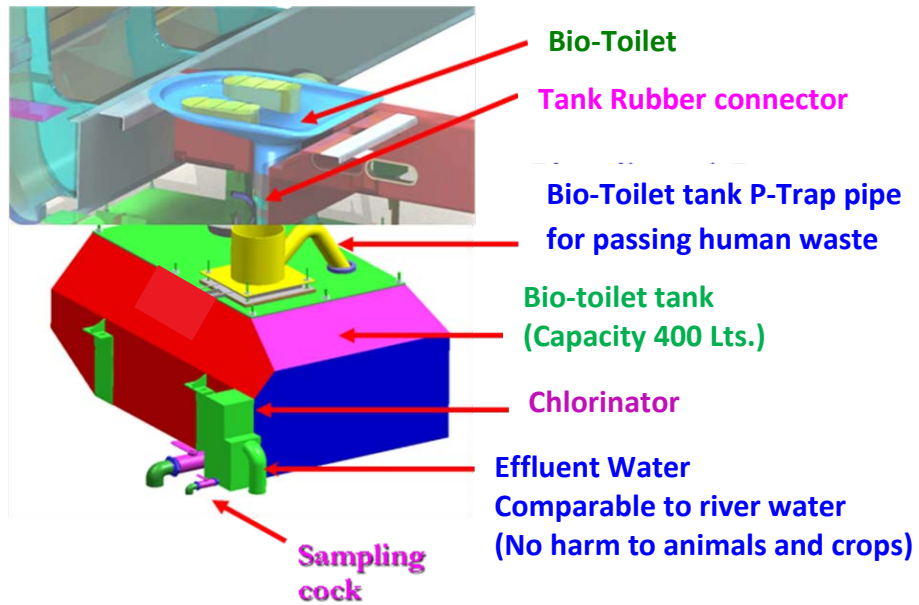




(Govt. of India)
(Ministry of Railways)

HAND BOOK ON TESTING SCHEME FOR BIO-TOILET EFFLUENT & BACTERIAL CULTURE (INOCULUM)

बायो-टॉयलेट एफ्ल्यूएन्ट तथा
बेक्टीरिया कल्चर (इनोकुलम) की टेस्टिंग स्कीम



DRDE/GWL L.No.: BT/BKB/002/Biodig/2011-12 dated 26.03.2012
RDSO/LKO L.No.: MC/CB/LF/Anaerobic dated 15.05.2012
RDSO Doc No. RDSO/2010/CG/TS-10 Revision 04 dated 19.11.2012
IRCAMTECH/GWL/MECH/Bio-Toilets Test Scheme

अभ्यास RDS
रेल अग्रदूत Transforming Railways



Indian Railways
Centre for Advanced Maintenance Technology

Maharajpur, Gwalior (MP) - 474005

INDEX

SN	Description	Page
	Testing Scheme for Bio-Toilet Effluent and Bacterial culture (Inoculum) on Indian Railways.	2
	बैक्टीरिया कल्चर (इनोकुलम) तथा बायो टायलेट से बाहर निकलने वाले पानी (एफ्ल्यूएन्ट) की टेस्टिंग करने की विधियाँ	3
(A)	Testing Scheme for Bio-Toilet Effluent in Coaching Depots.	6
1	pH Value Test	6
	pH मानक परीक्षण (विस्तृत पद्धति)	8
	pH Value Test (Simplified Procedure):	9
	pH मानक परीक्षण (साधारण पद्धति)	10
2.	Total Solids (TS) Test:	11
	टोटल सॉलिड परीक्षण	13
3.	Total Dissolved Solids (TDS):	15
	कुल डिजोल्वड सॉलिड परीक्षण (विस्तृत पद्धति)	17
	Total Dissolved Solids (TDS) (Simplified Procedure)	19
	कुल डिजोल्वड सॉलिड परीक्षण (साधारण पद्धति)	20
4.	Total Volatile Solids (TVS):	21
	कुल वोलाटाइल सॉलिड परीक्षण	23
5.	Chemical Oxygen Demand (COD) Test	24
	केमिकल आक्सीजन डिमांड परीक्षण	27
6.	Fecal Coli Forms count:	30
	फिकल कॉली फॉर्मस	34
(B)	Testing Scheme for Bacteria Culture (Microbial Inoculum)	37
1.	pH Value Test	37
	pH मानक परीक्षण	38
2.	Bio-gas Test	39
	बायोगैस उपलब्धता जाँच परीक्षण	40
3.	Percentage Methane Test	41
	मीथेन प्रतिशतता जाँच परीक्षण	42
4.	MPN Count for Methanogens	43
	माइक्रोवियल MPN पैरामीटर जाँच	47
(C)	Standard Proformas for Maintenance of Bio-Toilets	
1.	Standard Proforma for procedure of Sampling	57
2.	Bio-Toilet Maintenance Proforma	58
3.	Proforma of Field Trial of Bio-Toilet	59
4.	Provision of Stickers in Bio-Toilets	60-61
5.	List of Govt. Approved Environmental Lavatories	62

Testing Scheme for Bio-Toilet Effluent and Bacteria culture (Inoculum) on Indian Railways

On the basis of MoU between Indian Railways and DRDO, the bio toilet trial on IR is going on. For intensive monitoring of the Bio-Toilet system, a test scheme has been developed for implementation on IR after formal approval of RDSO/LKO. As per Railway Boards guidelines, the bio-toilet tanks i.e. Bio digesters are being fitted in the new coaches being turned out from RCF. At present, the initial charging of bacterial culture in the coaches is being done by DRDE/ Gwalior by providing Inoculum in the barrels. The quality check of the product and bio toilet effluent is also done according to ALPHA testing methods in DRDE by collecting samples from coaching depot / Gwalior,

As per Railway Board's guidelines, a 100 M3 capacity Inoculum generation plant has been developed in the Motibagh workshop in S.E.C. Railway, Nagpur and in future, similar plants are proposed to be developed in ICF and RCF also. Hence, it was felt necessary to develop lab sample testing facilities in Railways for doing minor testings in Railway premises/Railway Labs/ production units & major testings in Govt. approved labs. To cater the requirement of doing these tests efficiently, it has also been proposed to provide suitable training to Railway staff in liaison with DRDE so that proper monitoring can be ensured at appropriate level in the zonal Railways. Some of the minor tests of effluent of bio-toilets have been proposed to be carried out by coaching depot staff for which procedure has been explained in detail in this booklet.

The testing scheme for effluent & Bacterial culture(Inoculum) has been tentatively finalized by DRDE based on the past experience of 12 months trial, which should be carried out in the existing Railway Labs/ diesel sheds/ coaching depots. The necessary record of monitoring and testing should also be maintained & kept in the concerned depots. The critical biological tests which can not be carried out in the railway labs, such samples may be got tested in govt. labs/ DRDE. The critical tests which should be carried out in Govt. labs only, has been marked clearly against the test procedure in the booklet for ready reference.

(K.P.Yadav)
Director Mechanical
CAMTECH/Gwalior

बैक्टीरिया कल्चर (इनोकुलम) तथा बायो टॉयलेट से बाहर निकलने वाले पानी (एफल्यूएन्ट) की टेस्टिंग स्कीम

भारतीय रेल्वे एवं डीआरडीओ के बीच हुए एम.ओ.यू के आधार पर भारतीय रेलों पर बायो टॉयलेट का ट्रायल जारी है। इस प्रणाली की सघन मॉनीटरिंग के लिए आरडीएसओ/लखनऊ की औपचारिक स्वीकृति एवं अनुमोदन के पश्चात इसे लागू करने के लिए एक परीक्षण पद्धति विकसित की गई है। रेल्वे बोर्ड के दिशा निर्देशानुसार आरसीएफ के द्वारा नए बनाए गए कोचों के टॉयलेट में बायो टॉयलेट टैंक लगाए जाने लगे हैं। वर्तमान में इन टैंकों की प्रारम्भिक चार्जिंग DRDE ग्वालियर से बैक्टीरिया /इनोकुलम प्राप्त करने के पश्चात कोचिंग डिपो में प्रारम्भ की जा रही है। इस कल्चर की गुणवत्ता की जाँच DRDE ग्वालियर द्वारा ग्वालियर कोचिंग डिपो से सैम्पल प्राप्त करके की जाती रही है। साथ ही कोच के बायो टॉयलेट टैंक से निकलने वाले पानी का परीक्षण भी अल्फा परीक्षण विधि से निर्धारित नियमानुसार सैम्पल प्राप्त करके DRDE/ग्वालियर द्वारा किया जा रहा है।

रेल्वे बोर्ड के निर्देशानुसार 100 घन मीटर क्षमता का बैक्टीरिया उत्पादन करने वाला प्लांट दक्षिण मध्य रेल के मोतीबाग कारखाना नागपुर में स्थापित किया जा रहा है, साथ ही ICF चेन्नई तथा RCF कपूरथला को भी भविष्य में इसी प्रकार के प्लांट रेल्वे बोर्ड के निर्देशानुसार लगाना प्रस्तावित है, अतः यह आवश्यक हो गया था कि उत्पाद का परीक्षण निर्धारित नियम एवं शर्तों के अधीन रेल्वे क्षेत्र की लेब में ही किया जाय एवं इस कार्य हेतु उत्पादन ईकाइयों/कारखानों के लेब कर्मचारियों को इस कार्य में दक्षता हेतु DRDE ग्वालियर में किए जाने वाले विभिन्न परीक्षणों को करने हेतु विशेष प्रशिक्षण दिया जाय। इसी प्रकार बायो टॉयलेट से निकलने वाले पानी का परीक्षण भी रेल्वे में स्थापित लेब के डिपो कर्मचारियों द्वारा ही किए जाने के निर्देश रेल्वे बोर्ड द्वारा जारी किए गए हैं जिसकी क्रिया विधि विस्तार से बताई गई है।

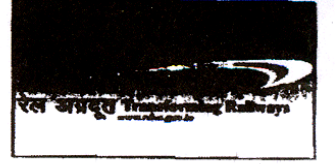
बायो-टॉयलेट के एफल्यूएन्ट तथा बैक्टीरिया कल्चर (इनोकुलम) के लेब परीक्षण की रूपरेखा DRDE/ग्वालियर द्वारा पिछले बारह माह के ट्रायल के पश्चात अन्तरिम रूप से निर्धारित की गयी है जिसको वर्तमान में रेल्वे लेबों/डीजल शेड/कोचिंग डिपो में किया जाना चाहिए। परीक्षणों की मॉनीटरिंग का आवश्यक रिकार्ड सम्बन्धित डिपो में रखा जाना चाहिए। महत्वपूर्ण बायोलॉजिकल परीक्षण जो रेल्वे लेब में नहीं किए जा सकते हैं, उन सैम्पलों की जाँच सरकारी लेब/DRDE से करा सकते हैं। ऐसे महत्वपूर्ण परीक्षण जिनको केवल सरकारी लेब में किया जाना चाहिए इनको स्पष्टरूप से उन परीक्षणों की क्रिया विधि के सामने इस बुकलेट में दर्शाया गया है।

(के.पी.यादव)
निदेशक यांत्रिक,
कैमटेक, ग्वालियर



सरकार भारत
संयुक्त प्रयत्न और मानक संगठन
मुंबई - 226 011
टि. ए. ए. (0522) 2451201
फै. (0522) 2458500

Government of India-Ministry of Railways
Research Designs & Standards Organisation
Lucknow - 226 011
DID (0522) 2450115
DID (0522) 2465316



No. MC/CB/LF/Anaerobic

Dated. 12.11.2012

मुख्य चल स्टोक अभियन्ता (कोचिंग)

1. मध्य रेलवे, छत्रपति शिवाजी टर्मिनस, मुम्बई- 400 001.
2. पूर्व रेलवे, फेयरली प्लेस, कोलकाता- 700 001.
3. उत्तररेलवे, बड़ौदा हाउस, नई दिल्ली- 110 001.
4. दक्षिण रेलवे, पार्क टाउन, चेन्नई- 600 003.
5. दक्षिण मध्य रेलवे, रेल निलयम, सिकन्दराबाद- 500 071.
6. दक्षिण पूर्व रेलवे, गार्डेन रीच, कोलकाता- 700 043.
7. पूर्वोत्तर रेलवे, गोरखपुर- 273 012.
8. पूर्वोत्तर सीमान्त रेलवे, मालीगाँव, गुवाहाटी- 781 011.
9. पश्चिम रेलवे, चर्चगेट, मुम्बई- 400 020.
10. पूर्व मध्य रेलवे, हाजीपुर- 844 101.
11. पूर्वोत्तर रेलवे, बीडीए रेंटलकालोनी, रेलवे काम्प्लेक्स, चन्द्रशेखरपुरा, भुवनेश्वर, उड़ीसा- 751 016.
12. उत्तर मध्य रेलवे, हास्टिंग रोड, इलाहाबाद- 211 001.
13. उत्तर पश्चिम रेलवे, जयपुर- 302 006.
14. दक्षिण पश्चिम रेलवे, हुबली- 580 023.
15. पश्चिम मध्य रेलवे, जबलपुर- 482 001.
16. दक्षिण पूर्व मध्य रेलवे, आरई आफिस काम्प्लेक्स, बिलासपुर- 495 004.

Sub: Issue of trial/test scheme for field trial of bio toilets (DRDE Technology) on Indian Railway Passenger Coaches.

Ref: 1. Item No. 12 of the MOM of 7th JWG held at RDSO on 01.10.2012.
2. This office letter of even No. dated 21.06.2012

Please find enclosed revised trial/test scheme number RDSO/2010/CG/TS10 Rev-04 incorporating the sampling procedure for the effluent of IR DRDO Bio Toilets along with the list of Government accredited test labs, based on the inputs given by DRDE Gwalior for field trial of IR-DRDE type Bio-toilets. It is for your kind information and necessary action.

Enclosure: As above

(विनय श्रीवास्तव)
निदेशक/एसएस/सवारीडिब्बा

प्रतिलिपि :-

1. मुख्य अभिकल्प अभियन्ता, इन्टीगरल कोच फैक्ट्री, चेन्नई- 600 038.
2. मुख्य अभिकल्प अभियन्ता, रेल कोच फैक्ट्री, बड़ौदा, गुजरात- 391 001.

Government of India
Ministry of Defence
Defence R&D Organization
Defence R&D Establishment
Jhansi Road, Gwalior- 474 002
(MP) INDIA



Gram : DEFRES
Telex : 0786- 212
Phone : 0751-2340354, 2340245,
2341848 Ext 270
Fax : 91-751-2341148
Email : drde@sancharnet.in
Date : 26.03.2012

Ref: BT/ BKB/ 002/biodig/2011-12

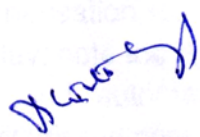
To,

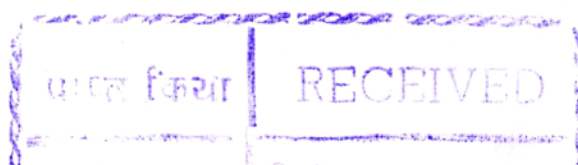
The Executive Director,
Centre for Advanced maintenance technology (CAMTECH)
Maharajpur, Gwalior – 474 005

Sub: IR- DRDO Bio- toilets.

