
**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 (DBO_n) —*

part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition

2019



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 5815-1:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b03620f-f50f-41ef-addf-eb989e5ebb87/iso-5815-1-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +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.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	3
5 Réactifs	3
6 Appareillage	6
7 Échantillonnage et conservation	7
8 Interférences	7
8.1 Généralités.....	7
8.2 Présence de chlore libre et/ou de chlore combiné.....	7
8.3 Présence d'algues.....	8
8.4 Présence de peroxydes et de composés de peroxyde.....	8
9 Mode opératoire	9
9.1 Généralités.....	9
9.2 Prétraitement.....	9
9.2.1 Neutralisation de l'échantillon.....	9
9.2.2 Homogénéisation.....	9
9.3 Préparation des solutions d'essai.....	9
9.4 Calcul des dilutions.....	10
9.4.1 Détermination empirique des dilutions.....	10
9.4.2 Détermination des dilutions grâce aux facteurs <i>R</i> du COT, de l'indice permanganate ou de la DCO.....	11
9.4.3 Calcul des niveaux de dilution à l'aide de la DCO.....	11
9.5 Détermination des valeurs de blanc.....	12
9.6 Détermination de l'oxygène dissous.....	12
9.6.1 Mesurage de l'oxygène dissous à l'aide de la méthode iodométrique (conformément à l'ISO 5813).....	12
9.6.2 Mesurage de l'oxygène dissous à l'aide de sondes (conformément à l'ISO 5814 ou à l'ISO 17289).....	13
9.7 Analyse de contrôle.....	13
10 Calcul et critères de validation des résultats	14
10.1 Examen des solutions d'essai pour la validation de la consommation d'oxygène durant l'essai.....	14
10.2 Calcul de la demande biochimique en oxygène après <i>n</i> jours (DBO _{<i>n</i>}).....	14
10.3 Critères de validité.....	15
11 Rapport d'essai	15
Annexe A (normative) Influence des périodes d'incubation et des températures	16
Annexe B (informative) Déterminations multiples	17
Annexe C (informative) Ensemencement direct des solutions d'essai	20
Annexe D (informative) Données de performance	21
Bibliographie	24

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 5815-1:2003), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- modification du domaine de travail: 1 mg/l au lieu de 3 mg/l comme limite inférieure;
- changements dans le mode opératoire des essais;
- en 5.2, possibilité de vérifier au préalable l'adéquation de l'eau d'ensemencement à l'aide d'une série d'analyse de contrôle AGG;
- en 5.3.2, valeur du pH de la solution tampon de phosphate: exigence concernant la préparation d'une nouvelle solution si la valeur du pH se situe hors de la plage comprise entre pH 7 et pH 8;
- en 5.5, plage de consommation d'oxygène de l'eau de dilutionensemencée comprise entre 0,2 mg/l et 1,5 mg/l au lieu de limite supérieure de 1,5 mg/l;
- en 5.9, remplacement de la plage admissible dans la solution de contrôle AGG par (198 ± 40) mg/l pour la DBO₅, et par (206 ± 40) mg/l pour la DBO₇;
- en 6.5, ajout de la possibilité de mesurer la concentration en oxygène dissous à l'aide d'une sonde électrochimique;
- en 8.4, interférences: ajout d'un paragraphe concernant la présence de peroxydes et de composés de peroxyde;

- en [9.4](#), possibilités pour déterminer les dilutions effectuées;
- en [9.7](#), analyse de contrôle: description détaillée de la procédure;
- en [10.3](#), ajout de «critères de validité/approbation des résultats»;
- à l'[Annexe A](#): modification du titre et «normative» au lieu de «informative»;
- à l'[Annexe C](#): ajout de «Ensemencement direct des solutions d'essai»;
- ajout d'une nouvelle [Annexe D](#) «Données de performance».

Une liste de toutes les parties de la série ISO 5815 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/members.html.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 5815-1:2019](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b03620f-f50f-41ef-addf-eb989e5ebb87/iso-5815-1-2019>

Introduction

La durée d'incubation spécifiée dans le présent document est de 5 jours ou 7 jours. La durée d'incubation de 7 jours correspond à la pratique dans plusieurs pays nordiques. L'[Annexe A](#) décrit une durée d'incubation de (2 + 5) jours.

