

BIOCHEMISCH ZUURSTOFVERBRUIK (BOD5) (VERDUNNINGSMETHODE)

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De BOD testmethode meet het zuurstofverbruik, gedurende een 5 dagen incubatieperiode, nodig voor de biochemische degradatie van organisch materiaal. Met de methode wordt eveneens de zuurstof verbruikt voor oxidatie van anorganisch materiaal (zoals sulfides, Fe (II), ...) gemeten en van gereduceerde vormen van stikstof tenzij de oxidatie hiervan wordt vermeden door toevoegen van een inhibitor.

In de meeste afvalwaters overschrijdt de concentratie BOD deze van de voorhanden zijnde opgeloste zuurstof. Daarom is het noodzakelijk de monsters te verdunnen met zuurstofrijk water vóór de incubatie zodat de aërobe micro-organismen over zuurstof in overmaat kunnen beschikken. Het verdunde watermonster wordt gebufferd zodat de pH van het geïncubeerde watermonster constant blijft in een pH gebied geschikt voor bacteriële groei.

2 PRINCIPE

Het door een zeef gegoten ruw water wordt gemengd in gekende verhouding met zuurstofrijk leidingwater en het gehalte opgeloste zuurstof wordt gemeten. Hierop wordt 5 dagen geïncubeerd in een totaal gevulde "winklerse fles" (geen zuurstofdiffusie van buitenuit) bij 20°C. De vermindering van de concentratie aan opgeloste zuurstof na deze periode is een maat voor het biochemisch zuurstofverbruik.

Het biochemisch zuurstofverbruik wordt aangeduid door het symbool BOD_x waarin x het aantal dagen van incubatie voorstelt. Volledige stabilisatie van een monster vereist een lange incubatieperiode zodat voor praktische doeleinden 5 dagen als algemene standaard wordt aangenomen.

3 BELANGRIJKE OPMERKINGEN

- De beschreven methode is afhankelijk van de bepaling van het gehalte opgeloste zuurstof, waarvan de precisie niet zeer groot is. Het verschil tussen vóór en na dient dus zo groot mogelijk te zijn (vermindering van tenminste 33 %).
- Bij een laag overblijvend zuurstofgehalte geraakt de stofwisseling van de bacteriën in het gedrang en wordt de afbraak vertraagd zodat het bekomen resultaat te laag is. Daarom moet minstens 33 % zuurstof overblijven (NBN 407).
Omwille van deze twee voorwaarden moeten per monster ganse reeksen verdunningen gemaakt worden. De bepaling is dus omslachtig en tijdrovend, tenzij de grootte-orde van de BOD_5 vooraf gekend is.
- De verdunningen noodzakelijk voor de uitvoering van de proef kunnen de effecten van storende (inhibitoren) of versnellende (katalysatoren) factoren veranderen. Dit geldt in het bijzonder voor sterk belast afvalwater waarvoor extreme verdunningen vereist zijn. Bij hoge verdunningen ontstaan hoge verdunningsfouten.
De maximaal toegelaten verdunning is 1/1000. Aannemende dat het zuurstofrijk water, hiervoor gebruikt, verzadigd is (9,1 mg/l bij 20°C) en dat men ten hoogste 66 % mag

verbruiken (of 6 mg/l), dan volgt hieruit dat BOD₅ groter dan 6000 mg/l niet kan bepaald worden.

4 MONSTERBEHANDELING

De te analyseren monsters dienen koel bewaard (4°C) te worden indien de analyse niet binnen de 2 uren na monsterneming wordt aangevat.

5 APPARATUUR EN MATERIAAL

- incubatie flessen : 250 - 300 ml, geijkt op 1 ml (Winkler flessen)
- incubatorkast gethermostatiseerd bij $20 \pm 1^\circ\text{C}$ waarin de incubatieflessen in het donker worden bewaard

6 REAGENTIA

- N-allylthiourem, C₄H₈N₂S
- Natriumbicarbonaat, NaHCO₃
- Waterstofchloride, HCl, 1N : voor de neutralisatie van sterk basische monsters
- Natriumhydroxide, NaOH, 1N : voor de neutralisatie van sterk zure monsters
- Verdunningswater

Het verdunningswater wordt bereid uit leidingwater waaraan 300 mg natriumbicarbonaat wordt toegevoegd per liter om de pH op 8,3 te brengen. Om de oxidatie van ammonium te vermijden, wordt 0,5 mg N-allylthiourem per liter verdunningswater toegevoegd.

Het gebufferde verdunningswater wordt gestockeerd in recipiënten open aan de lucht gedurende een tweetal dagen. Op het ogenblik van gebruik dient het zuurstofgehalte ongeveer 9 mg/l te bedragen. Het verdunningswater mag een BOD waarde hebben van max. 0,5 mg/l.

