
**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**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Water quality — Determination of biochemical oxygen demand after n
days (BOD_n) —*

ISO 5815-1:2003

Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1c7c5714-96c6-481a-ad7d-cf040a9b424a/iso-5815-1-2003>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5815-1:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fe7c57f4-96c8-48fa-ad7d-cf040a9b424a/iso-5815-1-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fe7c57f4-96c8-48fa-ad7d-cf040a9b424a/iso-5815-1-2003>

© ISO 2003

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	4
7 Conservation de l'échantillon	5
8 Mode opératoire	5
8.1 Prétraitement	5
8.2 Préparation des solutions d'essai	6
8.3 Essai à blanc	7
8.4 Détermination	7
8.5 Analyse de contrôle	8
9 Calcul et expression des résultats	8
9.1 Examen de la consommation en oxygène valable durant l'essai	8
9.2 Calcul de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO_n)	9
10 Cas particuliers	9
11 Rapport d'essai	10
Annexe A (informative) Méthodes d'incubation alternatives	11
Annexe B (informative) Déterminations multiples	13
Annexe C (informative) Justesse et fidélité	14
Bibliographie	16

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 5815-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 2, *Méthodes physiques, chimiques et biochimiques*.

Cette première édition de l'ISO 5815-1, ainsi que l'ISO 5815-2, annule et remplace l'ISO 5815:1989, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 5815 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *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*
- *Partie 2: Méthode pour échantillons non dilués*

L'ISO 5815-1 est équivalente à la Norme européenne EN 1899-1.

Introduction

La présente partie de l'ISO 5815 est une version modifiée de l'ISO 5815:1989, *Qualité de l'eau — Détermination de la demande biochimique en oxygène après 5 jours (DBO₅) — Méthode par dilution et ensemencement*.

Les durées d'incubation spécifiées dans la présente partie de l'ISO 5815 sont de 5 jours, comme dans l'ISO 5815:1989 et comme appliquées dans de nombreux pays européens, ou de 7 jours comme appliquées dans plusieurs pays nordiques durant de nombreuses années. Typiquement, une incubation de 7 jours fournira des résultats de DBO plus élevés que pour une durée d'incubation de 5 jours.

Avec une période d'incubation de 5 jours, il est possible d'éviter de travailler le week-end si les échantillons sont prélevés les mercredi, jeudi et vendredi. Avec une période d'incubation de 7 jours, les échantillons prélevés les cinq premiers jours de la semaine peuvent être analysés sans travailler le week-end. Pour cette raison, une incubation de 7 jours peut être considérée plus appropriée que l'incubation conventionnelle de 5 jours.

Une incubation de 7 jours, nouvelle et modifiée est décrite dans l'Annexe A. Les premières recherches indiquent que les résultats de DBO obtenus par cette méthode modifiée sont identiques aux résultats obtenus par la méthode de 5 jours décrite dans la présente partie de l'ISO 5815. Il est souhaité que plus de données comparatives sur ces deux méthodes d'incubation soient obtenues dans les prochaines années, afin que la méthode d'incubation de 7 jours modifiée soit complètement incluse lors de la révision de la présente partie de l'ISO 5815.

Pour la détermination de la DBO_n des échantillons d'eaux, la méthode respirométrique décrite dans l'ISO 9408 peut également être utilisée.

Dans la présente partie de l'ISO 5815, la limite de détermination, D_L , est définie comme

$$D_L = t_{0,95(f)} \cdot 2 \cdot s_B \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n}} \quad (1)$$

où

s_B est l'écart-type d'une série;

$t_{0,95(f)}$ est la valeur t de Student;

f est les degrés de liberté pour la détermination de s_B ;

n est le nombre d'analyses pour la détermination du blanc dans une série analytique;

s_B est calculé à partir des déterminations d'échantillons réels avec une DBO proche de la limite de détermination estimée D_L .

Dans le cas où la méthode ne nécessite pas de correction du blanc, le terme

$$\sqrt{1 + \frac{1}{n}} \quad (2)$$

est supprimé.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5815-1:2003

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fe7c57f4-96c8-48fa-ad7d-cf040a9b424a/iso-5815-1-2003>

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

AVERTISSEMENT — Il convient que les personnes utilisant la présente partie de l'ISO 5815 soient familières des pratiques courantes de laboratoire. La présente partie de l'ISO 5815 ne prétend pas aborder tous les éventuels problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'établir des pratiques de santé et de sécurité appropriées et de s'assurer de la conformité aux exigences réglementaires nationales.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 5815 spécifie une méthode de détermination de la demande biochimique en oxygène dans les eaux par dilution et ensemencement avec suppression de la nitrification.