L'ISO 5815-1 spécifie la méthode de détermination par dilution de la demande biochimique en oxygène (DBO) dans les eaux avec une DBO attendue comprise entre 1 mg/l et 6 000 mg/l. Une limite plus basse du domaine de travail peut résulter des données de validation du laboratoire. Pour les échantillons présentant une DBO attendue faible, comprise entre 0,5 mg/l et 6 mg/l, l'ISO 5815-2 permet de déterminer la DBO dans l'eau à l'aide d'échantillons non dilués.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 5815-1:2019](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b03620f-f50f-41ef-addf-eb989e5ebb87/iso-5815-1-2019>

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 l'utilisateur du présent document connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de mettre en place des mesures de sécurité et d'hygiène appropriées.

IMPORTANT — Il est absolument essentiel que les essais effectués conformément au présent document soient réalisés par du personnel ayant reçu une qualification appropriée.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie la méthode de détermination de la demande biochimique en oxygène dans les eaux, par dilution et ensemencement, avec suppression de la nitrification après une durée d'incubation de 5 jours ou 7 jours.

Cette méthode est applicable à tous les types d'eau dont la demande biochimique en oxygène se situe généralement entre 1 mg/l et 6 000 mg/l. Elle s'applique particulièrement aux eaux usées mais convient également à l'analyse des eaux naturelles. Pour des demandes biochimiques en oxygène de plus de 6 000 mg/l d'oxygène, la méthode est encore applicable, mais une attention particulière est nécessaire concernant la représentativité du sous-échantillonnage pour la préparation des étapes de dilution. Les résultats obtenus sont le produit d'une combinaison de réactions biochimiques et chimiques en présence de matière vivante dont le comportement et les caractéristiques ne sont qu'occasionnellement reproductibles. Les résultats ne possèdent pas le caractère exact et rigoureux de résultats issus par exemple d'un processus chimique unique bien défini. Les résultats fournissent cependant une indication qui permet d'estimer la qualité des eaux.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 5667-3, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 3: Conservation et manipulation des échantillons d'eau*

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

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

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

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

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

ISO 10523, *Qualité de l'eau — Détermination du pH*

ISO 15705, *Qualité de l'eau — Détermination de l'indice de demande chimique en oxygène (ST-DCO) — Méthode à petite échelle en tube fermé*

ISO 17289, *Qualité de l'eau — Dosage de l'oxygène dissous — Méthode optique à la sonde*

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

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 à l'article: Pour les besoins du présent document, «oxydation biochimique» a le même sens que «oxydation biologique».

Note 2 à l'article: n a pour valeur soit 5 soit 7.

ISO 5815-1:2019
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b03620f-f50f-41ef-addf-eb989e5ebb87/iso-5815-1-2019>

3.2 demande chimique en oxygène DCO

concentration en masse d'oxygène équivalente à la quantité de dichromate consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on traite un échantillon d'eau avec cet oxydant dans des conditions définies

[SOURCE: ISO 6060:1989, 3]

3.3 carbone organique total COT

somme du carbone organique présent dans l'eau, sous forme dissoute ou lié aux matières en suspension, y compris les cyanates, le carbone élémentaire et les thiocyanates

[SOURCE: ISO 8245:1999, 3.3, modifiée]

3.4 indice permanganate (d'une eau)

concentration en masse d'oxygène équivalente à la quantité d'ions permanganate consommée quand un échantillon d'eau est traité par cet oxydant dans des conditions définies

[SOURCE: ISO 8467:1993, 3.1, modifiée]

3.5 eau d'ensemencement

eau contenant des micro-organismes (aérobies) adaptés permettant l'oxydation des matières contenues dans l'eau

Note 1 à l'article: L'eau d'ensemencement est utilisée pour produire l'eau de dilutionensemencée.

