

**Methode:** **Winklerflaschen-Methode**  
Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach 5 Tagen (BSB<sub>5</sub>) nach dem sogenannten Verdünnungsprinzip (DIN EN 1899-1-H51) in Sauerstoff-Flaschen nach Winkler. Die Bestimmung des gelösten Sauerstoffs erfolgt in Anlehnung an das Winkler-Verfahren (DIN EN 25813-G21) durch photometrische Auswertung der Iod-Farbe.

**Messbereich:** 2 – 3000 mg/l O<sub>2</sub> Methode  
**8221**

**NANOCOLOR®**  
**Reagenziensatz:** BSB<sub>5</sub> (REF 985 822)  
**Wellenlänge:** 436 nm

**Benötigtes Zubehör:** BSB<sub>5</sub>-Zubehörsatz (REF 916 918), BSB<sub>5</sub>-Nährsalzgemisch (REF 918 994) oder BSB<sub>5</sub>-Nährsalzgemisch PLUS (REF 918 995), Kolbenhubpipetten mit Spitzen, Messzylinder (Nennvolumen 100 ml und 500 ml), Wasserbad oder Temperierschrank (alternativ: dunkler Raum mit ca. 20 °C Raumtemperatur)

**Ausführung:**

<b>Vorbereitende Arbeiten</b>
<p><b>1. Probenvorbereitung</b> Die Probe wird auf Raumtemperatur gebracht, und dann wird der pH-Wert überprüft. Der pH-Wert der Probe sollte zwischen pH 6 und 8 liegen und muss gegebenenfalls eingestellt werden. Falls sich hierbei eine Ausfällung bildet, sollte die Probe gut homogenisiert werden.</p>
<p><b>2. Verdünnungswasser, BSB<sub>5</sub>-Nährlösungen und Impfwasser</b> Die Herstellung und Handhabung von Verdünnungswasser ist im BSB<sub>5</sub>-Zubehörsatz (REF 916 918) ausführlich beschrieben. Einsatz und Anwendung von BSB<sub>5</sub>-Nährsalzlösungen und Impfwasser entnehmen Sie bitte den Gebrauchsanweisungen zu den Reagenziensätzen BSB<sub>5</sub>-Nährsalzgemisch (REF 918 994) bzw. BSB<sub>5</sub>-Nährsalzgemisch PLUS (REF 918 995). Bitte beachten Sie die dort angegebenen Kenndaten.</p>

<b>Arbeitsschritt 1: Kontrollansatz</b>
<p>Man füllt in eine 1-l-Laborflasche (BSB<sub>5</sub>-Zubehörsatz) <b>500 ml</b> belüftetes Verdünnungswasser und <b>2,5 ml</b> Nährsalzlösung (1,25 ml R1 + 1,25 ml R2 von BSB<sub>5</sub>-Nährsalzgemisch, REF 918 994/995), verschließt das Gefäß und mischt unter kräftigem Schütteln (<b>Kontrollansatz</b>).</p>
<p><b>1</b> Sauerstoff-Flasche nach Winkler und <b>1</b> Rundkuvette öffnen, mit einigen Millilitern des Kontrollansatzes vorspülen und <b>luftblasenfrei</b> bis zum Überlaufen auffüllen.</p>
<p>Sauerstoff-Flasche nach Winkler durch langsames Eindrücken des abgechrägten Glasstopfens <b>luftblasenfrei</b> verschließen und im Wasserbad oder Temperierschrank <b>5 Tage</b> im Dunkeln bei <b>20 ± 1 °C</b> inkubieren.</p>
<p>Rundkuvette <b>luftblasenfrei</b> verschließen und sofort eine Sauerstoffmessung gemäß <b>Arbeitsschritt 3</b> durchführen.</p>