Ref: IRCAMTECH/GWL/M/Bio –Toilets dated 27.02.2012

Please find enclosed herewith the test procedures developed for bacterial inoculum facility and effluent discharge parameters.


(Dr. B.K. Bhattacharya)
Scientist 'G'
Head, Biotechnology Division



Testing Scheme for Bio-Toilet Effluent and Bacterial culture (Inoculum)

For proper monitoring of Bio-Toilet system, timely testing of samples should be ensured at appropriate level in the zonal Railways. Following 04 lab tests for effluent of bio-toilets have been proposed to be carried out by coaching depot staff for which procedure has been explained in detail in this hand book.

The Testing Scheme for Effluent & Bacterial culture (Inoculum) has been tentatively finalized by DRDE/GWL based on the past experience of 12 months trial, which should be carried out in the existing Railway Labs/ diesel sheds/ coaching depots. The necessary record of monitoring and testing should also be maintained & kept in the Coaching depots. The critical biological tests like COD test and Fecal Coli Forms count & MPN count for methanogens which can not be carried out in the railway labs, should be got tested in govt. labs/ DRDE. For more details & guidelines on lab sample testing, refer RDSO Doc No. RDSO/2010/CG/TS-10 Revision 04 dated 19.11.2012.

SN	Name of Lab Test	Place of Test
(A)	Testing Scheme for Bio-Toilet Effluent in Coaching Depots.	
1	pH Value Test	In Coaching Depot
	pH मानक परीक्षण (विस्तृत पद्धति)	कोचिंग डिपो में
	pH Value Test (Simlified Procedure):	In Coaching Depot
	pH मानक परीक्षण (साधारण पद्धति)	कोचिंग डिपो में
2.	Total Solids (TS) Test:	In Coaching Depot
	टोटल सॉलिड परीक्षण	कोचिंग डिपो में
3.	Total Dissolved Solids (TDS):	In Coaching Depot
	कुल डिजोल्वड सॉलिड परीक्षण (विस्तृत पद्धति)	कोचिंग डिपो में
	Total Dissolved Solids (TDS) (Simplified Procedure)	In Coaching Depot
	कुल डिजोल्वड सॉलिड परीक्षण (साधारण पद्धति)	कोचिंग डिपो में
4.	Total Volatile Solids (TVS):	In Coaching Depot
	कुल वोलाटाइल सॉलिड परीक्षण	कोचिंग डिपो में
5.	Chemical Oxygen Demand (COD) Test	Govt. Appd. Lab/DRDE
	केमिकल आक्सीजन डिमांड परीक्षण	सरकारी लेब / डीआरडी
6.	Fecal Coli Forms count:	Govt. Appd. Lab/DRDE
	फिकल कॉली फॉर्मिस	सरकारी लेब / डीआरडी
(B)	Testing Scheme for Bacteria Culture (Microbial Inoculum)	
1.	pH Value Test	At Bacteria Plant
	pH मानक परीक्षण	बैक्टीरिया प्लांट पर
2.	Bio-gas Test	At Bacteria Plant
	बायोगैस उपलब्धता जाँच परीक्षण	बैक्टीरिया प्लांट पर
3.	Percentage Methane Test	At Bacteria Plant
	मीथेन प्रतिशतता जाँच परीक्षण	बैक्टीरिया प्लांट पर
4.	MPN Count for Methanogens	DRDE/GWL
	माइक्रोवियल MPN पैरामीटर जाँच	सरकारी लेब / डीआरडी

(A) Testing Scheme for Bio-Toilet Effluent in Coaching Depots.

Following tests and parameters have been recommended for effluent discharged after bio degradation from the bio toilets of coaches in Indian Railways.

1. pH Value Test:

To measure pH value of the effluent of bio toilets to ensure environmental safety.

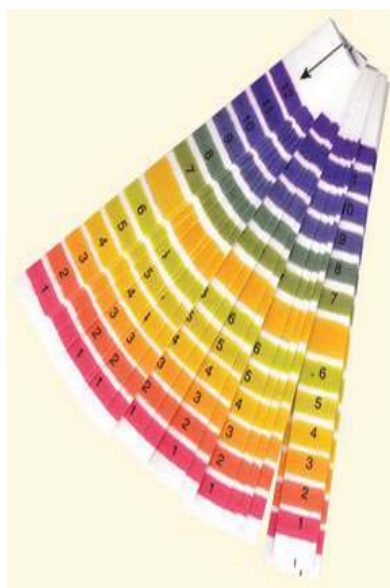
Table top pH meter



Portable pH meter



pH indicator strips



S. No.	Description	Details
1.	Purpose of test	To measure pH value of the effluent of bio toilets to ensure environmental safety.
2.	Target value	6 – 9 pH
3.	Equipments required	Table top pH meter / Portable pH meter / pH indicator strips & magnetic stirrer
4.	Consumables	pH calibration buffers (4.0, 7.0, 10.0), and magnetic stirrer bars
5.	Quantity of sample	50-100 ml
6.	Electricity requirement	Yes
7.	Frequency of sampling	90 days
8.	Testing spot	Railway laboratory
9.	Staff required	1

Procedure:

- First of all, take 02 ltrs. Effluent sample in the bottle from bio-toilet tank.
- Take 50 – 100 ml of mixed effluent sample in a beaker.
- Put a magnetic bar and keep the beaker on a magnetic stirrer and switch “on” the magnetic stirrer to mix it continuously.
- Wash the electrode and temperature compensation rod with distilled water and wipe it with tissue paper.
- Put the electrode and automatic temperature compensation rod into the sample and keep it until stable reading appears in the displays; note the reading.
- Discard the sample and wash the electrode and automatic temperature compensation rod with distilled water and wipe it with tissue paper.
- Keep the electrode back in the container.

Precaution: Do calibration with appropriate buffers before taking readings.

अ) कोचिंग डिपो के लिए एफ्ल्यूेंट परीक्षण स्कीम :

बायो टायलेट के टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूेंट की जाँच हेतु निम्न परीक्षण पैरा मीटर तथा पद्धति अनुमोदित की गई है।

1. pH मानक परीक्षण (विस्तृत पद्धति)

यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूेंट का सेम्पल लेकर उसमें पानी की pH वेल्यू का आकलन किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाले एफ्ल्यूेंट को दोष रहित बनाया जा सके।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	एफ्ल्यूेंट में उपलब्ध पानी की pH वेल्यू का आकलन करना
2.	परीक्षण पैरामीटर	टारगेट वेल्यू 6 से 9 pH (सीमा 6 से 9 pH)
3.	प्रयुक्त मीटर	टेबल टॉप pH मीटर / पोर्टेबल pH मीटर
4.	अन्य आवश्यक उपकरण	सभी रेन्ज के इंडीकेटर पेपर pH के साधारण परीक्षण हेतु मेग्नेटिक स्टिरर – बीकर में भरे द्रव्य को घुमाने हेतु फाइबर बीकर 100 ML क्षमता
5.	कंज्यूमेबल	pH – कैलीब्रेशन बफर (pH 4.0, 7.0, 10.0)
6.	जाँच जाने वाले सेम्पल की मात्रा	50 –100 मिलीलीटर
7.	विद्युत कनेक्शन	आवश्यक है
8.	सेम्पल जाँच करने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिन में बायोटैंक से सेम्पल लें
9.	परीक्षण स्थल	नामित रेल्वे लेब
10.	कर्मचारियों की आवश्यकता	01

परीक्षण विधि

- सर्वप्रथम बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूेंट का 2 लीटर सेम्पल बॉटल में भरें।
- लेब में उपलब्ध बीकर में ठीक से मिक्स किया हुआ 50–100 मिली एफ्ल्यूेंट भरें।
- pH मीटर को स्टेण्ड पर रखें तथा विद्युत कनेक्शन लगाएं।
- अब मेग्नेटिक स्टिरर पर बीकर को रखें। मेग्नेटिक बार को लगायें तथा लिक्विड को लगातार मिक्स करें जिससे कि एफ्ल्यूेंट ठीक से मिक्स हो जाए।
- अब इलेक्ट्रोड तथा टेम्प्रेचर कम्पनसेसन रॉड को डिस्टिल वाटर से साफ करें तथा टिश्यू पेपर से पोंछ लें।
- अब इलेक्ट्रोड तथा टेम्प्रेचर कम्पनसेसन रॉड को उसकी मार्कर लाइन तक बीकर के एफ्ल्यूेंट में डाल दें तथा डिस्प्ले में स्टेबल रीडिंग आने तक उसमें रखा रहने दें।
- pH मीटर के डिजिटल डिस्प्ले पर pH वेल्यू आयेगी जिसे रजिस्टर में दर्ज करें।
- इसके बाद pH सेन्सर को निकालकर डिस्टिल वाटर से साफ करें, टिश्यू पेपर से पोंछ लें तथा मशीन के साथ बॉक्स में रख दें।
- परीक्षण किए गए नमूने को नाली में फेंक दें एवं बीकर को साफ पानी से साफ करके रखें।

सावधानी:- रीडिंग लेने के पूर्व उपयुक्त बफर से कैलीब्रेशन अवश्य कर लिया जाए।

pH Value Test (Simlified Procedure):

To measure pH value of the effluent of bio toilets to ensure environmental safety.

S. No.	Description	Details
01	Purpose of test	To measure pH value of the effluent of bio toilets to ensure environmental safety.
02	Target value	6 – 9 pH
03	Equipments required	Portable pH meter
04	Other equipments	pH indicator paper of all ranges
05	Consumables	pH calibration buffers (4.0, 7.0, 10.0)
06	Quantity of sample	50-100 ml
07	Electricity requirement	Yes
08	Frequency of sampling	90 days
09	Testing spot	Railway laboratory
10	Staff required	01

Procedure:

- First of all, take 02 ltrs. Effluent sample in the bottle from bio-toilet tank.
- Take 50 – 100 ml of mixed effluent sample in a beaker.
- Put pH meter on the stand .
- Mix the liquid properly.
- Put the electrode of portable pH meter in the beaker until stable reading appears in the displays;
- Note the reading from display of Ph meter.
- Discard the sample and wash the electrode of pH meter with distilled water and wipe it with tissue paper.
- Keep the electrode back in the container.

Precaution: Do calibration with appropriate buffers before taking readings.

pH मानक परीक्षण (साधारण पद्धति)

यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफल्यूएन्ट का सेम्पल लेकर उसमें पानी की pH वैल्यू का आकलन किया जाता है।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	एफल्यूएन्ट में उपलब्ध पानी की pH वैल्यू का आकलन करना
2.	परीक्षण पैरामीटर	टारगेट वैल्यू 6 से 9 pH (सीमा 6 से 9 pH)
3.	प्रयुक्त मीटर	पोर्टेबल pH मीटर
4.	अन्य आवश्यक उपकरण	सभी रेन्ज के इंडीकेटर पेपर pH के साधारण परीक्षण हेतु फाइबर बीकर 100 ML क्षमता
5.	कंज्यूमेबल	pH – कैलीब्रेशन बफर (pH 4.0, 7.0, 10.0)
6.	जाँच जाने वाले सेम्पल की मात्रा	50 –100 मिलीलीटर
8.	विद्युत कनेक्शन	आवश्यक है
9.	सेम्पल जाँच करने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिन में बायोटैंक से सेम्पल लें
10.	परीक्षण स्थल	नामित रेल्वे लेब
11.	कर्मचारियों की आवश्यकता	01

परीक्षण विधि

- सर्वप्रथम बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफल्यूएन्ट का 1 लीटर सेम्पल बॉटल में भरें।
 - लेब में उपलब्ध बीकर में ठीक से मिक्स किया हुआ 50–100 मिली एफल्यूएन्ट भरें।
 - pH मीटर को स्टेण्ड पर रखें।
 - अब लिक्विड को लगातार मिक्स करें जिससे कि एफल्यूएन्ट ठीक से मिक्स हो जाए।
 - अब पोर्टेबल इलेक्ट्रोड उसकी मार्कर लाइन तक बीकर के एफल्यूएन्ट में डाल दें तथा डिस्प्ले में स्टेबल रीडिंग आने तक उसमें रखा रहने दें।
 - pH मीटर के डिजिटल डिस्प्ले पर pH वैल्यू आयेगी जिसे रजिस्टर में दर्ज करें।
 - इसके बाद pH सेन्सर को निकालकर डिस्टिल वाटर से साफ करें, टिश्यू पेपर से पोंछ लें तथा मशीन के साथ बॉक्स में रख दें।
 - परीक्षण किए गए नमूने को नाली में फेंक दें एवं बीकर को साफ पानी से साफ करके रखें।
- सावधानी:— रीडिंग लेने के पूर्व उपयुक्त बफर से कैलीब्रेशन अवश्य कर लिया जाए।**

2. Total Solids (TS) Test:

This test should be carried out to estimate amount of total solids available in the effluent.

Hot Air Oven



Weighing balance



Silica crucible

S. N	Description	Details
1.	Purpose of test	To estimate amount of total solids in the effluent.
2.	Set Target	<750 mg /100 ml
3.	Equipments required	Electronic weighing balance, pipettes, Silica crucible, Hot air oven, desiccators.
4.	Consumables	Self indicating silica gel.
5.	Quantity of sample	25 ml
6.	Electricity requirement	Yes
7.	Frequency of sampling	90 days
8.	Testing spot	Railway laboratory
9.	Staff required	1

Procedure:

- Heat an empty crucible and clean silica at 103 – 105°C for 1 hour in a hot air oven.
- Cool in desiccator to room temperature and take the initial weight.
- Pipette a measured volume of well mixed sample (25 ml).
- Keep the silica crucible in a hot air oven at 103 – 105°C for 1 hour; keep till the water gets dried or constant weight is achieved.
- Remove the silica crucible and keep it in desiccator until it reaches room temperature.

Note the final weight

Calculations:

$\text{mg total solids/ 100 ml} = (A - B) \times 100 \times 1000 / \text{Volume of sample (ml)}$

Where,

A – Weight of the dried residue + dish (g)

B - Weight of dish (g)

Note: Self indicating silica gel turns pale/ white if it absorbs moisture; activate it in oven @ 200°C till the colour turns blue.