3.6**eau de dilution**

eau ajoutée à l'échantillon soumis à essai afin de préparer une série définie de dilutions

[SOURCE: ISO 20079:2005, 3.7]

3.7**eau de dilutionensemencée**

eau de dilution à laquelle une quantité définie d'eau d'ensemencement a été ajoutée

3.8**chlore libre**

chlore présent sous la forme d'acide hypochloreux, d'ion hypochlorite ou de chlore élémentaire dissous

[SOURCE: ISO 7393-1:1985, 2.1]

3.9**chlore combiné**

fraction du chlore total présente sous la forme de chloramines et de chloramines organiques

[SOURCE: ISO 7393-1:1985, 2.2]

3.10**nitrification**

oxydation des sels d'ammonium par des bactéries, au cours de laquelle le produit intermédiaire est généralement un nitrite et le produit final un nitrate

[SOURCE: ISO 11733:2004, 3.9]

iteh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

4 Principe

ISO 5815-1:2019

La détermination de la DBO_n avec inhibition de la nitrification est effectuée à l'aide de la méthode par dilution. Une série de préparations composée de différentes dilutions d'un échantillon est préparée et soumise à essais. L'eau de dilution est enrichie en oxygène etensemencée avec des micro-organismes aérobies adaptés.

L'échantillon est incubé à (20 ± 1) °C pendant une durée spécifiée (n) de 5 jours ou 7 jours, dans l'obscurité, dans un flacon entièrement rempli et fermé. La concentration en oxygène dissous est déterminée avant et après incubation. La masse d'oxygène consommé par litre d'échantillon est calculée.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs ayant un degré de pureté correspondant à la qualité «pour analyse».

5.1 Eau, au moins de qualité 3 selon 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, qui peut être obtenue de l'une des manières suivantes:

- a) eau résiduaire urbaine, décantée ou grossièrement filtrée;
- b) eau de surface contenant de l'eau résiduaire urbaine;
- 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;
- e) matériau d'ensemencement disponible dans le commerce.

Utiliser de l'eau d'ensemencement ayant une DCO d'environ 300 mg/l ou un COT d'environ 100 mg/l (voir 5.5). Si la DCO ou le COT sont plus élevés, s'adapter à ces concentrations avec de l'eau de dilution (5.4) avant de préparer l'eau de dilutionensemencée (5.5) ou utiliser un volume d'eau d'ensemencement modifié en conséquence pour ensemercer l'eau de dilution (5.4).

Si l'échantillon est issu d'un processus incluant un traitement de désinfection (chloration, UV, ozone ou autre), utiliser l'inoculum, même s'il n'y a pas de désinfectant résiduel présent.

Pour un matériau d'ensemencement disponible dans le commerce, prendre en considération les recommandations d'application correspondantes.

Il est possible de contrôler au préalable le matériau d'ensemencement choisi en réalisant une analyse de contrôle (9.7) afin de prouver qu'il convient à l'analyse des échantillons.

5.3 Solutions salines

5.3.1 Généralités

Les solutions suivantes peuvent être conservées pendant au moins six mois dans des flacons en verre, dans l'obscurité, à (5 ± 3) °C. Jeter les solutions dès les premiers signes de précipitation ou d'opacité.

5.3.2 Solution tampon de phosphate

Dissoudre 8,50 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), 21,75 g d'hydrogénophosphate de dipotassium (K_2HPO_4), 33,40 g d'hydrogénophosphate de disodium heptahydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) et 1,70 g de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) dans environ 500 ml d'eau (5.1). Diluer à 1 000 ml avec de l'eau (5.1) et mélanger. Mesurer la valeur du pH. Si la valeur du pH se situe hors de la plage comprise entre pH 7 et pH 8, préparer une nouvelle solution.

5.3.3 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 (5.1). Diluer à 1 000 ml avec de l'eau (5.1) et mélanger.

5.3.4 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 si un sel hydraté est utilisé, par exemple 36,4 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau (5.1). Diluer à 1 000 ml avec de l'eau (5.1) et mélanger.

5.3.5 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 (5.1). Diluer à 1 000 ml avec de l'eau (5.1) et mélanger.