<b>Arbeitsschritt 2: Probenansatz</b>							
<p>Je nach dem zu erwartenden BSB<sub>5</sub> einer Probe wird in einer 1-l-Laborflasche die günstigste Verdünnung gemäß der nachfolgenden Tabelle hergestellt.</p> <p><i>Liegen hinsichtlich des zu erwartenden BSB<sub>5</sub> keine Erfahrungen vor, sollten zur sicheren Bestimmung mindestens zwei, besser sogar drei verschiedene Verdünnungen einer Probe angesetzt werden. Zur Erhöhung der Ergebnis-sicherheit empfehlen wir generell den Ansatz von <b>Doppelbestimmungen</b>.</i></p>							
erwarteter BSB <sub>5</sub> [mg/l O <sub>2</sub> ]	Verdünnung	Beispiele für typische Wässer	Probe [ml]	Belüftetes Verdünnungswasser [ml]	Nährsalz lösung* [ml]		
					R1	R2	
< 5	1 : 1	F	500	0	1,25	1,25	
4 – 12	1 : 2	F, B	250	250	1,25	1,25	
10 – 30	1 : 5	F, B	100	400	1,25	1,25	
20 – 60	1 : 10	B	50	450	1,25	1,25	
40 – 120	1 : 20	G	25	475	1,25	1,25	
100 – 300	1 : 50	G, R	10	490	1,25	1,25	
200 – 600	1 : 100	G, R	5	495	1,25	1,25	
400 – 1200	1 : 200	R, I	2	398	1,0	1,0	
800 – 2400	1 : 400	I	1	399	1,0	1,0	
1000 – 3000	1 : 500	I	1	499	1,25	1,25	
* BSB <sub>5</sub> -Nährsalzgemisch (REF 918 994) oder BSB <sub>5</sub> -Nährsalzgemisch PLUS (REF 918 995)							
<p>F = Flusswasser                      B = Biologisch gereinigtes kommunales Abwasser                      G = Geklärtes kommunales Abwasser oder leicht verschmutztes Industrieabwasser                      R = Kommunales Rohabwasser                      I = Stark verschmutztes Industrieabwasser</p>							
Verschließen der Laborflasche nach Herstellung des <b>Probenansatzes</b> anhand obiger Tabelle und Mischen unter kräftigem Schütteln.							
<p><b>1</b> Sauerstoff-Flasche nach Winkler und  <b>1</b> Rundkuvette öffnen, mit einigen Millilitern des Verdünnungsansatzes der Probe vorspülen und <b>luftblasenfrei</b> bis zum Überlaufen auffüllen.</p>							
Sauerstoff-Flasche nach Winkler durch langsames Eindrücken des abge-schrägten Glasstopfens <b>luftblasenfrei</b> verschließen und im Wasserbad oder Temperierschrank <b>5 Tage</b> im Dunklen bei <b>20 ± 1 °C</b> inkubieren.							
Rundkuvette <b>luftblasenfrei</b> verschließen und sofort eine Sauerstoffmes-sung gemäß <b>Arbeitsschritt 3</b> durchführen.							
<b>Bei allen weiteren Verdünnungen einer Probe bzw. allen weiteren Pro-ben auf die gleiche Weise verfahren.</b>							

### Arbeitsschritt 3: Sauerstoffmessung

**Sauerstoffmessung an Tag 0:** Bei den zu Versuchsbeginn an **Tag 0** bereits abgefüllten Rundküvetten wird sofort mit der Durchführung der Sauerstoffbestimmung begonnen.

**Sauerstoffmessung an Tag 5:** Bei der Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in den angesetzten Winkler-Flaschen nach **5 Tagen** wird zunächst pro Winkler-Flasche eine, bei Doppelbestimmungen zwei, Rundküvetten bis zum Überlaufen mit dem zu prüfenden Wasser gefüllt und **luftblasenfrei** verschlossen. Anschließend wird verfahren wie unter „Durchführung“ beschrieben.

#### Durchführung:

Mit dem Kontrollansatz bzw. dem Probenansatz gefüllte Rundküvette öffnen,

**2 Tropfen** BSB<sub>5</sub> R1 zugeben,

**2 Tropfen** BSB<sub>5</sub> R2 zugeben, **luftblasenfrei** verschließen und zum Verteilen schütteln. **2 min** warten.

Rundküvette öffnen,

**5 Tropfen** BSB<sub>5</sub> R3 zugeben, **luftblasenfrei** verschließen und schwenken, bis der Niederschlag aufgelöst ist.

Rundküvette außen säubern und messen.

Messung:

Methode **8221** aufrufen.

Sauerstoffkonzentration jeder Küvette durch Drücken der Taste **[M]** messen.

Die nach den einzelnen Messungen an Tag 0 und Tag 5 im Display des Photometers angezeigten Sauerstoffkonzentrationen für die anschließende Auswertung sorgfältig notieren.

### Arbeitsschritt 4: Auswertung

**Sauerstoffverbrauch des Verdünnungswassers O<sub>v</sub> (Kontrollansatz):**

$$O_v = O_{v0} - O_{v5}$$

O<sub>v0</sub> = Sauerstoffgehalt des Kontrollansatzes zu Versuchsbeginn (Tag 0)

O<sub>v5</sub> = Sauerstoffgehalt des Kontrollansatzes zu Versuchsende (Tag 5)

**Sauerstoffverbrauch der Probe O<sub>p</sub> (Probenansatz):**

$$O_p = O_{p0} - O_{p5}$$

O<sub>p0</sub> = Sauerstoffgehalt des Probenansatzes zu Versuchsbeginn (Tag 0)

O<sub>p5</sub> = Sauerstoffgehalt des Probenansatzes zu Versuchsende (Tag 5)

**Berechnung des BSB<sub>5</sub>:**

$$\text{BSB}_5 [\text{mg/l O}_2] = V \times (O_p - O_v) + O_v$$

V = Reziprokwert der Probenverdünnung

(z. B. Probenverdünnung 1:200 → V = 200)

Analytische

Qualitätssicherung:

Literatur:

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

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DIN EN 1899-1-H51 und DIN EN 25 813-G21)