बायो टायलेट टैंक से निकले पानी में उपलब्ध कुल सॉलिड परीक्षण

2. टोटल सॉलिड परीक्षण :

यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूएन्ट का सेम्पल लेकर कुल उपलब्ध सॉलिड्स की जाँच करने के लिए किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाले एफ्ल्यूएन्ट को दोष रहित बनाया जा सके।

क्र. सं.	उपकरणों का विवरण तथा निर्धारित सीमाएं	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूएन्ट का सेम्पल लेकर कुल उपलब्ध सॉलिड्स की जाँच की जाती है जिससे कि बाहर निकलने वाले एफ्ल्यूएन्ट को दोष रहित बनाया जा सके।
2.	परीक्षण पैरामीटर टारगेट	< 750 Mg / 100 ML
3.	प्रयुक्त मीटर/ उपकरण	1. हॉट एयर ओवन 2. इलेक्ट्रॉनिक वेइंग मशीन
4.	कंज्यूमेबल	सेल्फ इंडीकेटिंग सिलिका जैल
5.	अन्य आवश्यक उपकरण	सिलिका क्रयूसीवल – 150 ML कैपेसिटी पिपेट्स क्रयूसीवल को ठण्डा करने के लिए डिस्सीकेटर
6.	सेम्पल की मात्रा	25 ML
7.	विद्युत कनेक्शन	कनेक्शन चाहिए
8.	सेम्पल जाँचने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिन के अन्तर पर
9.	परीक्षण स्थल	नामित रेल्वे लेब
10.	कर्मचारियों की संख्या	01

परीक्षण पद्धति :-

- 150 मिली क्षमता की खाली सिलिका क्रयूसीवल को साफ करें एवं 1 घण्टे तक 103–105°C तापमान तक हॉट एयर ओवन में गर्म करें।
- अब इसे डिस्सीकेटर में रखकर कमरे के तापमान तक ठण्डा करें तथा प्रारम्भिक तौल कर लें।
- अब ठीक से मिक्स किया हुआ 25 मिली सेम्पल पिपेट से लेकर क्रयूसीवल में डालें एवं उसको तौल लें।
- सेम्पल की इतनी मात्रा प्रयोग में लें कि उसका रेजिड्युअल भार 2.5 से 200 मिलीग्राम के मध्य हो।
- अब प्राप्त सॉलिड को हॉट एयर ओवन में 103–105°C तापमान पर 01 घण्टे के लिए सुखाएं जिससे कि पानी सूख जाए।
- ड्राई होने के बाद इसको ओवन से डिस्सीकेटर में निकाल कर रख दें तथा कमरे के तापमान तक ठण्डा होने के बाद उसको तौल लें एवं फाइनल वजन को नोट करें।

कैलकुलेशन: मिग्रा कुल सॉलिड / 100मिली=(A-B)x100 x1000 / सैम्पल का वॉल्यूम ML

जहाँ

A = सुखाया गया प्राप्त सॉलिड + डिश (g)

B = खाली डिश का वजन (g)

नोट:— सेल्फ इंडीकेटिंग सिलिका जैल नमी को सोखने के कारण पीला अथवा सफेद रंग में बदल जाता है, ऐसा होने पर सिलिका जैल को ओवन में 200⁰C तापमान पर तब तक गर्म करें जब तक कि इसका रंग नीला न हो जाए।

3. Total Dissolved Solids (TDS):

This test should be carried out to estimate amount of total dissolved solids available in the effluent.

Hot Air Oven



Weighing balance



Silica crucible



Filter flask

S. N	Description	Details
1.	Purpose of test	To estimate amount of total dissolved solids in the effluent.
2.	Target value	< 350 mg /100 ml
3.	Equipments required	Electronic weighing balance, pipettes, Silica crucibles, Hot air oven, desiccators, filter assembly, vacuum pump
4.	Consumable	Self indicating silica gel. Whatman Glass wool filters
5.	Quantity of sample	25 ml
6.	Electricity requirement	Yes
7.	Frequency of sampling	90 days
8.	Testing spot	Railway laboratory
9.	Staff required	1

Procedure:

1. Heat an empty and clean silica crucible at $180 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 1 to 2 hour in a hot air oven, cool it in desiccator to room temperature and weight.
2. Insert disc and filter assembly, apply vacuum and wash disc with three successive 20-mL volumes of reagent grade water.
3. Dry it in a hot air oven at $180 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 1 hour in an oven. Store in desiccators until needed. Weigh immediately before use.
4. Stir sample with a magnetic stirrer and pipette a measured volume (25 ml) into a glass fiber filter with applied vacuum.
5. Wash with three successive 10-ml volume of distilled water, allowing complete drainage between washings.
6. Transfer total filtrate (with washings) to a pre-weighed clean silica crucible.
7. Dry it in a hot air oven at $180 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 1 hour in an oven. Cool it in desiccators to room temperature. Note the final weight

Calculations:

$\text{mg total dissolved solids/ 100 ml} = (A - B) \times 100 \times 1000 / \text{Volume of sample (ml)}$

Where,

A – Weight of the dried residue + dish (g)

B - Weight of dish (g)

3. कुल डिजोल्ड सॉलिड परीक्षण (विस्तृत पद्धति):

सेम्पल के एप्ल्यून्ट में कुल डिजोल्ड सॉलिड्स की उपलब्धता की जाँच हेतु इस परीक्षण को किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाला टायलेट का पानी दोष रहित किया जा सके।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एप्ल्यून्ट में उपस्थित कुल उपलब्ध डिजोल्ड सॉलिड्स की जाँच हेतु किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाले एप्ल्यून्ट को दोष रहित किया जा सके।
2.	परीक्षण पैरामीटर टारगेट	< 350 Mg / 100 मिली
3.	प्रयुक्त मीटर/ उपकरण	हॉट एयर ओवन क्रयूसीवल को ठण्डा करने के लिए डिस्सीकेटर ग्लास फाइबर फिल्टर एसेम्बली डिस्क के साथ वेक्यूम पम्प डिस्क के साथ इलेक्ट्रॉनिक बेइंग बेलेन्स मेग्नेटिक स्टिरर
4.	कंज्यूमेबल	सेल्फ इंडीकेटिंग सिलिका जैल, व्हाटमेन ग्लासबूल फिल्टर
5.	अन्य आवश्यक उपकरण	सिलिका क्रयूसीवल – 150 ML कैपेसिटी पिपेट
6.	सेम्पल की मात्रा	25 ML
7.	विद्युत कनेक्शन	कनेक्शन चाहिए
8.	सेम्पल जाँचने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिन के अन्तर पर
9.	परीक्षण स्थल	नामित रेलवे लेब
10.	कर्मचारियों की संख्या	01

परीक्षण पद्धति :-

- सर्वप्रथम उपरोक्त सभी उपकरणों की उपलब्धता लेब में होना सुनिश्चित करें।
- अब खाली सिलिका क्रयूसीवल को लगभग $180^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ तक 1 घण्टे तक हॉट एयर ओवन में गर्म करें, ड्राई होने के बाद इसे डिस्सीकेटर में निकाल कर रख दें तथा ठण्डा होने के बाद उसे तौल लें।
- अब ग्लास फाइबर फिल्टर एसेम्बली में डिस्क लगाएं, वेक्यूम पम्प चलाएं तथा डिस्क को 20 मिली रीजेन्ट ग्रेड पानी से 3 बार वेक्यूम की सहायता से साफ करें।
- अब आवश्यकतानुसार क्रयूसीवल को हॉट एयर ओवन में $180 \pm 2^{\circ}\text{C}$ तक 1 घण्टे के लिए सुखाएं। ड्राई होने के बाद इसे डिस्सीकेटर में रखें तथा उपयोग से पहले तौल कर लें।
- सेम्पल को ठीक से मिक्स करें फिर 25 ML सेम्पल लें तथा इसको मेग्नेटिक स्टिरर से मिक्स करके पिपेट की सहायता से ग्लास फाइबर फिल्टर एसेम्बली में डाल दें तथा वेक्यूम की सहायता से फिल्टर करें।

6. 10ML वॉल्यूम के डिस्टिल वाटर से 3 बार साफ करें। साफ करते समय ध्यान रखें कि प्रत्येक सफाई के दौरान पानी पूर्ण रूप से ड्रेन हो जाए।
7. फिल्टरेट को पहले से तौली हुई साफ क्रयूसीवल में स्थानान्तरित करें। सेम्पल की इतनी मात्रा प्रयोग में लें कि बचा हुआ सॉलिड लगभग 2.5 से 200 मिग्रा के मध्य रहे।
8. अब क्रयूसीवल को हॉट एयर ओवन में $180 \pm 2^\circ\text{C}$ तक पानी सूखने तक सुखाएं। ड्राई होने के बाद कमरे के तापमान तक ठण्डा करने के लिए इसे डिस्सीकेटर में रखें एवं फाइनल वजन को नोट करें।

कैलकुलेशन:mg कुल डिजोल्वड सॉलिड/100 मिली $= (A-B) \times 100 \times 1000 / \text{सेम्पल का वॉल्यूम (ML)}$

जहाँ **A** = सुखाए गए रेजीड्यू का वजन + डिश (g)
 B = खाली डिश का वजन (g)

Total Dissolved Solids (TDS) (Simplified Procedure):

This test should be carried out to estimate amount of total dissolved solids available in the effluent.

S. No.	Description	Details
01	Purpose of test	To estimate amount of total dissolved solids in the effluent.
02	Target value	< 350 mg /100 ml
03	Equipments required	Portable TDS meter
04	Other equipments	Beaker 100-150 ml
05	Quantity of sample	100 ml
06	Frequency of sampling	90 days
07	Testing spot	Railway laboratory
08	Staff required	01

Procedure:

1. Ensure availability of all the equipments and effluent in the lab.
2. Fill the sample effluent in the beaker and mix it properly.
3. Keep the TDS meter ON and put electrode in the beaker up to marking line.
4. TDS value will appear on the display of TDS meter. It should be noted.
5. Repeat the test again and record the TDS value in the register.

Portable TDS meter



कुल डिजोल्ड सॉलिड परीक्षण (साधारण पद्धति) :

सेम्पल के एप्ल्यून्ट में कुल डिजोल्ड सॉलिड्स की उपलब्धता की जाँच हेतु इस परीक्षण को किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाला टायलेट का पानी दोष रहित किया जा सके।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एप्ल्यून्ट में उपस्थित कुल उपलब्ध डिजोल्ड सॉलिड्स की जाँच हेतु किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाले एप्ल्यून्ट को दोष रहित किया जा सके।
2.	परीक्षण पैरामीटर टारगेट	< 350 Mg / 100 मिली
3.	प्रयुक्त मीटर/ उपकरण	पोर्टेबल टी.डी.एस. मीटर
4.	अन्य आवश्यक उपकरण	बीकर 100 – 150 ML कपेसिटी
5.	सेम्पल की मात्रा	100 ML
6.	सेम्पल जाँचने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिन के अन्तर पर
7.	परीक्षण स्थल	नामित रेलवे लेब
8.	कर्मचारियों की संख्या	01

परीक्षण पद्धति :-

1. सर्वप्रथम उपरोक्त सभी उपकरणों की उपलब्धता लेब में होना सुनिश्चित करें।
2. कांच के गिलास में सेंपल को भरें। उसके बाद लिक्विड को लगातार मिक्स करें जिससे कि एप्ल्यून्ट ठीक से मिक्स हो जाए।
3. अब टी.डी.एस. मीटर को आन करके इलेक्ट्रोड को गिलास में निशान तक डुबाएं।
4. मीटर के डिस्प्ले पर टी.डी.एस. की वेल्यू आएगी इसे नोट करें।
5. एक बार पुनः टेस्ट को दोहराएं एवं वेल्यू को रजिस्टर में दर्ज करें।

4. Total Volatile Solids (TVS):

This test should be carried out to estimate amount of total volatile solids available in the effluent.

In addition to equipments required in TDS test, muffle furnace is also used in this test



MUFFLE FURNACE

S. No.	Description	Details
1.	Purpose of test	To estimate amount of total volatile solids available in the effluent.
2.	Target value	< 500 mg /100 ml
3.	Equipments required	Electronic weighing balance, pipettes, Silica crucibles, Hot air oven, muffle furnace, desiccators, filter assembly.
4.	Consumable	Self indicating silica gel. Whatman Glass wool filters
5.	Quantity of sample	25 ml
6.	Electricity requirement	Yes
7.	Frequency of sampling	90 days
8.	Testing spot	Railway laboratory
9.	Staff required	1

Procedure:

1. Heat an empty and clean silica crucible at 550°C for 1/2 hour in muffle furnace.
2. Cool it in dissicator to room temperature and take the initial weight.
3. Pipette a measured volume of well mixed sample (25 ml) to a pre-weighed silica crucible.
4. Keep the silica crucible in a hot air oven at 103 – 105°C; keep till the water gets dried.
5. Remove the silica crucible and keep it in muffle furnace at 550°C for 1 hour.
6. Keep the silica crucibles in desiccators.
7. Note the final weight

Calculations: $\text{mg total volatile solids} / 100 \text{ ml} = (A - B) \times 100 / \text{Volume of sample (ml)}$

Where,

A – Total solids (mg)

B - Weight of the dried residue + dish (g) - Weight of dish (g) then convert the value to milli gram

Note: The total solids amount is calculated as described above.

4. कुल वोलाटाइल सॉलिड परीक्षण :

सेम्पल के एफ्ल्यूएन्ट में कुल उपलब्ध वोलाटाइल सॉलिड्स की उपलब्धता की जाँच हेतु इस परीक्षण को किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाला टायलेट का पानी दोष रहित किया जा सके।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	यह परीक्षण बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूएन्ट में उपस्थित कुल उपलब्ध वोलाटाइल सॉलिड्स की जाँच हेतु किया जाता है जिससे कि बाहर निकलने वाले एफ्ल्यूएन्ट को दोष रहित किया जा सके।
2.	परीक्षण पैरामीटर टारगेट	< 500 Mg / 100 मिली
3.	प्रयुक्त मीटर / उपकरण	हॉट एयर ओवन ग्लास फाइबर फिल्टर एसेम्बली डिस्क के साथ डिस्सीकेटर इलेक्ट्रॉनिक बेइंग बेलेंस मैग्नेटिक स्टिरर, मफल फरनेस
4.	कंज्यूमेबल	सेल्फ इंडीकेटिंग सिलिका जैल, व्हाटमेन ग्लासबूल फिल्टर
5.	अन्य आवश्यक उपकरण	सिलिका क्रयूसीवल – 150 ML केपेसिटी, पिपेट
6.	सेम्पल की मात्रा	25 ML
7.	विद्युत कनेक्शन	कनेक्शन चाहिए
8.	सेम्पल जाँचने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिन के अन्तर पर
9.	परीक्षण स्थल	नामित रेलवे लेब
10.	कर्मचारियों की संख्या	01

परीक्षण पद्धति :-

1. सर्वप्रथम उपरोक्त सभी उपकरणों की उपलब्धता लेब में होना सुनिश्चित करें।
2. अब खाली सिलिका क्रयूसीवल को 550°C तक 1 से 2 घण्टे तक मफल फरनेस में गर्म करें।
3. ड्राई होने के बाद इसे डिस्सीकेटर में निकाल कर रख दें तथा कमरे के तापमान तक ठण्डा होने के बाद उसे तौल लें।
4. अब 25 मिली ठीक से मिक्स किया हुआ सेम्पल को पिपेट में डालें तथा अब पहले से तौली हुई सिलिका क्रयूसीवल में भरें।
5. अब सिलिका क्रयूसीवल को हॉट एयर ओवन में 103 से 105°C तापमान पर पानी पूर्णरूप से सूखने तक रखें।
6. अब सिलिका क्रयूसीवल को निकालें तथा मफल फरनेस में 550°C पर 1घण्टे के लिए रखें।
7. डिस्सीकेटर में सिलिका क्रयूसीवल को ठण्डा करें।
8. फाइनल वजन को नोट करें।

कैलकुलेशन:mg कुल वोलाटाइल सॉलिड / 100 मिली=(A-B)×100 / सेम्पल का वॉल्यूम(ML)

जहाँ **A = कुल सॉलिड (mgs)**

B = सूखे रेजीड्यू का वजन+डिश(g)–डिश(g) का वजन (अब वेल्यू को मिलीग्राम में कन्वर्ट करें)।

5. Chemical Oxygen Demand (COD) Test:

This test should be carried out to estimate COD of the effluent to ensure environmental parameters.