5.4 Eau de dilution

Déterminer le volume total d'eau de dilution nécessaire pour l'essai réel. Verser environ la moitié du volume d'eau (5.1) requis dans le réservoir (6.3) pour eau de dilution et ajouter 1 ml de chaque solution saline (5.3.2, 5.3.3, 5.3.4 et 5.3.5) pour chaque litre du volume total. Remplir d'eau (5.1) jusqu'au volume total nécessaire et mélanger en agitant, en aérant ou en secouant. Porter l'eau de dilution ainsi obtenue à une température de (20 ± 2) °C, la maintenir à cette température et l'aérer légèrement en mélangeant. Si, par exemple, une eau d'ensemencement ou un matériau d'ensemencement spécialement adapté s'avère nécessaire, il est possible de suivre la procédure décrite à l'Annexe C.

EXEMPLE Si 20 l d'eau de dilution sont nécessaires, préparer 10 l d'eau (5.1). Tout en agitant de façon continue, ajouter 20 ml de chaque solution saline et remplir d'eau (5.1) jusqu'à 20 l.

5.5 Eau de dilutionensemencée

La préparation d'une eau de dilutionensemencée est nécessaire lorsque les solutions d'essai sont préparées conformément à 9.3. La concentration en masse d'oxygène consommé sur une période de 5 jours (ou 7 jours), à une température de $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$, par l'eau de dilutionensemencée, avec l'ajout d'une solution d'allylthiourée (ATU) pour inhiber la nitrification [valeur du blanc (voir 9.5)], doit être comprise entre 0,2 mg/l et 1,5 mg/l.

Il convient que l'augmentation du volume d'eau de dilution dû à l'apport d'eau d'ensemencement soit aussi faible que possible.

La quantité d'eau d'ensemencement (5.2) nécessaire pour atteindre une DCO hypothétique de 0,6 mg/l à 3,0 mg/l, correspondant à la consommation d'oxygène ciblée dans les valeurs de blanc (9.5), est calculée à l'aide de la Formule (1):

$$V_{\text{eau d'ensemencement}} = \frac{\text{DCO}_{\text{cible}} \cdot V_{\text{eau de dilution}}}{\text{DCO}_{\text{eau d'ensemencement}}} \quad (1)$$

où

$V_{\text{eau d'ensemencement}}$ est le volume d'eau d'ensemencement (5.2) à ajouter à l'eau de dilution (5.4), en litres (l);

$\text{DCO}_{\text{cible}}$ est la DCO hypothétique (comprise entre 0,6 mg/l d'O₂ et 3 mg/l d'O₂) dans l'eau de dilutionensemencée (5.5), en milligrammes par litre d'oxygène (mg/l d'O₂);

$\text{DCO}_{\text{eau d'ensemencement}}$ est la DCO de l'eau d'ensemencement (5.2), en milligrammes par litre d'oxygène (mg/l d'O₂);

$V_{\text{eau de dilution}}$ est la quantité calculée d'eau de dilution àensemencer (5.4), en litres (l).

Pour l'ensemencement direct des solutions d'essai ou les systèmes automatisés qui utilisent un ensemencement direct, voir les instructions à l'Annexe C.

Ajouter l'eau d'ensemencement (5.2) à l'eau de dilution (5.4) et mélanger en agitant ou en secouant. Déterminer la teneur en oxygène comme spécifié dans l'ISO 5813, l'ISO 17289 ou l'ISO 5814. Aérer l'eau de dilutionensemencée jusqu'à atteindre, de préférence, une teneur en oxygène d'au moins 8 mg/l. L'eau ne doit pas être sursaturée en oxygène lors de l'aération: la laisser reposer environ 1 h dans un récipient ouvert avant utilisation. Maintenir l'eau de dilutionensemencée à $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$. L'eau de dilutionensemencée ainsi préparée peut être utilisée immédiatement pour la préparation des solutions d'essai.

Jeter ce qui reste d'eau de dilution à la fin de la journée de travail, sauf si l'expérience du laboratoire montre que l'eau peut être utilisée pendant une période plus longue, à travers le respect des critères fixés pour l'analyse de contrôle (9.7) avec la solution de contrôle (5.9) et la détermination des valeurs de blanc (9.5).

