consumo proprio dell'acqua di diluizione)**

Versare in un pallone da laboratorio da 1 L (Set Accessorio BOD<sub>5</sub>, REF 916 918)

**500 mL di acqua di diluizione ventilata e 2,5 mL di soluzione di sale nutritivo** (1,25 mL R1 + 1,25 mL R2 provenienti dal set dei reattivi della Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub>, REF 918 994, oppure della Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> PLUS, REF 918 995), chiudere il recipiente e, per arricchire di ossigeno, mescolare scuotendo energicamente per un breve intervallo di tempo (**Controllo**).

**Aprire**

1 ampolla di ossigeno Winkler e  
1 cuvetta rotonda, sciacquare con alcuni millilitri del preparato di controllo e rabboccare fino al colmo senza permettere che si formino bolle d'aria.

Chiudere l'ampolla di ossigeno Winkler **evitando** la formazione di **bolle d'aria** premendo lentamente l'otturatore di vetro smussato, e lasciare in incubazione per 5 giorni a bagnomaria oppure nell'armadio regolatore di temperatura al buio ad una temperatura di **20 ± 1 °C**.

Chiudere la cuvetta rotonda **evitando** la formazione di **bolle d'aria** ed eseguire immediatamente una misurazione dell'ossigeno secondo la **3ª fase**.

**2ª fase: Preparato della prova**

A seconda del prevedibile BOD<sub>5</sub> di una prova si immette in un pallone da laboratorio da 1 L (Set Accessorio BOD<sub>5</sub>, REF 916 918) la diluizione più idonea indicata nella seguente tabella. Per garantire un'affidabile determinazione in caso di insufficiente esperienza nella valutazione del BOD<sub>5</sub> sarà opportuno preparare almeno due o tre differenti diluizioni di una prova. Per una maggiore affidabilità dei risultati si consiglia di eseguire **doppie determinazioni**.

BOD <sub>5</sub> prevedibile [mg/L O <sub>2</sub> ]	Diluizione	Esempi per acque tipiche	Prova [mL]	Acqua di diluizione ventilata [mL]	Soluzione di Sale Nutritivo* [mL]	
					R1	R2
< 5	-	C	500	0	1,25	1,25
4-12	1 + 1	C, B	250	250	1,25	1,25
10-30	1 + 4	C, B	100	400	1,25	1,25
20-60	1 + 9	B	50	450	1,25	1,25
40-120	1 + 19	U	25	475	1,25	1,25
100-300	1 + 49	U, N	10	490	1,25	1,25
200-600	1 + 99	U, N	5	495	1,25	1,25
400-1200	1 + 199	N, 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

\* Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub>, REF 918 994, oppure della Miscela di Sale Nutritivo BOD<sub>5</sub> PLUS, REF 918 995

C: acqua corrente

N: acqua di scarico urbana non trattata

B: acqua di scarico urbana depurata biologicamente

I: acqua industriale di scarico fortemente inquinata

U: acqua di scarico urbana chiarificata o acqua di scarico industriale leggermente inquinata

Chiudere il pallone da laboratorio dopo la preparazione del preparato di prova sulla base della tabella precedente e, per arricchire di ossigeno, mescolare scuotendo energicamente per un breve intervallo di tempo.

**Aprire**

1 ampolla di ossigeno Winkler e

1 cuvetta rotonda, sciacquare con alcuni millilitri del preparato di prova e rabboccare fino al colmo senza permettere che si formino bolle d'aria.

Chiudere l'ampolla di ossigeno Winkler **evitando** la formazione di **bolle d'aria** premendo lentamente l'otturatore di vetro smussato, e lasciare in incubazione per **5 giorni** a bagnomaria oppure nell'armadio regolatore di temperatura al buio ad una temperatura di **20 ± 1 °C**.

Chiudere la cuvetta rotonda **evitando** la formazione di **bolle d'aria** ed eseguire immediatamente una misurazione dell'ossigeno secondo la **3ª fase**.

**Procedere allo stesso modo per tutte le altre diluizioni di prove e per tutti gli altri prove.**

*Avvertenza: Il pallone da laboratorio da 1 L contenuto nel Set Accessori BOD<sub>5</sub> può essere utilizzato per la preparazione di tutti delle prove da verificare (preparato di controllo, preparati delle prove). Deve però essere pulito a fondo con acqua corrente prima e dopo la preparazione di ogni nuovo preparato.*

**3ª fase: Misurazione dell'ossigeno****Note preliminari:**

Le cuvette rotonde contenute nella confezione BOD<sub>5</sub> possono essere svuotate nello scarico dopo l'uso, e quindi essere riutilizzate per una nuova misurazione dell'ossigeno nell'ambito della determinazione di BOD<sub>5</sub> dopo essere state lavate accuratamente sotto acqua corrente. Se necessario, è possibile acquistare cuvette vuote supplementari con REF 916 80 dalla MACHEREY-NAGEL.

**Misurazione dell'ossigeno il giorno 0:** Procedere immediatamente con la determinazione dell'ossigeno il **giorno 0** per le cuvette rotonde già riempite prima dell'inizio del test.

**Misurazione dell'ossigeno il giorno 5:** Per la determinazione del tenore di ossigeno **dopo 5 giorni** nelle ampole con la soluzione Winkler, occorre innanzitutto riempire fino a tracimare una cuvetta rotonda vuota (nel caso di determinazione in duplicato due cuvette rotonde vuote) per contenitore con l'acqua da testare (preparati di controllo e della prova) e richiuderla evitando la formazione di bolle d'aria. Quindi proseguire, eseguendo le istruzioni indicate al punto "Procedimento".