Cette partie de l'ISO 5815 est applicable à tous les types d'eau dont la demande biochimique en oxygène est supérieure ou égale à la limite de détermination de 0,3 mg/l d'oxygène (la limite de détermination) et ne dépasse pas 6 000 mg/l d'oxygène. Pour des demandes biochimiques en oxygène de plus de 6 000 mg/l d'oxygène, la méthode est encore applicable, mais les erreurs causées par les dilutions nécessaires peuvent influencer la qualité analytique de la méthode d'essai et les résultats doivent être interprétés avec circonspection.

Les résultats obtenus sont le produit d'une combinaison de réactions biochimiques et chimiques. Ils ne possèdent pas le caractère exact et rigoureux tel que, par exemple, celui d'un processus chimique unique bien défini. Ils fournissent cependant une indication qui permet d'estimer la qualité des eaux.

L'analyse peut être influencée par la présence de substances diverses. Celles qui sont toxiques pour les micro-organismes telles que, par exemple, les bactéricides, les métaux toxiques ou le chlore libre, inhibent l'oxydation biochimique. La présence d'algues ou de micro-organismes nitrificateurs peut entraîner des résultats artificiellement élevés.

L'Annexe A décrit des périodes d'incubation alternatives.

L'Annexe B décrit des déterminations multiples qui peuvent être utilisées pour obtenir une fidélité accrue ou démontrer la présence de substances toxiques vis-à-vis des micro-organismes.

L'Annexe C fournit des données de fidélité.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 5815-1:2003(F)

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 5813:1983, *Qualité de l'eau — Dosage de l'oxygène dissous — Méthode iodométrique*

ISO 5814:1990, *Qualité de l'eau — Dosage de l'oxygène dissous — Méthode électrochimique à la sonde*

ISO 6060:1989, *Qualité de l'eau — Détermination de la demande chimique en oxygène*

ISO 8245:1999, *Qualité de l'eau — Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (COT) et du carbone organique dissous (COD)*

ISO 8467:1993, *Qualité de l'eau — Détermination de l'indice de permanganate*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1 demande biochimique en oxygène après n jours

DBO _{n}

concentration en masse d'oxygène dissous consommé dans des conditions spécifiées par l'oxydation biochimique de matières organiques et/ou inorganiques dans l'eau. n est la durée d'incubation, égale à 5 jours ou 7 jours

NOTE 1 Cette définition est adaptée de l'ISO 6107-2.

NOTE 2 Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 5815, «oxydation biologique» a le même sens que «oxydation biochimique».

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fe7c57f4-96c8-48fa-ad7d-cf040a9b424a/iso-5815-1-2003>

4 Principe

Il est absolument essentiel que les essais conduits selon la présente partie de l'ISO 5815 soient effectués par un personnel convenablement qualifié.

Prétraitement de l'échantillon d'eau à analyser et dilution avec différentes quantités d'eau de dilution enrichie en oxygène dissous et contenant un ensemencement de micro-organismes aérobies, avec suppression de la nitrification.

Incubation de l'échantillon à 20 °C pour une durée fixée de 5 jours ou 7 jours, dans l'obscurité, dans un flacon entièrement rempli et fermé. Détermination de la concentration en oxygène dissous avant et après incubation. Calcul de la masse d'oxygène consommé par litre d'échantillon.

5 Réactifs

Pour l'analyse, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue.

5.1 Eau, de qualité 3 conformément à l'ISO 3696.

L'eau ne doit pas contenir plus de 0,01 mg/l de cuivre et doit être exempte de chlore et de chloramines.

5.2 Eau d'ensemencement, si l'échantillon ne contient pas en soi suffisamment de micro-organismes adaptés.

Une eau d'ensemencement, obtenue de l'une des manières suivantes, doit être utilisée:

- a) eau résiduaire urbaine avec une DCO (demande chimique en oxygène mesurée selon l'ISO 6060) ne dépassant pas 300 mg/l ou un COT (carbone organique total mesuré selon l'ISO 8245) ne dépassant pas 100 mg/l, prélevée dans une canalisation d'égout principal ou dans une canalisation d'égout d'une zone résidentielle, exempte de contaminations industrielles significatives. Décanter l'eau ou la filtrer à travers un filtre grossier;
- b) eau de rivière ou de lac contenant des eaux résiduaires urbaines;
- c) effluent décanté provenant d'une station de traitement d'eaux usées;
- d) eau prélevée en aval du déversement de l'eau à analyser, ou eau contenant des micro-organismes adaptés à l'eau à analyser et cultivés en laboratoire (dans le cas d'effluents industriels contenant des substances difficilement dégradables);
- e) matériau d'ensemencement disponible dans le commerce.

5.3 Solutions salines, conservées dans des bouteilles en verre de 0 °C à 4 °C dans l'obscurité.

Les solutions suivantes sont stables pendant 6 mois. Dès que les premiers signes de précipitation ou de prolifération bactérienne apparaissent, il faut jeter les solutions.