7 ANALYSEPROCEDURE

7.1 Voorafgaande bewerkingen

De sterk alkalische of sterk zure monsters worden geneutraliseerd tov. fenolftaleïne als indicator. In een afzonderlijke proef wordt de hoeveelheid toe te voegen natriumhydroxide of zoutzuur nodig voor de neutralisatie, bepaald.

7.2 Keuze van de verdunningsgraad

Bij een te grote verdunning zullen doorgaans te hoge resultaten worden bekomen, bij een te zwakke verdunning te lage resultaten.

De verdunning dient zo gekozen te worden dat na de vereiste incubatieperiode het gehalte aan opgeloste zuurstof 33 tot 66 % bedraagt van het oorspronkelijk gehalte.

Gezien de moeilijkheid om de juiste verdunningsgraad vast te stellen, worden 5 verdunningen gemaakt welke volgens een meetkundige reeks van 2 verschillen en de verdunning insluiten met de waarschijnlijke BOD : $4x$, $2x$, x , $x/2$, $x/4$.

De middelste verdunning X wordt *bij benadering* weergegeven door :

$$X = \frac{Y}{\text{KMnO}_4 \text{ (koud)}}$$

met

X = de hoeveelheid monster in ml, aangelengd tot 1 l met gebufferd verdunningswater

Y = 300 voor oppervlaktewater; 200 voor afvalwater en lozingen

KMnO₄ = aantal mg O₂/l bekomen bij de bepaling van de oxydeerbaarheid (onder koude voorwaarden¹)

Na berekening, wordt de waarde van x afgerond. De 5 verdunningsflessen worden aangelengd tot 1 l met gebufferd leidingswater. Telkens 3 winklerflessen vullen met de verdunningsoplossingen tot ze overlopen. De luchtbellens die aan de wand kleven, laten ontsnappen. De flessen afsluiten ervoor zorgend geen luchtbellens in te sluiten.

7.3 Bepaling van het BOD gehalte

De gevulde winklerflessen in 2 reeksen groeperen. Van een eerste reeks waaronder telkens 1 fles van elke verdunning en een fles voor de blancoproef, wordt reeds na 1 uur de opgeloste zuurstof bepaald. De tweede reeks welke de 5 verdunningen in tweevoud bevat en 2 blanco oplossingen wordt gedurende 5 dagen geïncubeerd bij 20°C. Na de vereiste broedtijd wordt de opgeloste zuurstof in elk van de verdunningen en in de blanco's bepaald.

8 BEREKENINGEN

De verbruikte hoeveelheid zuurstof per liter door een zeef gegoten water, BOD₅, wordt gegeven door :

$$\text{BOD}_5 = \frac{(A - B) - \frac{(C - D)(1000 - V)}{1000}}{V} \cdot 1000$$

met

A = zuurstofconcentratie van het mengsel voor incubatie, in mg/l

¹ Voor de bepaling van de kaliumpermanganaat index onder koude voorwaarden, wordt verwezen naar de bepaling van de oxydeerbaarheid bij warmte (zie *).

De bepaling wordt echter uitgevoerd zonder koken van de monsteroplossing. Na toevoegen van zwavelzuur en kaliumpermanganaat aan het watermonster (zie 7.3), laat men de oplossing 10 minuten reageren bij kamertemperatuur. De oplossing wordt onmiddellijk na toevoeging van oxaalzuur, getitreerd met kaliumpermanganaat zoals beschreven in 7.3).

B = zuurstofconcentratie van het mengsel na incubatie, in mg/l

C = oorspronkelijk gehalte opgeloste zuurstof van het verdunningswater (mg/l)

D = gehalte opgelost zuurstof van het verdunningswater na incubatie (mg/l)

V = aantal ml van het watermonster in het mengsel

Alleen het mengsel dat een zuurstofverbruik tussen 33 % en 66 % heeft, wordt in aanmerking genomen voor de berekening van het resultaat.

9 VEILIGHEID

N-Allythioureum, C₄ H₈ N₂ S

- Giftig bij inademen
- Contact met de huid vermijden
- Bewaren bij temp. < 15°C

10 REFERENTIES

- Wateronderzoek, Afvalwaters en verontreinigde waters : Biochemisch zuurstofverbruik (BOD), NBN 407, 1956
- Analysemethoden voor water : Biochemisch zuurstofverbruik, Instituut voor Hygiëne en Epidemiologie, Brussel, 1985
- Chemiekaarten, Gegevens voor veilig werken met chemicaliën, 5^{de} editie, 1990