**Procedimento:**

Aprire la cuvetta rotonda riempita con il preparato di controllo o con il preparato di prova. Aggiungere **2 gocce BOD<sub>5</sub> R1**, **2 gocce BOD<sub>5</sub> R2**, chiudere **senza** far formare **bolle d'aria** e agitare per amalgamare. Attendere **2 min**.

Aprire la cuvetta rotonda, aggiungere **5 gocce BOD<sub>5</sub> R3**, chiudere **senza** far formare **bolle d'aria** e agitare finché il deposito si è sciolto. Pulire esternamente la cuvetta e misurare.

**Misura:**

Con i fotometri NANOCOLOR® e PF-11 / PF-12 vedere il manuale, test 8-22.

**Fotometri di altri produttori:**

Con gli altri fotometri controllare se è possibile misurare cuvette rotonde. Controllare il fattore per ciascun tipo di apparecchio utilizzando soluzioni standard.

**4ª fase: Valutazione****Avvertenze importanti:**

Vengono valutati solamente quei prove per i quali il contenuto residuo di ossigeno dopo 5 giorni di incubazione ammonta ancora almeno a 2 mg/L O<sub>2</sub> e per i quali quindi il consumo stesso è compreso tra 2 e 6 mg/L O<sub>2</sub>.

**Consumo di ossigeno dell'acqua di diluizione OC (controllo):**

$O_c = O_{c0} - O_{c5}$        $O_{c0}$  = Contenuto di ossigeno del preparato di controllo all'inizio del test (giorno 0)  
 $O_{c5}$  = Contenuto di ossigeno del preparato di controllo al termine del test (giorno 5)

**Consumo di ossigeno della prova OP (preparato della prova):**

$O_p = O_{p0} - O_{p5}$        $O_{p0}$  = Contenuto di ossigeno del preparato di prova all'inizio del test (giorno 0)  
 $O_{p5}$  = Contenuto di ossigeno del preparato di prova al termine del test (giorno 5)

**Calcolo del BOD<sub>5</sub>:**

$BOD_5 = D \times (O_p - O_c) + O_c$       D = Valore reciproco della diluizione di prova

(per esempio: 1+199 ---> D = 200)

**Dati dei risultati:**

Il BOD<sub>5</sub> viene espresso in mg/L O<sub>2</sub> e indicato come segue:

< 10 mg/L O<sub>2</sub>      arrotondato a mg/L (p.es. 6,7 mg/L O<sub>2</sub> arrotondati a 7 mg/L O<sub>2</sub>)  
10-1000 mg/L O<sub>2</sub>      indicazione con due posizioni (p.es. 314 mg/L O<sub>2</sub> vengono indicati come 310 mg/L O<sub>2</sub>)  
> 1000 mg/L O<sub>2</sub>      indicazione con tre posizioni (p.es. 1.578 mg/L O<sub>2</sub> vengono indicati come 1.580 mg/L O<sub>2</sub>)

**Assicurazione della qualità analitica:**

NANOCONTROL BOD<sub>5</sub> (REF 925 82)

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Neumann-Neander-Str. 6-8 · 52355 Düren · Germania

Tel.: +49 24 21 969-0 · Fax: +49 24 21 969-199 · info@mn-net.com · [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)

PD 14123 / A012749 / 985 822 / 0930.3

Contrassegno prova: \_\_\_\_\_ Data analisi: \_\_\_\_\_

 COD [mg/L O<sub>2</sub>]: \_\_\_\_\_ Valore pH: \_\_\_\_\_

 Fosfato totale [mg/L P]: \_\_\_\_\_ Ammonio-N [mg/L NH<sub>4</sub>-N]: \_\_\_\_\_

 Nitrito-N [mg/L NO<sub>2</sub>-N]: \_\_\_\_\_ Nitrato-N [mg/L NO<sub>3</sub>-N]: \_\_\_\_\_

## Risultati della determinazione BOD<sub>5</sub>:

 Data preparazione BOD<sub>5</sub> (giorno 0): \_\_\_\_\_ Data valutazione BOD<sub>5</sub> (giorno 5) \_\_\_\_\_

<b>Controllo:</b>	<b>O<sub>C0</sub></b> [mg/L O <sub>2</sub> ]	<b>O<sub>C5</sub></b> [mg/L O <sub>2</sub> ]	<b>O<sub>C</sub> [mg/L O<sub>2</sub>]</b> = (O <sub>C0</sub> - O <sub>C5</sub> )

<b>Preparato della prova:</b>	<b>Diluizione della prova D</b>	<b>O<sub>P0</sub></b> [mg/L O <sub>2</sub> ]	<b>O<sub>P5</sub></b> [mg/L O <sub>2</sub> ]	<b>O<sub>P</sub> [mg/L O<sub>2</sub>]</b> = (O <sub>P0</sub> - O <sub>P5</sub> )	<b>BOD<sub>5</sub> [mg/L O<sub>2</sub>]</b> = [D x (O <sub>P</sub> - O <sub>C</sub> ) + O <sub>C</sub> ]

 Ø DBO<sub>5</sub> [mg/L O<sub>2</sub>] : \_\_\_\_\_

O<sub>C</sub> = Consumo di ossigeno del preparato di controllo dopo 5 giorni  
 O<sub>C0</sub> = Contenuto di ossigeno del preparato di controllo all'inizio del test (giorno 0)  
 O<sub>C5</sub> = Contenuto di ossigeno del preparato di controllo al termine del test (giorno 5)  
 D = Valore reciproco della diluizione di prova (per esempio 1 + 199 --> V = 200)

O<sub>P</sub> = Consumo di ossigeno del preparato di prova dopo 5 giorni  
 O<sub>P0</sub> = Contenuto di ossigeno del preparato di prova all'inizio del test (giorno 0)  
 O<sub>P5</sub> = Contenuto di ossigeno del preparato di prova al termine del test (giorno 5)