5.3.1 Solution tampon de phosphate, pH 7,2.

Dissoudre 8,5 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), 21,75 g d'hydrogénophosphate de dipotassium (K_2HPO_4), 33,4 g d'hydrogénophosphate de disodium heptahydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) et 1,7 g de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) dans environ 500 ml d'eau. Diluer à 1 000 ml et mélanger.

Il convient que la valeur de pH de cette solution tampon soit de 7,2 sans ajustement ultérieur.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fe7c57f4-96c8-48fa-ad7d-8090b12466-5815-1-2003>

5.3.2 Solution de sulfate de magnésium heptahydraté, $\rho = 22,5$ g/l.

Dissoudre 22,5 g de sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau. Diluer à 1 000 ml et mélanger.

5.3.3 Solution de chlorure de calcium, $\rho = 27,5$ g/l.

Dissoudre 27,5 g de chlorure de calcium anhydre (CaCl_2), ou une quantité équivalente (par exemple, si du chlorure de calcium hydraté est utilisé: 36,4 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau. Diluer à 1 000 ml et mélanger.

5.3.4 Solution de chlorure de fer(III) hexahydraté, $\rho = 0,25$ g/l.

Dissoudre 0,25 g de chlorure de fer(III) hexahydraté ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau. Diluer à 1 000 ml et mélanger.

5.4 Eau de dilution

Ajouter 1 ml de chaque solution saline (5.3.1, 5.3.2, 5.3.3 et 5.3.4) à environ 500 ml d'eau. Diluer à 1 000 ml et mélanger. Porter la solution ainsi obtenue à une température d'environ $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ et la maintenir à cette température; aérer pendant au moins 1 h à l'aide d'un équipement approprié. Veiller à ne pas la contaminer (voir 6.8), en particulier par addition de matières organiques, de métaux ou de substances oxydantes ou réductrices, afin de s'assurer que la concentration en oxygène dissous est d'au moins 8 mg/l.

L'eau ne doit pas être sursaturée en oxygène. La laisser reposer 1 h dans un récipient débouché avant utilisation. Utiliser cette solution dans les 24 h suivant la préparation et jeter le restant, à moins que l'expérience du laboratoire et/ou des valeurs de contrôle montrent que l'eau peut être utilisée pendant une période plus longue.

5.5 Eau de dilutionensemencée

Ajouter, selon son origine, 5 ml à 20 ml d'eau d'ensemencement (5.2) par litre d'eau de dilution (5.5). Conserver l'eau de dilutionensemencée ainsi obtenue à environ 20 °C. Préparer juste avant l'utilisation et jeter la solution restante à la fin de la journée de travail, à moins que l'expérience du laboratoire et/ou des valeurs de contrôle (8.5) montrent que l'eau de dilutionensemencée est valable pour une période plus longue.

La consommation en oxygène de l'eau de dilutionensemencée à une température de 20 °C pendant une durée de n jours et qui représente la valeur du blanc (8.3) ne doit pas dépasser 1,5 mg/l d'oxygène.

5.6 Solution d'acide chlorhydrique (HCl) ou d'acide sulfurique (H₂SO₄), $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 0,25 \text{ mol/l}$, $c(\text{HCl}) \approx 0,50 \text{ mol/l}$, ou de concentration appropriée.

5.7 Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), $\rho \approx 20 \text{ g/l}$ ou de concentration appropriée.

5.8 Solution de sulfite de sodium (Na₂SO₃), $\rho \approx 50 \text{ g/l}$ ou de concentration appropriée.

5.9 Acide glutamique-glucose, solution de contrôle.

Sécher du D-glucose anhydre (C₆H₁₂O₆) et de l'acide L-glutamique (C₅H₉NO₄) pendant 1 h à (105 ± 5) °C. Peser (150 ± 1) mg de chacune des substances, les dissoudre dans de l'eau, diluer à 1 000 ml et mélanger. La demande théorique en oxygène de cette solution est de 307 mg/l d'oxygène [la DBO₅ empirique est de (210 ± 20) mg/l d'oxygène et la DBO₇ est de (225 ± 20) mg/l d'oxygène].

Préparer cette solution juste avant utilisation et jeter la solution restante à la fin de la journée de travail. La solution peut également être congelée en petites quantités. La solution décongelée doit être utilisée aussitôt après décongélation.

5.10 Solution d'allylthiourée (ATU), $\rho = 1,0 \text{ g/l}$. [ISO 5815-1:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fc57f4-96c8-48fa-ad7d-c04a99424a36-iso-5815-1-2003)

Dissoudre 200 mg d'allylthiourée (C₄H₈N₂S) dans de l'eau, diluer à 200 ml et mélanger. Conserver la solution à 4 °C. La solution est stable pendant au moins deux semaines. Ce composé est toxique et il convient par conséquent de le manipuler avec précaution.