S. No.	Description	Details
1.	Purpose of test	To estimate COD of the effluent to ensure environmental parameters.
2.	Target value	< 2000 mg O ₂ / Litre
3.	Equipments	COD digester along with digestion tubes and condensers, Burettes, magnetic stirrer, magnetic bars.
4.	Consumable required	Sulphuric Acid, Silver sulphate, mercuric chloride, potassium dichromate, ferroin indicator, ferrous ammonium sulphate.
5.	Quantity of sample	5-10 ml of sample
6.	Electricity requirement	Yes
7.	Frequency of sampling	90 days
8.	Testing spot	Govt. approved Labs./DRDE
9.	Staff required	01

Reagents:

- A. Standard potassium dichromate solutions (0.04167M)** – Dissolve 12.259 g K₂Cr₂O₇, previously dried at 150°C for 2 hours, in distilled water and dilute to 1000 ml.
- B. Sulfuric acid reagent:** Add Ag₂SO₄ crystals or power to concentrate H₂SO₄ at the rate of 5.5 g Ag₂SO₄ / Kg of H₂SO₄. Let it stand 1 or 2 days to dissolve.
- C. Ferroin indicator solution** : Dissolve 1.485 g of 1, 10 – phenanthroline monohydrate and 695 mg FeSO₄ .7 H₂O in distilled water dilute to 1000 ml.
- D. Standard Ferrous ammonium Sulphate titrant (0.25)** – Dissolve 98 g of Fe(NH₄)₂ .6 H₂O in distilled water. Add 20 ml con. H₂SO₄ , cool and dilute to 1 litre standardize this solution on the day of estimation against Standard potassium dichromate solution.

E. Mercuric sulphate - HgSO_4 crystals or powder.

F. Sulfamic acid – interference of nitrates is to be eliminated.

G. Potassium Hydrogen Phthalate: lightly crush and then dry KHP to constant weight at 110°C . Dissolve 425 mg in distilled water dilute to 1000 ml. KHP has a theoretical COD of 1.176 mg O_2 / mg and this solution has a theoretical COD of 500 $\mu\text{g O}_2$ / ml.

Procedure:

- Take 5 ml of sample and dilute it to 50 ml. (Note: In case higher COD samples dilute 100 times).
- Add 100 mg HgSO_4 , several glass beads/ Chemstones, and very slowly add 5.0 ml of sulfuric acid, with mixing to dissolve HgSO_4 .
- Cool while mixing to avoid possible loss of volatile materials.
- Add 25.0 ml 0.04167 M $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ solution and mix.
- Attach condenser to digestion tubes and cool the contents by swirling and mixing in running tap water.
- Add sulfuric acid reagent (20 ml) through open end of condenser.
- Continue swirling and mixing while adding sulfuric acid reagent.
- Cover open end of condenser with a small beaker / aluminum foil to prevent foreign material from entering refluxing mixture and to avoid possible loss of volatile materials.
- Do reflux / digestion for 2 hours @ 150°C .
- Cool and wash down condenser with distilled water.
- Disconnect reflux condenser and dilute mixture to about twice its volume with distilled water. Cool to room temperature.
- Titrate excess $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ with FAS, using 0.10 – 0.15 ml (2 – 3 drops) ferroin indicator.
- Observe sharp colour change from blue green to reddish brown that persists for 1 min or longer.
- Duplicate determinations should agree within 5% of their average.
- In the same manner reflux and titrate a blank containing the reagents and a volume of distilled water equal to that of sample.

Determination of a STD solution:

Evaluate the technique and quality of the reagents by conducting the test on a standard KHP solution.

Calculations:

$\text{COD (mg/ ml)} = (A-B) \times N \times 8000 \times \text{Dilution Factor} / \text{ml of sample}$

Where,

A – ml of FAS used for blank

B – ml of FAS used for sample

N – Molarity of FAS (0.25)

8000 – Mill equivalent weight of Oxygen.

Precautions:

1. Mix reflex mixture thoroughly before applying heat to prevent local heating of flask bottom and a possible blowout of flask contents.
2. Make dilution according to the COD range of the samples.
3. Ensure complete dissolution of silver sulphate in sulphuric acid reagent.
4. Store sulphuric acid reagent in a amber colored bottle in dark or wrap it with aluminum foil.
5. Wear lab coat and hand gloves during handling of acids.
6. Always add acid along the wall of the container to the water.
7. Do titration once the content reaches room temperature.

5. केमिकल आक्सीजन डिमांड परीक्षण—Chemical Oxygen Demand (COD)

यह परीक्षण एप्ल्यूएंट में कैमिकल आक्सीजन डिमान्ड (COD) की जानकारी प्राप्त करने हेतु किया जाता है ।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	एप्ल्यूएंट में कैमिकल आक्सीजन डिमान्ड (COD) की जानकारी प्राप्त करने हेतु ।
2.	परीक्षण पैरामीटर	< Max. 2000 mgO ₂ / लीटर
3.	प्रयुक्त मीटर/ उपकरण	COD डाइजेस्टर ट्यूब्स के साथ
4.	प्रयुक्त आवश्यक उपकरण	मेग्नेटिक मिक्सिंग प्लेटफार्म, कन्डेन्सर, ब्यूरेट, मेग्नेटिक स्टिरर, मेग्नेटिक बार आवश्यक रसायन
5.	कंजुमेबल्स	सल्फ्यूरिक एसिड, सिल्वर सल्फेट मरक्यूरिक क्लोराइड, पोटेशियम डाइक्रोमेट फेरोन इंडीकेटर, फेरस अमोनियम सल्फेट होमोजेनियस मेजरिंग सिलेन्डरस (25+100+500+1000 ML केपेसिटी) ग्लास बूल फिल्टर्स
6.	जाँच किए जाने वाले सेम्पल की मात्रा	5–10 मिली सेम्पल
7.	विद्युत कनेक्शन	आवश्यक है
8.	सेम्पल जाँचने की आवृत्ति	प्रत्येक 90 दिनों में
9.	परीक्षण स्थल	केवल सरकारी लेब / DRDE/ GWL
10.	कर्मचारियों की संख्या	01

उपयुक्त रसायन (Reagents)

A. स्टेण्डर्ड K₂Cr₂O₇ विलयन (0.04167 M) :-

12.2 gm K₂Cr₂O₇ को 2 घंटे के लिए 150°C पर हॉट एयर ओवन में ड्राई होने के लिए रखते हैं। फिर इसको ठण्डा होने के लिए डिस्सीकेटर में रखते हैं। ठण्डा होने के बाद इसे तौल लेते हैं एवं 1000 ML में घोलते हैं।

B. H₂SO₄ रसायन :- 2.5 लीटर H₂SO₄ (सान्द्र) में 5.5 ग्राम Ag₂SO₄/kg डालते हैं तथा इसे 1–2 दिन के लिए डिजोल्व होने के लिए रख देते हैं।

C. फेरियन इंडीकेटर विलयन :- 1.485 ग्राम का 1,10 फेनानथ्रोलिन मोनोहाइड्रेट तथा 695 मिग्राम F_eSO₄ · 7 H₂O को 1000 मिली डिस्टिल वाटर में घोलते हैं।

- D. **स्टेण्डर्ड फ़ैरस अमोनियम सल्फेट ट्राइटेट (0.25 M) :-** 98 ग्राम $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ को 1000 मिली डिस्टिल वाटर में घोलते हैं तथा 20 मिली सान्द्र H_2SO_4 मिलाते हैं तथा 1 लीटर तक डायलूट करते हैं। इस सोल्यूशन को एस्टीमेट करने वाले दिन के लिए (स्टेण्डर्ड पोटेशियम डाइक्रोमेट) हेतु स्टेण्डर्ड कर देते हैं।
- E. **मरक्यूरिक सल्फेट :-** HgSO_4 क्रिस्टल या पाउडर
- F. **सल्फेमिक एसिड :-** नाइट्रेट के इन्टरफ़ेरेन्स को दूर करने के लिए उपयोग करते हैं।
- G. **KHP (पोटेशियम हाइड्रोजन फथैलेट) :-** KHP हल्का क्रस करते हैं एवं 110°C पर ड्राई करते हैं तथा उपयोग करने से पहले 425 मि.ग्राम KHP को 1000 मिली में घोलते हैं। KHP की थ्योरिटीकल COD $1.176 \text{ mgO}_2/\text{mg}$ होती है तथा इस सोल्यूशन की थ्योरिटीकल COD $500 \text{ mgO}_2/\text{ML}$ होती है।

परीक्षण विधि :-

1. COD वैल्यू की गणना करने के लिए इनोकुलम के सेम्पल (नमूने) की कम मात्रा (5-10 मिली) लेते हैं तथा उसको 50 मिली तक डायलूट करते हैं।
2. अब 100 मि.ग्राम HgSO_4 , कुछ ग्लास वीड्स तथा 5 मिली H_2SO_4 उसमें धीरे धीरे डालकर ठीक प्रकार से मिक्स करने हेतु डालते हैं एवं इसे ठंडा करते हैं।
 - अब 25 मिली $0.04167 \text{ M K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ विलयन मिलाकर उसे मिक्स करते हैं।
 - फ्लास्क को कंडेन्सर से जोड़ देते हैं एवं फ्लास्क को घुमाते रहते हैं जिससे कि फ्लास्क गर्म नहीं हो पाता है।
 - अब 20 मिली H_2SO_4 मिलाते हैं तथा फ्लास्क को ओपिन एण्ड कन्डेशर में लगाकर ठंडा करते हैं।
 - अब फ्लास्क को लगातार घुमाते हुए एवं लिक्विड को मिक्स करते हुए H_2SO_4 रसायन मिलाते हैं।
 - छोटे बीकर से / एल्यूमीनियम फॉइल से कंडेसर के ओपिन एण्ड को कवर कर देते हैं जिससे कि बाहरी चीज न मिल सके।
 - अब 150°C पर 2 घंटे के लिए रीफ्लेक्स / डाइजेशन करते हैं।
 - कंडेसर को डिस्टिल वाटर से ठंडा करते हैं तथा साफ करते हैं।
 - अब रीफ्लेक्स कंडेसर को अलग कर देते हैं तथा मिक्सर को उसके दुगने वोल्यूम के लिए दो बार डिस्टिल वाटर से डायलूट करते हैं एवं ठंडा करते हैं।
 - अब अधिक $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ को FAS के साथ 0.10–0.15 मिली (2–3 ड्रॉप) फेरोन इंडीकेटर का प्रयोग करते हुए टाइट्रेट करते हैं।

- अब नीले-हरे से लाल-कथई रंग परिवर्तित होने की प्रक्रिया को देखें यह 1 मिनट या अधिक समय तक रहता है।
- डुप्लीकेट को उसके औसत के 5% तक के अनुपात में आना चाहिए।
- इसी प्रकार ब्लैंक कन्टेनिंग रीजेन्ट को सेम्पल के बराबर डिस्टिल वाटर से रीपलेक्स तथा टाइट्रेट करते हैं।

स्टैंडर्ड सोल्यूशन बनाना (Determination of STD solution)

स्टैंडर्ड KHP सोल्यूशन पर टेस्ट करके तकनीक का आकलन करें एवं रसायनों की क्वालिटी सुनिश्चित करें।

कैलकुलेशन:

$$\text{COD(mg/ML)} = (A-B) \times N \times 8000 \times \text{Dilution factor} / \text{ML of sample}$$

जहाँ A = ML of FAS (Use for blank)

 B = ML of FAS (Use for Sample)

 N = Molarity of FAS (0.25)

 8000 = Milliequivalent weight of Oxygen

सवधानियाँ :-

1. रीपलेक्स मिक्सचर को गर्म करने के पूर्व ठीक से मिक्स करें जिससे कि फ्लास्क की लॉकल वॉटम हीटिंग से बचा जा सके तथा फ्लास्क के द्रव से उफान न आ सके।
2. सेम्पलों की COD रेंज के अनुसार ही डायलूशन बनाएं।
3. सल्फ्यूरिक एसिड रीजेन्ट में सिल्वर सल्फेट को पूर्ण रूप से डिससोल्यूशन होना सुनिश्चित करें।
4. सल्फ्यूरिक एसिड रसायन को Amber रंग की बोतल में अंधेरे में रखें या एल्यूमीनियम foil में लपेटकर रखें।
5. एसिड की हेन्डलिंग के समय लैव कोट तथा दस्ताने अवश्य पहनें।
6. हमेशा वाटर कंटेनर की दीवार के किनारे पर ही एसिड भरें।
7. जब कन्टेन्ट रुम तापमान पर पहुँच जाए तो टाइट्रेशन करें।

6. Fecal Coli Forms count:

This test should be carried out to estimate the fecal coli form bacteria count on bio toilet effluent.

Laminar air flow chamber



Incubator



Micropipette



S. N	Description	Details
1.	Purpose of test	To estimate the fecal coli form bacteria count on effluent.
2.	Target value	> 99% reduction (Less than 10^8 /100 ML)
3.	Equipments	Laminar Air Flow Chamber, Incubator
4.	Consumables	Test tubes, FC media plates, spreaders, pipettes, conical flasks, Glass marker, magnetic stirrer.
5.	Quantity of sample	10 ml
6.	Electricity requirement	Yes
7.	Frequency of sampling	90 days
8.	Testing spot	Only in Govt. Labs.
9.	Staff required	01

Procedure:

Media & Plate Preparation:

A. Media Composition:

S. No.	Constituents	Amount (g/ L)
1.	Lactose	12.5
2.	Tryptone	1
3.	Protease Peptone	5
4.	Sodium chloride	5
5.	Yeast extract	3
6.	Bile salts	1.5
7.	Aniline blue	0.1
8.	Distilled water	1000 ml

1. Boil the media for 30 minutes, do not sterilize the media.
2. Add approximately 25 ml of cooled FC medium to each Petri dish. Upon solidification of the media close the lids and keep it for further use.

B. Dilution preparation:

1. Label 90 ml water blank conical flask as **No.1**(10^{-1}) and subsequent 9 ml water blank test tubes as **No. 2** (10^{-2}), **No. 3** (10^{-3}), **No. 4** (10^{-4}), **No. 5** (10^{-5}), **No. 6** (10^{-6}), **No. 7** (10^{-7}), **No. 8** (10^{-8}), with a glass marker.
2. Take 10 ml of well mixed effluent sample and add to 90 ml water blank to make (10^{-1}) dilution. (Note: Use sterile pipettes for transfer and carry out dilution in laminar air flow chamber)
3. Vigorously shake the dilution in a magnetic stirrer for 2 minutes to obtain uniform suspension.
4. Transfer 1 ml of suspension from No.1 into No.2 tube to make (10^{-2}) dilution and shake it vigorously for 1 min.
5. Make further dilutions as prepared above.

Note: Do estimation of fecal coli form count in human excreta for comparison and calculation.

C. Inoculation:

1. Place the spreader into a beaker containing 95% ethyl alcohol. Remove the spreader and pass it through burner flame. Burn off the alcohol completely and cool the rod for 30 to 45 seconds.
2. Transfer 0.1 ml (100 μ l) of suspension each from different dilution into 3 plates. Place it in the center of the plate.
3. Remove the Petri dish cover, with one hand touch the spreader gently on the surface of the agar and move it back and forth while rotating the plate with the other hand.
4. When the suspension gets dried or absorbed on the agar medium, replace the cover.
5. Incubate the plates in an upright position in an incubator at 44.5°C for 48 hours.