5.6 Solution d'acide chlorhydrique (HCl) ou d'acide sulfurique (H₂SO₄), par exemple $c(\text{HCl}) \approx 0,5 \text{ mol/l}$ ou $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 0,25 \text{ mol/l}$.

5.7 Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), par exemple $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$, $\rho \approx 20 \text{ g/l}$.

5.8 Solution de sulfite de sodium (Na₂SO₃), par exemple $\rho(\text{Na}_2\text{SO}_3) = 50 \text{ g/l}$.

5.9 Acide glutamique-glucose (AGG), solution de contrôle.

Sécher environ 200 mg à 300 mg de D-glucose anhydre (C₆H₁₂O₆) et 200 mg à 300 mg d'acide L-glutamique anhydre (C₅H₉NO₄) pendant 1 h à $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$. Peser $(150 \pm 1) \text{ mg}$ de chacune des substances et les dissoudre dans de l'eau (5.1). Diluer à 1 000 ml avec de l'eau et mélanger. La demande théorique en oxygène de cette solution est de 307 mg/l d'oxygène pour la DBO₅ (la DBO₅ empirique

est de (198 ± 40) mg/l d'oxygène et la DBO_7 , basée sur le facteur de conversion $DBO_7/DBO_5 = 1,04$ du [Tableau D.3](#) et la DBO_5 empirique précédente, est de (206 ± 40) 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 congelée peut être conservée pendant un maximum de trois mois. Utiliser la solution décongelée aussitôt après décongélation.

5.10 Solution d'allylthiourée (ATU), $\rho = 1,0$ g/l.

Dissoudre 200 mg d'allylthiourée ($C_4H_8N_2S$) dans de l'eau (5.1). Diluer à 200 ml avec de l'eau (5.1) et mélanger. Conserver la solution à (5 ± 3) °C. La solution est stable pendant au moins deux semaines.

AVERTISSEMENT — Ce réactif est toxique et doit donc être manipulé conformément à la fiche de données de sécurité.

L'ajout de 2 ml de solution d'ATU ($\rho = 1,0$ g/l) par litre de solution d'essai ne permet pas d'inhiber la nitrification dans tous les cas. L'ajout d'un volume nettement supérieur à 2 ml de solution d'ATU peut perturber le titrage, selon l'ISO 5813 (voir 9.6.1).

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Généralités

Les récipients en plastique et en verre doivent être soigneusement nettoyés, notamment être débarrassés des composés toxiques et biodégradables absorbés, et doivent être protégés contre la contamination.

6.2 Flacons d'incubation, (de type Karlsruhe) d'une contenance comprise entre 100 ml et 300 ml, flacons à col conique avec bouchon et un entonnoir adapté, ou autres flacons appropriés à fermeture hermétique, sans bulles d'air. Lors de l'utilisation de systèmes automatiques, il est important d'employer des flacons d'incubation d'un volume défini, car les flacons d'incubation font office de récipients de dilution.

6.3 Réservoir pour eau de dilutionensemencée et nonensemencée, en verre ou en plastique.

Prendre des mesures pour faire en sorte que le réservoir soit toujours propre, exempt de proliférations de micro-organismes et tenu à l'abri de la lumière.

6.4 Enceinte thermique, salle ou incubateur, pouvant être maintenu à (20 ± 1) °C et sans lumière.

6.5 Appareil pour la détermination de la concentration en oxygène dissous, tel que spécifié dans l'ISO 5813 (méthode iodométrique), l'ISO 5814 (méthode électrochimique à la sonde) avec sonde à oxygène ou l'ISO 17289 (méthode optique à la sonde) avec sonde de mesure optique de l'oxygène.

6.6 Dispositif de réfrigération et de congélation, pour le transport et la conservation des échantillons.

6.7 Récipient de dilution, récipient pour mélange, de préférence en verre (par exemple fiole jaugée ou éprouvette), d'une capacité volumique suffisante pour la série de dilution et pour permettre un mélange suffisant.

6.8 Équipement pour l'aération, bouteille d'air sous pression ou compresseur. La qualité de l'air doit être telle que l'aération n'entraîne aucune contamination, notamment par l'ajout de matières