6 Appareillage

La verrerie utilisée doit être complètement propre et exempte de composés adsorbés toxiques ou de composés biodégradables et elle doit être protégée contre toute contamination.

6.1 Flacons d'incubation, flacons DBO, avec bouchons, par exemple de 250 ml à 300 ml ou de 100 ml à 125 ml, de préférence cylindro-conique, ou récipients équivalents.

Il est important de nettoyer soigneusement les flacons avant leur utilisation. Si la méthode iodométrique (ISO 5813) pour déterminer l'oxygène dissous est utilisée, il est normalement suffisant de rincer le flacon plusieurs fois avec de l'eau du robinet et ensuite avec de l'eau déionisée. Cependant, si la méthode électrochimique (ISO 5814) est utilisée, un nettoyage plus strict est nécessaire, par exemple de la manière suivante: Verser 5 ml à 10 ml d'une solution de lavage dans le flacon vide (par exemple 2,5 g d'iode et 12,5 g d'iodure de potassium par litre d'acide sulfurique à 1 % (fraction volumique), bien agiter afin de recouvrir les parois du flacon. Laisser reposer 15 min, jeter la solution, rincer soigneusement avec de l'eau du robinet et ensuite avec de l'eau déionisée.

6.2 Récipient pour l'eau de dilution, en verre ou en plastique.

Des mesures doivent être prises afin de s'assurer que le récipient est toujours propre et exempt de proliférations de micro-organismes. Vérifier que les récipients en matière plastique ne fournissent pas de valeurs de blanc trop élevées (8.3).

6.3 Incubateur, pouvant être maintenu à (20 ± 2) °C.

6.4 Appareil pour la détermination de la concentration en oxygène dissous, conformément à l'ISO 5813 ou à l'ISO 5814.

6.5 Matériel de réfrigération de 0 °C à 4 °C, pour le transport et la conservation des échantillons.

6.6 Récipient de dilution, un flacon en verre avec bouchon, gradué à intervalles de 2,5 ml à 10 ml, dont la capacité dépend du volume de l'échantillon dilué, ou tout récipient approprié permettant une dilution convenable.

6.7 Équipement pour l'aération, une bouteille d'air sous pression ou un compresseur, par exemple.

La qualité de l'air doit être telle que l'aération n'entraîne aucune contamination, notamment par l'ajout de matières organiques, de substances oxydantes ou réductrices, ou de métaux. Si une contamination est suspectée, l'air doit être filtré et lavé.

7 Conservation de l'échantillon

Conserver l'échantillon immédiatement après le prélèvement dans un flacon rempli jusqu'aux bords, fermé hermétiquement, à une température comprise entre 0 °C et 4 °C jusqu'à réalisation de l'analyse. Commencer la détermination de la DBO₅ le plus tôt possible et dans les 24 h suivant la fin du prélèvement de l'échantillon. En ce qui concerne la congélation des échantillons, voir les cas particuliers dans l'Article 10.

S'assurer que les récipients d'échantillonnage ne présentent pas des valeurs de blanc trop élevées.

iTech STANDARD PREVIEW
(standards.itech.ai)

8 Mode opératoire

ISO 5815-1:2003

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/fe7c57f4-96c8-48fa-ad7d-cf040a9b424a/iso-5815-1-2003>

8.1 Prétraitement

8.1.1 Neutralisation de l'échantillon

Si la valeur de pH de l'échantillon après dilution ne se situe pas entre 6 et 8, neutraliser l'échantillon, après avoir procédé, si besoin, à une prédilution et après avoir déterminé, par un essai séparé, le volume nécessaire de solution d'acide chlorhydrique (5.6) ou de solution d'hydroxyde de sodium (5.7) à ajouter. Ne pas tenir compte des précipités qui pourraient apparaître.

8.1.2 Présence de chlore libre et/ou de chlore combiné

Éliminer le chlore libre ou combiné présent dans l'échantillon en ajoutant le volume nécessaire de solution de sulfite de sodium (5.8). Veiller à ne pas en ajouter en excès.

NOTE Des méthodes pour la détermination du chlore libre et du chlore combiné sont données dans l'ISO 7393-1 et l'ISO 7393-2.

8.1.3 Homogénéisation

Pour les travaux de routine, l'homogénéisation par broyage des particules avec, par exemple, un mixeur de laboratoire, n'est pas recommandée mais envisager son utilisation pour analyser un échantillon contenant de grosses particules et nécessitant un facteur de dilution élevé.

Lorsque les échantillons ont été congelés (voir l'Article 10), l'homogénéisation doit avoir lieu après décongélation des échantillons.