Observations:

1. Observe the plates for number and distribution of Blue/ Bluish tinged colonies. Do not consider white or creamy or dull white colonies.
2. Select the plate from the appropriate dilution which contains colonies in the range of 30 to 300 and make the plate counts.
3. Determine the average of the triplicate colony count.
4. Record your results.

Calculation:

Calculate fecal form count in terms of number of CFU / 100 ml by applying the following formulas.

$$\text{Fecal coli form count (CFU / 100 ml)} = \frac{\text{Mean plate count} \times \text{Dilution factor} \times 100}{\text{Volume of sample}}$$

$$\% \text{ reduction} = \frac{(\text{count in human excreta} - \text{count in sample}) \times 100}{\text{count in human excreta}}$$

Example

If 160 colonies were counted (average of 3 replicate) in 10^{-3} dilution the fecal coli form count would be:

$$\begin{aligned} \text{FC count (CFU / 100 ml)} &= \frac{160 \times 1000 \times 100}{0.1} \\ &= 1.6 \times 10^8 \end{aligned}$$

Precautions:

1. The sample should be mixed homogenously.
2. Each dilution must be thoroughly shaken before removing an aliquot for subsequent dilution.
3. Use separate sterile pipettes or tips for each dilution.
4. All dilution making and inoculation should be done in laminar air flow chamber.
5. The plates should be incubated in a upright position.
6. 25-30 ml media should be added to avoid cracking of medium during incubation.

6. फिकल कॉली फॉर्मस :

एफल्यूएन्ट में फिकल कॉली फॉर्मस बैक्टीरिया का आकलन करना।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	एफल्यूएन्ट में फिकल कॉली फॉर्मस बैक्टीरिया का आकलन करना।
2.	परीक्षण पैरामीटर	> 99% Reduction ($< 10^8$ CFU/100 ml)
3.	प्रयुक्त उपकरण	लेमीनार एयर फ्लो चैम्बर, इन्क्यूबेटर, मैग्नेटिक स्टिरर
4.	कंज्यूमेबल	टेस्ट ट्यूब, FC मीडिया प्लेट, स्प्रेडर, पिपेट, कॉनिकल फ्लास्क, ग्लास मार्कर
5.	सेम्पल की मात्रा	10 ML
6.	विद्युत कनेक्शन	कनेक्शन चाहिए
7.	सेम्पल जांचने की आवृत्ति	90 दिनों में
8.	परीक्षण स्थल	केवल Govt. लेब / DRDE में
9.	कर्मचारियों की संख्या	02

परीक्षण पद्धति :-

Media तथा plate preparation

A. मीडिया कंपोजीशन Media Composition:

क्रम	आइटम	Amount (मात्रा) (g/L)
1	लेक्टोज	12.5
2	ट्राइप्टोन	10
3	प्रोटीज पेप्टोन	5
4	सोडियम क्लोराइड	5
5	ईस्ट एक्स्ट्रेक्ट	3
6	बाइल साल्ट	1.5
7	एनिलीन ब्ल्यू	0.1
8	डिस्टिल वाटर	1000 ML

1. सर्वप्रथम मीडिया को 30 मिनट तक उबालें, इसे स्टेरिलाइज न करें।
2. प्रत्येक Petri Dish में लगभग 25 मिली. ठंडा FC मीडियम भरें। मीडिया के सॉलिड होने के बाद उपरी हिस्सा बंद कर दें तथा इसे आगे उपयोग के लिए रख लें।

B. डायल्यूशन की तैयारी :- (Dilution Preparation)

1. लेवल 90 ML वाटर ब्लैंक कोनिकल फ्लास्क नं. 1(10^{-1}) तथा दूसरा 9ML वाटर ब्लैंक टेस्ट ट्यूब नं. 2(10^{-2}), नं.3(10^{-3}), नं.4(10^{-4}), नं.5(10^{-5}), नं.6(10^{-6}), नं.7(10^{-7}), नं.8(10^{-8}) ग्लास मार्कर के साथ।

2. 10 मिली ठीक से मिक्स किया हुआ एप्यूलिंट का सेम्पल लें उसमें 90 ML वाटर ब्लैंक डाल दें जिससे कि (10^{-1}) डायलूशन बनाया जा सके।

नोट :- डायलूशन को लेमिनार एयर फ्लो चेम्बर में ले जाने/स्थानान्तरण करने के लिए स्टेरायल पिपेटस को ही प्रयोग में लें।

3. यूनीफोर्म सस्पेंशन प्राप्त करने के लिए डायलूशन को मैग्नेटिक स्टिरर पर 2 मिनट तक ठीक से हिलाएं।
4. अब 1ML सस्पेंशन को नं. 1 से नं. 2 ट्यूब में स्थानान्तरित करें। जिससे कि 10^{-2} डायलूशन बनाया जा सके। इसे कम से कम 1 मिनट तक हिलाएं।
5. अब उपरोक्तानुसार अन्य डायलूशन तैयार करें।

नोट :- तुलना करने तथा कैलकुलेशन करने के लिए Human excreta पर फिकल कॉली फार्मस काउंट का एस्टीमेट करें।

C. इनोकुलम (Inoculum)

1. स्प्रेडर को 95% इथाइल एल्कोहल वाले बीकर में रखें, स्प्रेडर को निकालें तथा जलती हुई लौ से पास करें। एल्कोहल को पूर्ण रूप से जलाएं तथा रॉड को 30 से 45 सैकेण्ड तक ठण्डा करें।
2. विभिन्न डायलूशन से 3 प्लेटों में 0.1 ML (100 μ l) सस्पेंशन स्थानान्तरित करें। इसे प्लेट के सेन्टर में ही रखें।
3. Petri dish कवर को एक हाथ से निकालें, स्प्रेडर को सरफेस के आगार पर धीरे से छुएं, तथा इसे पीछे मूव कराएं इसी समय दूसरे हाथ से प्लेट को रोटेट कराएं।
4. जब सस्पेंशन आगार मीडियम पर सूख जाए या एब्जार्ब हो जाए तो प्लेट का ढक्कन बंद कर दें।
5. अब प्लेट को इन्क्यूबेटर में 44.5°C तक 48 घंटे के लिए उल्टा रख दें।

आब्जर्वेशन

1. अब प्लेटों को नीले अथवा लगभग नीले टिन्ड कालोनी तथा उनकी संख्या के लिए देखें। इस समय सफेद, क्रीम कलर या डल सफेद कालोनी की गणना न करें।
2. निर्धारित डायलूशन से प्लेट को सिलेक्ट करें जिसमें 30 से 300 की रेन्ज में उपलब्ध हो तथा प्लेट काउंट करें।
3. ट्रिपलीकेट कालोनी काउंट का औसत निकालें।
4. जितना काउंट आया हो उसे अपने रिजल्ट रजिस्टर में दर्ज करें।

कैलकुलेशन

फिकल कॉली फॉर्मस काउंट को CFU/100 ML की संख्या के संदर्भ में कैलकुलेट करें। निम्नलिखित फार्मूले का प्रयोग करें।

फिकल कॉली फॉर्मस काउंट (CFU/100 ML) = मीन प्लेट काउंट x डायल्यूशन फैक्टर x 100

सेम्पल का वोल्यूम

% Reduction
sample)X100

= (count in human excreta – count in

count in human excreta

उदाहरण

यदि 10^{-3} डायल्यूशन में 160 कालोनी की गणना की गई है (average of 3 replicates) तो कॉली फॉर्मस काउंट निम्न प्रकार से होगा।

$$\text{FC count (CFU/ 100 ML)} = \frac{160 \times 1000 \times 100}{0.1} = 1.6 \times 10^8$$

सवधानियाँ :-

1. सेम्पल को ठीक से मिक्स किया जाए।
2. अगले सेम्पल के लिए एलिकॉट को निकालने के पूर्व प्रत्येक डायल्यूशन को ठीक प्रकार से हिलाएं।
3. प्रत्येक डायल्यूशन के लिए अलग से स्टेरायल पिपेट या टिप को लें।
4. सभी डायल्यूशन मेकिंग तथा इनोकुलम को लेमिनार एयर फ्लो चेम्बर में ही करें।
5. सभी प्लेटों को उपर की ओर की पोजीशन में इन्क्यूबेट करना चाहिए
6. इन्क्यूबेशन के दौरान मीडियम की क्रैकिंग को बचाने के लिए 25 से 30 मिली मीडिया को अवश्य डालना चाहिए।

(B) Testing Scheme for Bacteria Culture (Microbial Inoculum).

Following parameters have been recommended for testing of Microbial Inoculum produced in Inoculum generation Plant.

1. pH Value Test:

This test should be carried out to measure pH value of the inoculum.

S. No.	Description	Details
1.	Purpose of test	To measure pH value of the inoculum.
2.	Target value	6.5 – 8.0 pH
3.	Equipments required	Portable pH meter/Table top pH meter / pH indicator strips, magnetic stirrer.
4.	Consumables	pH calibration buffer (4.0, 7.0, 10.0), magnetic stirrer bars.
5.	Quantity of sample	50 – 100 ml.
6.	Electricity requirement	yes
7.	Frequency of sampling	Daily (Real time)
8.	Testing spot	Railway laboratory
9.	Staff required	01

Procedure:

- Take 50 – 100 ml of well mixed inoculum in a beaker.
- Put a magnetic bar and keep the beaker on a magnetic stirrer and mix it continuously.
- Wash the electrode and Temperature compensation rod with distilled water and wipe it with tissue paper.
- Put the electrode and automatic temperature compensation rod into the sample and keep it until stable reading appears in the display; note the reading.
- Discard the sample and wash the electrode and automatic temperature compensation rod with distilled water and wipe it with tissue paper.
- Keep the electrode back in the container and put them in stand.

Precaution: Do calibration with appropriate buffers before taking readings.

(ब) बैक्टीरिया कल्चर (इनोकुलम) उत्पाद के लिए परीक्षण स्कीम:

उक्त प्लान्ट द्वारा तैयार किए गए बैक्टीरिया कल्चर (इनोकुलम) पर तथा प्लान्ट से उत्पन्न मीथेन गैस हेतु निम्न परीक्षण पद्धति अनुमोदित की गई है।

1. pH मानक परीक्षण :

यह परीक्षण उत्पाद में उपलब्ध पानी की pH वैल्यू को स्पष्ट करता है जिससे कि इनोकुलम की उपयुक्तता एवं स्टेबिलिटी के स्तर का ज्ञान होता है।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	एफ्ल्यूएंट में उपलब्ध पानी की pH वैल्यू का आकलन करना
2.	परीक्षण पैरामीटर	टारगेट वैल्यू 6.5 से 8.0 pH
3.	प्रयुक्त मीटर	टेबल टॉप pH मीटर / पोर्टेबल pH मीटर
4.	अन्य आवश्यक उपकरण	सभी रेन्ज के इंडीकेटर पेपर pH के साधारण परीक्षण हेतु मेग्नेटिक स्टिरर – बीकर में भरे द्रव्य को घुमाने हेतु फाइबर बीकर 100 ML क्षमता
5.	कंज्यूमेबल	pH – कैलीब्रेशन बफर (pH 4.0, 7.0, 10.0)
6.	जाँच जाने वाले सेम्पल की मात्रा	50 –100 मिलीलीटर
7.	विद्युत कनेक्शन	आवश्यक है
8.	सेम्पल जाँच करने की आवृत्ति	प्रत्येक 07 दिन में प्लान्ट से सेम्पल लें
9.	परीक्षण स्थल	नामित रेलवे लेब
10.	कर्मचारियों की आवश्यकता	01

परीक्षण विधि

- सर्वप्रथम बायो टायलेट टैंक से निकलने वाले एफ्ल्यूएंट का 2 लीटर सेम्पल बॉटल में भरें।
- लेब में उपलब्ध बीकर में ठीक से मिक्स किया हुआ 50–100 मिली एफ्ल्यूएंट भरें।
- pH मीटर को स्टेण्ड पर रखें तथा विद्युत कनेक्शन लगाएं।
- अब मेग्नेटिक स्टिरर पर बीकर को रखें। मेग्नेटिक बार को लगायें तथा लिक्विड को लगातार मिक्स करें जिससे कि एफ्ल्यूएंट ठीक से मिक्स हो जाए।
- अब इलेक्ट्रोड तथा टेम्प्रेचर कम्पनसेसन रॉड को डिस्टिल वाटर से साफ करें तथा टिशू पेपर से पोंछ लें।
- अब इलेक्ट्रोड तथा टेम्प्रेचर कम्पनसेसन रॉड को उसकी मार्कर लाइन तक बीकर के एफ्ल्यूएंट में डाल दें तथा डिस्प्ले में स्टेबल रीडिंग आने तक उसमें रखा रहने दें।
- pH मीटर के डिजिटल डिस्प्ले पर pH वैल्यू आयेगी जिसे रजिस्टर में दर्ज करें।
- इसके बाद pH सेन्सर को निकालकर डिस्टिल वाटर से साफ करें, टिशू पेपर से पोंछ लें तथा मशीन के साथ बॉक्स में रख दें।
- परीक्षण किए गए नमूने को नाली में फेंक दें एवं बीकर को साफ पानी से साफ करके रखें।

सावधानी:– रीडिंग लेने के पूर्व उपयुक्त बफर से कैलीब्रेशन अवश्य कर लिया जाए।

2. Bio-gas Test:

This test should be carried out to measure amount of Biogas produced during fermentation in the Inoculum generation plant.

S. No.	Description	Details
1.	Purpose of test	To measure amount of biogas produced during fermentation.
2.	Target value	>50% of total volume of flask after 48 hours .
3.	Equipments	Gas flow meter / water displacement assembly.
4.	Consumables	Conical Flask, cork, Glass 'L' bends
5.	Quantity of sample	Not applicable
6.	Electricity requirement	No.
7.	Frequency of sampling	Daily/Real time
8.	Testing spot	At Plant/Site
9.	Staff required	01

Procedure:

- Take 1000 ml of well mixed inoculum in a 2 Lts. beaker.
- Add 1000 ml of cow dung slurry mixed with water (1:1)
- Set the water displacement assembly.
- Incubate the set-up in BOD incubator @ **35 °C for 48 hours**.
- The Bio-gas should be inflammable as **blue flame**.
- Measure the volume of water displaced.
- The amount of water displaced is equal to amount of gas produced.

Precaution: Make sure water column in the exit tube of the water beaker.

(Authority: DRDE/GWL letter No. BT/BKB/003/2013-2014 dated 28.08.2013)

2 . बायोगैस उपलब्धता जाँच परीक्षण :-

यह परीक्षण इनोकुलम प्लान्ट के अन्दर पैदा होने वाली गैसों के आकलन करने के लिए किया जाता है जिससे कि मीथेन गैस पैदा होने का प्रतिशत जाँचा जा सके एवं प्लान्ट के आन्तरिक कार्य का सुचारु रूप से चलना सुनिश्चित किया जा सके।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	यह परीक्षण माइक्रोबस के विभिन्न गुणों के कार्य को जाँचने के लिए किया जाता है । इनोकुलम प्लान्ट के अन्दर पैदा होने वाली बायो गैसों का आकलन किया जाता है जिससे कि मीथेन गैस उत्पन्न होने का प्रतिशत जाँचा जा सके एवं प्लान्ट के आन्तरिक कार्य का सुचारु रूप से चलना सुनिश्चित किया जा सके।
2.	परीक्षण पैरामीटर –	48 घंटे के बाद फ्लास्क के कुल वोल्यूम का 50 प्रतिशत से कम
3.	प्रयुक्त मीटर	गैस फ्लोमीटर – वाटर डिस्प्लेसमेन्ट असेम्बली
4.	अन्य आवश्यक उपकरण	फ्लेक्जिबल पाइप एडॉप्टर (मेल/फीमेल)
5.	कंज्यूमेबल	ग्लास वेयर , कॉर्क, ग्लास L- बैंड
6.	जाँच किए जाने वाले सेम्पल की मात्रा	ऑन लाइन कनेक्शन करना है
7.	विद्युत कनेक्शन	आवश्यक नहीं है
8.	सेम्पल चैक की आवृत्ति	प्लान्ट पर प्रतिदिन/वास्तविक समय पर चैक करना है
9.	परीक्षण स्थल	इनोकुलम प्लान्ट
10.	कर्मचारियों की संख्या	01

परीक्षण पद्धति :-

- सर्वप्रथम गैस फ्लोमीटर का सुचारु रूप से कार्य करना सुनिश्चित करें।
 - 2 लीटर क्षमता के बीकर में ठीक से मिक्स किया हुआ 1000 ML इनोकुलम भरें।
 - अब 1000 ML गोबर की स्लरी को पानी में 1:1 के अनुपात में मिलाएं ।
 - अब वाटर डिस्प्लेसमेन्ट असेम्बली को सैट करें।
 - उपरोक्त सैट-अप को BOD इन्क्यूबेटर में 35°C तापमान पर 48 घंटों के लिए इन्क्यूबेट करें।
 - जलाने पर बायोगैस को नीली लौ के साथ जलना चाहिए
 - अब जितना पानी डिस्प्ले हो गया हो उस वोल्यूम को माप लें।
 - डिस्प्ले हो चुके पानी के आयतन के बराबर ही उत्पन्न गैस का आयतन होगा।
- सावधानी:** बाटर बीकर की एक्जिट ट्यूब में वाटर कॉलम का होना सुनिश्चित करें।

3. Percentage Methane Test:

This test should be carried out to measure the methane content of biogas produced during fermentation in the Inoculum generation plant.

S. N	Description	Details
1.	Purpose of test	To measure the methane content of biogas produced during fermentation.
2.	Target value	40 – 70 %
3.	Equipments required	Gas chromatograph / online gas analyzer.
4.	Consumables	Serum bottles, Aluminum crimp, Butyl rubber septum, Gas tight syringe (50 – 250 µl), Nitrogen cylinder, Zero air/O ₂ cylinder, Hydrogen cylinder, standard methane gas.
5.	Quantity of sample	Not applicable
6.	Electricity requirement	Yes.
7.	Frequency of sampling	weekly
8.	Testing spot	Railway laboratory
9.	Staff required	01

Procedure:

- Take 2000 ml of well mixed inoculum in a 3 L beaker.
- Set the water displacement assembly.
- Incubate the set-up in BOD incubator @ 30 °C for 24 hours.
- Fill a 30 ml serum vial with water, put a butyl rubber septum, aluminum crimp and crimp it all the side.
- Inject the biogas formed in the water displacement assembly into the serum vial through a silicone tube fitted with needle.
- Allow the exit of water through another needle inserted in the butyl rubber septum.
- Collect at least 15 ml of biogas.
- Store it in a inverted position untill analysis.
- *Note: Make sure, gas bubble should not be there in the serum bottle before biogas collection.*
- Inject 100 µl standard methane gas and record the elution time of the gas.
(Note: Elution time is the time elapsed between injection of sample and response of the peak at top).
- Inject 100 µl of the biogas sample. Record the % methane in biogas.

3. मीथेन प्रतिशतता जाँच परीक्षण

यह परीक्षण उत्पन्न किए गए इनोकुलम की गुणवत्ता की जांच हेतु किया जाता है। यदि मीथेन गैस के उत्पादन का प्रतिशत सम्प में उपलब्ध कुल गैसों में 40% से 70% के मध्य है तो वेक्टीरिया पैदावार संतोषजनक है।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	यह परीक्षण उत्पन्न किए गए इनोकुलम की गुणवत्ता की जांच हेतु किया जाता है। इसमें कुल उत्पन्न बायो गैस में मीथेन गैस के उत्पादन का प्रतिशत एवं आकलन किया जाता है।
2.	परीक्षण पैरामीटर	मीथेन गैस का प्रतिशत 40% से 70% के मध्य
3.	प्रयुक्त मीटर	GC (गैस क्रोमेटोग्राफ)/ ऑन लाइन गैस एनालाइजर
4.	अन्य आवश्यक उपकरण	ऑन लाइन अटेचमेन्ट हेतु फ्लेक्जिबल पाइप एडॉप्टर
5.	कंज्यूमेबल	सीरम वॉटल्स, ब्यूटाइल रबर सेप्टम तथा एल्यूमीनियम क्रिम्पस, गैस टाइट सिरिन्ज (50-250 Micro Lts), नाइट्रोजन सिलिन्डर, O ₂ सिलिन्डर, हाइड्रोजन सिलिन्डर, स्टैंडर्ड मीथेन गैस
6.	सेम्पल की मात्रा	(10 – 15 मिली गैस)
7.	विद्युत कनेक्शन	कनेक्शन चाहिए
8.	सेम्पल जाँचने की आवृत्ति	प्रत्येक 07 दिन में प्लान्ट पर
9.	परीक्षण स्थल	नामित रेलवे लेब में
10.	कर्मचारियों की संख्या	01

परीक्षण पद्धति :-

- 3 लीटर क्षमता के बीकर में ठीक से मिक्स किया हुआ 2000 ML इनोकुलम भरें।
- अब वाटर डिस्प्लेसमेन्ट असेम्बली को सैट करें।
- अब उपरोक्त सैटअप को 30°C तापमान पर 24 घंटे के लिए BOD इन्क्यूबेटर में इन्क्यूबेट करें।
- अब 30 मिली सीरम वियल को पानी में भरें।
- वाटर डिस्प्लेसमेन्ट असेम्बली में तैयार बायोगैस को सीरम वियल में निडिल लगी हुई सिलिकोन ट्यूब से इन्जेक्ट करें।
- ब्यूटाइल रबर सेप्टम में लगी दूसरी निडिल से पानी को बाहर निकलने दें।
- अब कम से कम 15 मिली बायोगैस को कलेक्ट करें।
- इस गैस को एनालिसिस होने तक बन्द स्थिति में ही रखें।
(बायोगैस कलेक्शन के पूर्व सीरम बोटल में गैस बबल नहीं होना चाहिए)
- अब 100 माइक्रो ली. स्टैंडर्ड मीथेन गैस को इंजेक्ट करें तथा गैस का elution टाइम को रिकार्ड करें। (सेम्पल के इंजेक्शन तथा पीक के रीसपॉन्स के मध्य के समय को elution टाइम कहते हैं।)
- बायोगैस का 100 माइक्रो ली. सेम्पल इंजेक्ट करें तथा बायोगैस में मीथेन का % रिकार्ड करें।

4. MPN Count for Methanogens:

This test should be carried out to estimate the methane producing bacteria count in inoculum.

S. No.	Description	Details
1.	Purpose of test	To estimate the methane producing bacteria count in inoculum.
2.	Target value	>1000 / ml
3.	Equipments required	Gas chromatograph, Gassing manifold, hotplate stirrer, laminar air flow chamber, incubator, micropipettes, hand operated crimper, hand operated Decapper.
4.	Consumables	Serum bottles, Aluminum crimp, Butyl rubber septum, Gas tight syringe (50 – 250 µl), Nitrogen cylinder, CO ₂ cylinder, Hydrogen cylinder, sterile Disposable syringes, Resazurin and chemicals listed below in the table.
5.	Quantity of sample	~ 50 ml
6.	Electricity requirement	Yes.
7.	Frequency of sampling	Monthly
8.	Testing spot	In Govt. approved Laboratory Only
9.	Staff required	02

Procedure:

Growth medium preparation:

SI No	Constituents	Amount (g / L)
1	KH ₂ PO ₄	0.3
2	K ₂ HPO ₄	0.3
3	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.3
4	NaCl	0.6
5	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.13
6	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.008
7	FeSO ₄	0.002
8	Yeast extract	2.0
9	Trypticase	2.0
10	Trace element solution	1.0 ml
11	Trace vitamin solution	1.0 ml
12	Sodium acetate	2.5
13	Sodium formate	2.5
14	Resazurin	1.0 ml
15	Reducing agent	12.5 ml
16	pH	6.8
17	Gas phase (N ₂ :H ₂)	80:20

Trace Element Solution:

SN	Constituents	Amount (g / 100 ml)
1	Nitrilo triacetic acid	1.5
2	MgSO ₄ .7H ₂ O	3.0
3	MnSO ₄ .2H ₂ O	0.5
4	NaCl	1.0
5	CoCl ₂	0.1
6	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.1
7	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.1
8	ZnSO ₄	0.1
9	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.01
10	AlK(SO ₄) ₂	0.01
11	H ₃ BO ₃	0.01
12	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.1

Note: Dissolve nitrilotriacetic acid with KOH to pH 6.5 and then add other salts.

Trace Vitamin Solution:

Sl No	Constituents	Amount (mg / 100 ml)
1	Biotin	2.0
2	Folic acid	2.0
3	Vitamin B ₁₂	0.1
4	Pyridoxine HCl	10.0
5	Thiamine	5.0
6	Riboflavin	5.0
7	Nicotinic acid	5.0
8	D,L- Calcium pantothenate	5.0
9	p- aminobenzoic acid	5.0
10	Lipoic acid	5.0

Reducing Agent:

Sl No	Constituents	Amount (g / 100 ml)
1	Cysteine hydrochloride	2.0
2	Sodium sulphide	2.0
Adjust pH of Cysteine hydrochloride to 9.0		

Indicator Solution:

Sl No	Constituents	Amount (g / 100 ml)
1	Resazurin	0.10

1. All the ingredients of the medium were added in the required amount except the heat labile components and half the volume (6.25 ml) of reducing agent.
2. Heat the medium on a hot plate or heating mantle at 70 °C and sparge the medium continuously with O₂ free N₂ till the medium becomes colorless.
3. Take 60 ml serum vials and replace the air with nitrogen for 2 min.

4. Dispense media (22.5 ml) in individual vials and seal it with butyl rubber and aluminum crimps and seal it tightly.
5. Do autoclaving for 15 min at 121 °C for 20 min.
6. Let the medium to cool to room temperature and add rest of the amount of reducing agent (6.25 ml) with syringe and heat the butyl rubber seal for 10 sec with a spirit lamp.

Note: The medium should be colourless.

Dilution Preparation:

1. Label 22.5 ml anaerobic diluent medium containing serum vials as No. 1 (10^{-1}) No. 2 (10^{-2}), No. 3 (10^{-3}), No. 4 (10^{-4}), No. 5 (10^{-5}), No. 6 (10^{-6}), No. 7 (10^{-7}), No. 8 (10^{-8}) with a glass marker.
2. Take 2.5 ml of well mixed effluent sample and add to 22.5 ml water blank to make 10^{-1} dilution. Vigorously shake the dilution for 15 seconds to obtain uniform suspension.
3. Transfer 2.5 ml of suspension from No. 1 into No. 2 tube to make 10^{-2} dilution with a sterile syringe and shake it vigorously for 15 seconds.
4. Make further dilutions as prepared above.

Inoculation:

- For each dilution prepare 5 replicate serum bottles for inoculation. Total 45 medium bottles are needed.
- Transfer 2.5 ml of suspension each from different dilutions into set of 5 serum vials with medium by sterile syringe and heat the butyl rubber septum immediately.
- Incubate the serum vials in an upright position along with uninoculated control in an incubator at 30 °C for 20 days.

Observations:

- Analyze the gas from the head phase for presence of methane as described above with gas chromatograph.
- Note the number of positive and negative vials for each dilution.
- Methanogenic MPN is computed on the basis of bottles showing positive test. Dilution factor is taken into consideration while calculating the MPN.
- Record your results

Calculation:

1. To calculate MPN of methanogens in the original sample
 - Select as P1: the number of positive tubes in the least concentrated dilution in which the greatest number of tubes is positive; and p2 and p3 represent the numbers of positive tubes in the next two higher dilutions.
 - Use table of MPN for use with 5 tubes per dilution, then find the row of numbers in MPN table in which p1 and p2 correspond to the values observed experimentally. Follow that row of numbers across the table to the column headed by the observed value of p3. The figure at the point of intersection is the

most probable number of organisms in the quantity of the original sample represented in the inoculum added

in the second dilution (p2). Multiply this figure by the appropriate dilution factor to obtain the MPN for the original sample.

Example

Suppose the following observations were made:

Dilution	No. of positive
Neat	5
10^{-1}	5
10^{-2}	5
10^{-3}	5
10^{-4}	3
10^{-5}	1
10^{-6}	0

In this series, $p_1 = 5$, $p_2 = 3$, $p_3 = 1$. For this combination of p_1 , p_2 and p_3 , the MPN table gives 1.1 as the most probable number of organisms in the quantity of the inoculum applied in the 10^{-4} (p_2) dilution. Multiplying this number with dilution factor 10^4 gives 1.1×10^4 as the MPN for the original sample (2.5 ml). Convert the value to 1 ml by dividing with 2.5 i.e. $1.1 \times 10^4 / 2.5 = 4.4 \times 10^3$

Precautions:

1. The sample should be mixed homogenously
2. Each dilution must be thoroughly shaken before removing an aliquot for subsequent dilution
3. Use separate sterile pipettes or tips for each dilution
4. Use sterile pipettes for transfer,
5. Carry out dilution as quick as possible and immediately seal the butyl rubber septum and aluminum crimps. Alternatively the dilution can be done in anaerobic glove box.
6. The Heat labile compounds should be added after autoclaving.
7. Trace element solution and reducing agent solution should be prepared separately and should be autoclaved.
8. Trace vitamin solution should be sterilized by filtration.
9. At least three consecutive dilutions should be inoculated

4. माइक्रोवियल MPN पैरामीटर जाँच :- [MPN Count for Methanogens]

यह परीक्षण इनोकुलम में बैक्टीरिया की उपस्थिति एवं उनकी अनुमानित संख्या के आकलन के लिए किया जाता है।

क्र.सं.	उपकरणों का विवरण	टिप्पणी
1.	परीक्षण का उद्देश्य	मैथानोजोनिक बैक्टीरिया का एस्टीमेट तथा उपस्थिति एवं काउंटिंग का आकलन करना
2.	परीक्षण पैरामीटर	> 1000 / ML
3.	प्रयुक्त उपकरण / मीटर	G.C.(गैस क्रोमेटोग्राफ), गैसिंग मेनीफोल्ड, हॉट प्लेट स्टिरर, लेमिनर एयर फ्लो चैम्बर इन्क्यूबेटर, माइक्रोपिपेट्स, हैंड ओपरेटिड क्रिम्प हैंड ओपरेटिड डीकेपर
4.	कंज्यूमेबल	सीरम वॉटल्स, एल्यूमीनियम क्रिम्पस, ब्यूटाइल रबर सेप्टम, गैस टाइट सिरिन्ज (50-250 Micro Lts), नाइट्रोजन सिलिन्डर, CO ₂ सिलिन्डर, हाइड्रोजन सिलिन्डर, स्टेराइल डिस्पोजेबल सिरिन्ज, रेसाजुरीन तथा लिस्ट में लिखे केमिकल
5.	जाँच किए जाने वाले सेम्पल की मात्रा	50 ML
6.	विद्युत कनेक्शन	आवश्यक है
7.	सेम्पल जाँच की आवृत्ति	मासिक
8.	परीक्षण स्थल	केवल Govt. लेब / DRDE में
9.	कर्मचारियों की संख्या	02

पद्यति :

ग्रोथ मीडियम तैयार करना (Growth medium preparation):

Sl No	Constituents	Amount (g / L)
1	KH ₂ PO ₄	0.3
2	K ₂ HPO ₄	0.3
3	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.3
4	NaCl	0.6
5	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.13
6	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.008
7	FeSO ₄	0.002
8	Yeast extract	2.0
9	Trypticase	2.0
10	Trace element solution	1.0 ml
11	Trace vitamin solution	1.0 ml
12	Sodium acetate	2.5
13	Sodium formate	2.5
14	Resazurin	1.0 ml
15	Reducing agent	12.5 ml
16	pH	6.8
17	Gas phase (N ₂ :H ₂)	80:20

ट्रेस एलीमेंट सोल्यूशन (Trace Element Solution):

S.N	Constituents	Amount (g / 100 ml)
1	Nitrilo triacetic acid	1.5
2	MgSO ₄ .7H ₂ O	3.0
3	MnSO ₄ .2H ₂ O	0.5
4	NaCl	1.0
5	CoCl ₂	0.1
6	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.1
7	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.1
8	ZnSO ₄	0.1
9	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.01
10	AlK(SO ₄) ₂	0.01
11	H ₃ BO ₃	0.01
12	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.1

Note: Dissolve nitrilotriacetic acid with KOH to pH 6.5 and then add other salts.

ट्रेस विटामिन सोल्यूशन (Trace Vitamin Solution):

S.N	Constituents	Amount (mg / 100 ml)
1	Biotin	2.0
2	Folic acid	2.0
3	Vitamin B ₁₂	0.1
4	Pyridoxine HCl	10.0
5	Thiamine	5.0
6	Riboflavin	5.0
7	Nicotinic acid	5.0
8	D,L- Calcium pantothenate	5.0
9	p- aminobenzoic acid	5.0
10	Lipoic acid	5.0

रिड्यूसिंग एजेंट (Reducing Agent):

S.N	Constituents	Amount (g / 100 ml)
1	Cysteine hydrochloride	2.0
2	Sodium sulphide	2.0

Adjust pH of Cysteine hydrochloride to 9.0

इंडीकेटर सोल्यूशन (Indicator Solution):

S.N	Constituents	Amount (g / 100 ml)
1	Resazurin	0.10

1. हीट कम्पोनेन्ट तथा रिड्यूसिंग एजेंट के आधे वॉल्यूम (6.25 ML) को निर्धारित मात्रा में माध्यम के सभी इनग्रेडिएंट को मिलाते हैं।
2. अब मीडियम को 70°C तापमान तक हॉट प्लेट पर या हीटिंग मेन्टल पर गर्म करते हैं, मीडियम को O₂ तक N₂ से लगातार sparge करते हैं जब तक कि मीडियम रंग हीन न हो जाए।
3. अब 60 ML सीरम वियल को लें तथा हवा के स्थान पर नाइट्रोजन से 2 मिनट तक रिप्लेस करें।

4. 22.5 ML मीडिया को अलग वियल में despence करें तथा व्यूटायल रबर से सील करें एवं एल्यूमीनियम क्रिम्प से क्रिम्पिंग करें तथा टाइट करें।
5. 20 मिनट तक 121°C तापमान पर 15 मिनट तक आटोक्लेविंग करें।
6. अब मीडियम को कमरे के तापमान तक ठंडा करें तथा रिड्यूसिंग एजेंट की बची हुई मात्रा (6.25 ML) को सिरिज से Add करें। अब व्यूटाइल रबर सील को स्प्रीट लेम्प से 10 सेकेन्ड तक गर्म करें।

नोट: इस स्थिति में मीडियम रंगहीन होना चाहिए।

डायलूशन बनाना :-

1. 22.5 ML label एनारोविक डायलूट जिसमें सीरम वियल्स न.1 (10^{-1}) नं. 2 (10^{-2}), नं.3 (10^{-3}), नं.4 (10^{-4}), नं.5 (10^{-5}), नं.6 (10^{-6}), नं.7 (10^{-7}), नं.8 (10^{-8}) ग्लास मार्कर के साथ बनाएं।
2. अब ठीक से मिक्स किया हुआ 2.5 ML एफ्ल्यूएन्ट का सेम्पल लें तथा 22.5 ML वाटर ब्लैंक में Add करें जिससे कि 10^{-1} डायलूशन बनाया जा सके। डायलूशन को यूनीफार्म सस्पेंशन बनाने के लिए 15 सेकेन्ड तक हिलाएं।
3. अब 2.5 ML सस्पेंशन को ट्यूब न. 1 से ट्यूब न.2 में 10^{-2} डायलूशन बनाने के लिए स्टेरायल सिरिज से ट्यूब न.2 में स्थानान्तरित करें तथा 15 मिनट तक इसे हिलाएं।
4. उपरोक्तानुसार आगे भी डायलूशन तैयार करें।

इनोकुलेशन:

1. प्रत्येक डायलूशन के इनोकुलेशन के लिए 5 replicate सीरम वॉटल तैयार करें। इस प्रकार कुल 45 मीडियम वॉटल की आवश्यकता होगी।
2. विभिन्न डायलूशन से 2.5 मिली सस्पेंशन को सिरिज से मीडियम के साथ 5 सीरम वियल्स के सैट में डालते हैं तथा व्यूटायल रबर सेप्टम को तुरन्त गर्म करते हैं।
3. सीरम वियल्स को ऊपर उठी हुई स्थिति में un-inoculated control के साथ 30°C तापमान पर 20 दिनों के लिए इन्क्यूबेटर में इन्क्यूबेंट करते हैं।

आबजर्वेशन :-

1. अब गैस क्रोमेटोग्राफ की सहायता से हैड फेज में मीथेन गैस की उपलब्धता का एनालिसिस पूर्व में दी विधि के अनुसार करें।
2. प्रत्येक डायलूशन के लिए पोजीटिव तथा निगेटिव वियल्स की संख्या को नोट करें।
3. मेथानोजेनिक MPN बोटलों में पोजीटिव टेस्ट आने के आधार पर कैलकुलेट किया जाता है। MPN का कैलकुलेशन करते समय, डायलूशन फेक्टर को कंसीडर किया जाता है।
4. परिणाम को अपने रजिस्टर में दर्ज करें।

कैलकुलेशन:

1. ओरिजिनल सेम्पल में मेथानोजेन के MPN को कैलकुलेट करने के लिए –
 - सर्वप्रथम P1 को सिलेक्ट करें :- सबसे कम concentrated डायलूशन जिसमें अधिकांशतः ट्यूब पोजीटिव हों इनकी संख्या देखें, P2 तथा P3 अगले 2 हायर डायलूशन में कुल पोजीटिव ट्यूब्स की संख्या को दर्शाएगा।
 - 5 ट्यूब प्रति डायलूशन को MPN काउंट हेतु टेबिल का प्रयोग करेंगे। फिर MPN टेबल में row में नम्बर देखेंगे जिसमें P1 तथा P2 के लिए आबजर्वड वेल्यू प्रदर्शित होगी। टेबल में नम्बर की row को कॉलम जिसमें P3 की वेल्यू उपलब्ध है, इसे

देखेंगे। जिस स्थान पर कॉलम तथा row का विन्दू प्राप्त होता है उसमें लिखी संख्या ही इनोकुलम की सबसे संभावित उस आर्गन की ओरिजिनल सेम्पल की क्वान्टिटी की संख्या होगी जिसे P2 डायल्यूशन में रखा गया था। अब निर्धारित डायल्यूशन फेक्टर से इस फिगर को गुणा करें तो ओरिजिनल सेम्पल का MPN काउंट प्राप्त हो जाएगा।

उदाहरण: मान लीजिए कि निम्नलिखित आब्जर्वेशन प्राप्त किए गए।

डायल्यूशन	पोजीटिव की संख्या
Neat	5
(10 ⁻¹)	5
(10 ⁻²)	5
(10 ⁻³)	5
(10 ⁻⁴)	3
(10 ⁻⁵)	1
(10 ⁻⁶)	0

इस सीरीज में P1 = 5 P2 = 3 P3 = 1, P1 P2 तथा P3 की इस कॉम्बिनेशन के लिए MPN टेबल में 1.1 "अत्यधिक संभावित नम्बर" उस आर्गन की क्वान्टिटी के लिए आता है जिसे (10⁻⁴) P2 डायल्यूशन के इनोकुलम के लिए लिया गया था। अब इस नम्बर को डायल्यूशन फेक्टर (10⁴) से गुणा करते हैं। तो 1.1 x 10⁴ MPN ओरिजिनल सेम्पल (2.5 ML) के लिए आता है।

अब वेल्यू को 1 ML में परिवर्तित करने के लिए 2.5 से भाग देते हैं। तो –

$$\frac{1.1 \times 10^4}{2.5} = 4.4 \times 10^3 \text{ प्राप्त होता है।}$$

सावधानियाँ :

1. सेम्पल को ठीक प्रकार से मिक्स किया जाए।
2. अगले सेम्पल के लिए एलिकॉट को निकालने के पूर्व प्रत्येक डायल्यूशन को ठीक प्रकार से हिलाएं।
3. प्रत्येक डायल्यूशन के लिए अलग से स्टेरायल पिपेट या टिप को लें।
4. मीडियम स्थानान्तरण के लिए स्टेरायल पिपेट का प्रयोग करें।
5. डायल्यूशन को जितना जल्दी हो सके बनाएं तथा तुरन्त व्यूटायल रबर सेप्टम एवं एल्यूमीनियम क्रिम्प से सील कर दें। इसी प्रकार डायल्यूशन को anaerobic ग्लोव box में बनाया जा सकता है।
6. आटोक्लेविंग के पश्चात "हीट लेवायल कम्पाउन्ड" को Add करें।
7. "ट्रेस एलीमेन्ट सोल्यूशन" तथा "रिड्यूसिंग एजेंट सोल्यूशन" को अलग-अलग तैयार करना चाहिए तथा इन्हें आटोक्लेव करना चाहिए।
8. ट्रेस विटामिन सोल्यूशन को फिल्ट्रेशन प्रणाली से sterilized कर देना चाहिए।
9. कम से कम 3 consecutive डायल्यूशन को इनोकुलेट करना चाहिए।

Table 3.

MPN/g(ml)				Category when number of					Confidence limits			
10x1	10x0.1	10x0.01	g(ml)	tests is					95%		99%	
Result	MPN			1	2	3	5	10				
0 0 0	<0.09											
0 0 1	0.09			2	2	2	1	1	0.02	0.50	<0.01	0.67
0 1 0	0.09			1	1	1	1	1	0.02	0.51	<0.01	0.67
0 1 1	0.18			0	0	0	2	2	0.05	0.65	0.02	0.84

0 2 0	0.18	2	2	2	1	1	0.05	0.66	0.02	0.84
0 3 0	0.3	0	0	0	0	2	<0.1	0.8	<0.1	1.0
1 0 0	0.09	1	1	1	1	1	0.02	0.53	<0.01	0.71
1 0 1	0.19	2	1	1	1	1	0.05	0.68	0.02	0.88
1 1 0	0.19	1	1	1	1	1	0.05	0.68	0.02	0.88
1 1 1	0.3	0	2	2	2	1	<0.1	0.8	<0.1	1.0
1 2 0	0.3	2	1	1	1	1	<0.1	0.8	<0.1	1.1
1 2 1	0.4	0	0	0	2	2	0.1	1.0	<0.1	1.2
1 3 0	0.4	0	0	2	2	2	0.1	1.0	<0.1	1.2
2 0 0	0.2	1	1	1	1	1	<0.1	0.7	<0.1	0.9
2 0 1	0.3	2	1	1	1	1	<0.1	0.9	<0.1	1.1
2 0 2	0.4	0	0	0	0	2	0.1	1.0	<0.1	1.3
2 1 0	0.3	1	1	1	1	1	<0.1	0.9	<0.1	1.1
2 1 1	0.4	2	2	1	1	1	0.1	1.0	<0.1	1.3
2 2 0	0.4	1	1	1	1	1	0.1	1.0	<0.1	1.3
2 2 1	0.5	0	2	2	2	1	0.2	1.2	0.1	1.4
2 3 0	0.5	2	2	2	1	1	0.2	1.2	0.1	1.5
2 4 0	0.6	0	0	0	0	2	0.3	1.3	0.2	1.6
3 0 0	0.3	1	1	1	1	1	<0.1	0.9	<0.1	1.2
3 0 1	0.4	1	1	1	1	1	0.2	1.1	<0.1	1.3
3 0 2	0.5	0	0	0	2	2	0.2	1.2	0.2	1.5
3 1 0	0.4	1	1	1	1	1	0.2	1.1	<0.1	1.4
3 1 1	0.5	2	1	1	1	1	0.2	1.3	0.2	1.5

.7 3 1 2 0.6 0 0 0 0 2 0.3 1.4 0.2 1

Table 3. (cont.)

MPN/g(ml)			MPN	Category when number of tests is					Confidence limits			
10x1 10x0.1 10x0.01g(ml)				1 2 3 5 10					95%		99%	
Result												
5	0	0	0.6	1	1	1	1	1	0.2	1.4	0.2	1.8
5	0	1	0.7	1	1	1	1	1	0.3	1.6	0.2	2.0
5	0	2	0.8	0	2	2	2	1	0.4	1.8	0.3	2.2
5	1	0	0.7	1	1	1	1	1	0.2	1.6	0.2	2.0

5	1	1	0.9	1	1	1	1	1	0.4	1.8	0.3	2.2
5	1	2	1.0	0	2	2	2	1	0.5	2.0	0.4	2.4
5	2	2	1.1	0	0	0	2	2	0.6	2.2	0.4	2.6
5	3	0	1.0	1	1	1	1	1	0.5	2.0	0.4	2.4
5	3	1	1.1	2	2	1	1	1	0.6	2.2	0.4	2.6
5	4	0	1.1	2	2	1	1	1	0.6	2.2	0.4	2.6
5	4	1	1.3	0	0	2	2	2	0.7	2.4	0.5	2.8
5	5	0	1.3	0	0	2	2	2	0.7	2.4	0.5	2.9
6	0	0	0.8	1	1	1	1	1	0.3	1.8	0.2	2.1
6	0	1	0.9	1	1	1	1	1	0.4	2.0	0.3	2.4
6	0	2	1.1	0	2	2	2	1	0.5	2.2	0.4	2.6
6	1	0	0.9	1	1	1	1	1	0.4	2.0	0.3	2.4
6	1	1	1.1	1	1	1	1	1	0.5	2.2	0.4	2.6
6	1	2	1.2	0	2	2	2	1	0.6	2.4	0.5	2.9
6	2	0	1.1	1	1	1	1	1	0.5	2.2	0.4	2.6
6	2	1	1.2	1	1	1	1	1	0.6	2.4	0.5	2.9
6	2	2	1.4	0	2	2	2	1	0.7	2.6	0.6	3.1
6	3	0	1.2	1	1	1	1	1	0.6	2.4	0.5	2.9
6	3	1	1.4	2	1	1	1	1	0.7	2.6	0.6	3.1
6	3	2	1.5	0	0	0	2	2	0.8	2.9	0.7	3.4
6	4	0	1.4	2	1	1	1	1	0.7	2.7	0.6	3.2
6	4	1	1.5	0	2	2	2	1	0.8	2.9	0.7	3.4

Table 3. (cont.)

MPN/g(ml)				Category when number of					Confidence limits			
10x1	10x0.1	10x0.01	g(ml)	tests is					95%	99%		
Result	MPN			1	2	3	5	10				
7	6	0	2.1	0	2	2	2	1	1.2	3.9	0.9	4.6
7	6	1	2.3	0	0	0	0	2	1.3	4.2	1.1	4.9
8	0	0	1.3	1	1	1	1	1	0.6	2.8	0.5	3.3
8	0	1	1.5	1	1	1	1	1	0.7	3.0	0.6	3.5

7.7	3.0	0.0	5.7	8	0	1	1.9	1	1	1	1	1	1
7.9	3.3	0.6	4.0	8	0	2	1.7	2	2	2	1	1	0
7.7	3.1	0.6	3.7	8	1	0	1.5	1	1	1	1	1	0
7.9	3.4	0.7	4.1	8	1	1	1.7	1	1	1	1	1	0
7.0	3.7	0.8	4.4	8	1	2	1.9	2	2	1	1	1	1
7.1	4.1	0.9	4.8	8	1	3	2.1	0	0	0	0	2	1
7.9	3.4	0.7	4.1	8	2	0	1.7	1	1	1	1	1	0
7.0	3.8	0.8	4.5	8	2	1	1.9	1	1	1	1	1	1
7.1	4.1	0.9	4.9	8	2	2	2.1	2	2	1	1	1	1
7.3	4.5	1.0	5.3	8	2	3	2.3	0	0	0	0	2	1
7.0	3.8	0.8	4.6	8	3	0	1.9	1	1	1	1	1	1
7.1	4.2	0.9	4.9	8	3	1	2.1	1	1	1	1	1	1
7.3	4.6	1.1	5.3	8	3	2	2.4	2	2	2	1	1	1
7.5	4.9	1.2	5.8	8	3	3	2.6	0	0	0	0	2	1
7.2	4.2	0.9	5.0	8	4	0	2.2	1	1	1	1	1	1
7.3	4.6	1.1	5.4	8	4	1	2.4	1	1	1	1	1	1
7.5	5.0	1.2	5.9	8	4	2	2.6	0	2	2	2	1	1
7.4	4.6	1.1	5.5	8	5	0	2.4	1	1	1	1	1	1
7.5	5.1	1.2	5.9	8	5	1	2.7	2	2	1	1	1	1
7.7	5.5	1.3	6.4	8	5	2	2.9	0	0	0	2	2	1
7.5	5.2	1.2	6.0	8	6	0	2.7	2	2	1	1	1	1
7.7	5.6	1.4	6.5	8	6	1	3.0	0	2	2	2	1	1
7.7	5.7	1.4	6.6	8	7	0	3.0	0	0	2	2	2	1

Table 3. (cont.)

MPN/g(ml)			MPN	Category when number of tests is					Confidence limits			
10x1	10x0.1	10x0.01 g(ml)		1	2	3	5	10	95%		99%	
9	5	0	3.3	1	1	1	1	1	1.8	6.8	1.4	8.1
9	5	1	3.7	1	1	1	1	1	2.1	7.5	1.6	8.9
9	5	2	4.2	2	2	2	1	1	2.3	8.2	1.8	9.7
9	5	3	4.6	0	0	0	0	2	2.6	8.9	2.1	10.4
9	6	0	3.8	1	1	1	1	1	2.1	7.7	1.7	9.1
9	6	1	4.3	2	1	1	1	1	2.3	8.4	1.9	9.9
9	6	2	4.7	0	2	2	2	1	2.6	9.2	2.2	10.8
9	7	0	4.4	2	1	1	1	1	2.4	8.6	1.9	10.2
9	7	1	4.9	0	2	2	2	1	2.7	9.4	2.1	11.1
9	7	2	5	0	0	0	2	2	3	10	2	12
9	8	0	5	0	2	2	2	1	2.8	9.7	2.2	11.4
9	8	1	6	0	0	0	2	2	3	10	2	12
10	0	0	2.3	1	1	1	1	1	1.2	5.7	0.9	7.2
10	0	1	2.7	1	1	1	1	1	1.3	6.6	1	8.2
10	0	2	3.1	2	2	2	1	1	1.6	7.6	1.3	9.4
10	0	3	3.7	0	0	0	0	2	1.9	8.7	1.5	10.7
10	1	0	2.7	1	1	1	1	1	1.4	6.9	1.1	8.6
10	1	1	3.2	1	1	1	1	1	1.6	7.9	1.2	9.8
10	1	2	3.8	1	1	1	1	1	1.9	9.1	1.5	11.2
10	1	3	4	0	2	2	2	1	2	10	2	13.0
10	2	0	3.3	1	1	1	1	1	1.7	8.3	1.3	10.3
10	2	1	3.9	1	1	1	1	1	2	9.5	1.5	11.7
10	2	2	5	1	1	1	1	1	2	11	2	13
10	2	3	5	2	2	2	1	1	3	12	2	15
10	2	4	6	0	0	0	0	2	3	14	3	16
10	3	0	4	1	1	1	1	1	2	10	2	12
10	3	1	5	1	1	1	1	1	2	11	2	14

Table 3. (cont.)

MPN/g(mi)			g(mi)	Category when number of tests is					Confidence limits			
10x1	10x0.1	10x0.01		1	2	3	5	10	95%		99%	
Result		MPN										
10	7	0	10	1	1	1	1	1	5	22	4	27
10	7	1	12	1	1	1	1	1	6	25	5	30
10	7	2	14	1	1	1	1	1	7	28	5	33
10	7	3	15	1	1	1	1	1	8	30	6	36
9	33	7	40	10	7	4	17		2	1	1	1
11	37	8	43	10	7	5	19		0	2	2	1
12	40	10	47	10	7	6	22		0	0	0	2
3	28	5	34	10	8	0	13		1	1	1	1
8	31	6	38	10	8	1	15		1	1	1	1
9	35	7	42	10	8	2	17		1	1	1	1
10	39	8	47	10	8	3	20		1	1	1	1
12	44	9	52	10	8	4	22		1	1	1	1
14	48	11	57	10	8	5	25		2	1	1	1
16	53	12	62	10	8	6	28		0	2	2	1
18	58	14	69	10	8	7	31		0	0	0	2
9	38	7	46	10	9	0	17		1	1	1	1
10	43	8	53	10	9	1	20		1	1	1	1
12	49	9	59	10	9	2	23		1	1	1	1
14	56	11	68	10	9	3	26		1	1	1	1
16	63	12	76	10	9	4	30		1	1	1	1
18	72	15	86	10	9	5	35		1	1	1	1
22	81	17	96	10	9	6	40		2	2	1	1
25	91	20	109	10	9	7	46		0	2	2	1
30	100	20	120	10	9	8	50		0	0	0	2
12	61	9	77	10	10	0	24		1	1	1	1

Annexure-I

Date of Sampling:
.....

Date of Lab Testing:

Coach No.	Variant of Bio-digester	Observations/Results					
		pH Value	Total Solids (mg/100ml)	TDS (mg/ 100ml)	COD Level (ppm)	Volatile Solids (mg/100ml)	Faecal Coliform Count (MPN/ 100ml)

Signature of Evaluating Authority :
Name & Designation :
Seal :

Bio-Toilet Maintenance Proforma

Lavatories arrived choked and cleared during Maintenance						
S.No.	Date	Coach No. Manufacturer/ CLASS/ VARIANT	Lavatory Number	Reason for chocking	Signature of Railway Engineer	Signature of representative of AMOC Agency
1.						
2.						
3.						
4.						
5.						
6.						
7.						
8.						
9.						
10.						
11.						
12.						
13.						
14.						
15.						
16.						
17.						
18.						
19.						
20.						
21.						
22.						

Remarks: Description of choked lavatory & leakages.

Field Trial of Bio-Toilet (IR-DRDO Technology) on Indian Railway Passenger Coaches																	
Train No..... Rake No..... Coach No.Date.....Name of SE/ JE R/ Maint.....																	
S.N	Parameters to be checked	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.	Thorough inspection of mounting / securing arrangement for the bio-digester tank.																
2.	Any leakage in joints/ connections in the complete system including retention tank, water pipe line.																
3.	Adequacy of the provisions made for segregation of non bio-degradable items.																
4.	Functionality of flush buttons/ lever & water tabs																
	Adequacy of the flushing of the pan																
5.	(a) By using pressurized flushing (b) By normal manual flushing																
6.	Any mal odour/ stench: (yes/No), if yes, please specify Light, medium or Heavy																
7.	Overall cleanliness level of the toilet room.																
8.	Notices for users and maintenance personal in Hindi/English & regional language of the originating & destination station.																
9.	Emergency operation of flush arrangement without power / air supply.																
10.	Performance of non-bio-degradable waste ejection system its effectiveness and reliability. a. Working satisfactorily (Yes/ No), if no, give reasons and remarks for malfunctioning. b. Choking of toilet pan (Yes/ No), if yes give reasons and remarks for choking.																
11.	Tank evacuation date (if any) with coach No. and date.																
12.	Details of attentions / maintenance required with coach no. , date and time taken for maintenance.																
13.	Adequacy of strength & capacity of waste treatment tank																
14.	Choking of P-Trap (Yes/ No), if yes, give reasons and it has been attended or not.																
15.	Check operation of flapper / Ball valve																

भारतीय रेल को बायोटॉयलेट हरित कान्ति में सहयोग प्रदान करें।

रेल यात्रियों से अनुरोध –

यह बायो टॉयलेट है अतः

1. कृपया शौचालय में बोतल, अखबार, नैपकिन, पॉलीबैग, कपड़ा इत्यादि न डालें।
2. शौच के बाद कृपया फ्लश अवश्य चलाएं, अन्यथा शौचालय चोक हो जाएगा।
3. आवश्यकतानुसार टॉयलेट में रखे छोटे कूड़ादान (डस्ट-बिन) का उपयोग भी करें।
4. टॉयलेट को गंदा न करें।



कृपया इस हरित-अभियान में हमें सहयोग प्रदान करें।

Kindly help the Railways for IR-DRDO Green Bio-Toilet System
Instructions for Coach Maintenance Staff
This is Bio-Toilet – Hence during maintenance-

- Remove Bottles, newspapers, napkins, polybags, sanitary cloths etc. from toilet chute.
- Do flushing in each bio-toilet to check chocking of P-trap.
- In case of chocking of Bio-toilet at train examination station, operate Foot Paddle in toilet. **If available**
- In case of defect in foot paddle, remove chocking of P-trap with the help of “Chock Remover”.
- At train examination station, get the portable dustbin cleaned which is available in toilet.
- At CTS station, clean the Bio-toilet properly.



भारतीय रेल को बायोटॉयलेट हरित क्रांति में सहयोग प्रदान करें।

List of Govt. Approved Environmental Laboratories

ENVIRONMENTAL LABORATORIES WITH VALID RECOGNITION UNDER SECTION 12(1) B OF THE ENVIRONMENT (PROTECTION) ACT, 1986

The Environmental laboratories (Govt./Semi-Govt./Public Sector Undertakings/Educational Institutes) with valid recognition (updated upto 15th April, 2012) under the Environment (Protection) Act, 1986 are as below:

S.N.	Name of laboratory	Group of parameters	Gazette notification no. and date	Validity upto
1.	Goa State Pollution Control Board EDC Plaza Patto, Panaji, Goa-403001	Physical, Chemical, Microbiological, and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 11 th October, 2007	30 th September, 2012
2.	Centre Laboratory Madhya Pradesh Pollution Control Board "Paryavaran Parisar", E-5, Arera Colony Bhopal-462 018. M. P.	Physical. Chemical, Microbiological. Toxicological and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, sources emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 1 st October, 2007	30 th September, 2012
3.	Eco-Auditing Laboratory National Botanical Research Institute Rana Pratap Marg, Lucknow-228 001 U.P.	Physical. Chemical, Microbiological, and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/187 dated 1 st October, 2007	30 th September, 2012
4.	Zonal Office Laboratory, Central Pollution Control Board Synergy House-II Gorwa Subhanpura Road Subhanpura Vadodara-390 023 ,Gujarat .	Physical, Chemical, Microbiological. Toxicological and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 1 st October, 2007	30 th September, 2012
5.	Central Laboratory Pollution Control Board. Assam Bamunimaidan Guwahati-781 021. Assam	Physical. Chemical. Microbiological, Toxicological and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission and micro-meteorological parameter.	Legal 42(3)/87 dated 1-February, 2008	31 st January, 2013
6.	Environmental Management Division Central Pulp & Paper Research Institute, Post Box No. 174, Paper Mills Road, Himmat Nagar Saharanpur 247001, U.P.	Physical, Chemical. Microbiological, Toxicological. biological and Air Pollution parameters for analysis of ambient air. source emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 10 th February, 2008	31 st January, 2013
7.	Central Laboratory National Fertilizers Limited Vijaipur Unit, Vijaipur-	Physical. Chemical, Microbiological. Toxicological and Air Pollution parameters for	Legal 42(3)/187 dated	31 st January, 2013

S.N.	Name of laboratory	Group of parameters	Gazette notification no. and date	Validity upto
	743111 Tehsil-Raghogarh Dist.Guna, M. P.	analysis of ambient air. source emission and micro-meteorological parameters.	1 st February, 2008	
8.	Central Laboratory Andhra Pradesh Pollution Control Board A-3. Industrial Estate Sanathnagar Hyderabad-500 018 Andhra Pradesh	Physical. Chemical. Organics Microbiological. Toxicological. Biological. Hazardous Waste and 1Jr Pollution parameters for analysis of ambient air. Source emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 1 st February, 2008	31 st January, 2013
9.	Gujarat Pollution Control Board, Regional Office - Surat 338, Typical First Floor Belgium Square Sliver Plaza Complex, Opp. Linear Bus Stand, Ring Road Surat-395 003, Gujarat	Physical. Chemical. Organics Microbiological. Toxicological. and Air Pollution parameters for analysis of ambient air. source emission. noise. vehicular emission and micro-meteorological parameters	Legal 42(3)187 dated 1 st February. 2008	31 st January. 2013
10.	Gujarat Pollution Control Board Regional Office Laboratory-Vadodara Geri Compound Race Course. Opp. S. T. Depot Vadodara-390 007 Gujarat	Physical. Chemical, Organics Micro biological. Toxicological. and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, .source emission. noise. vehicular emission and micro-meteorological parameters	Legal 42(3)187 dated 1 st February, 2008	31 st January, 2013
11.	Regional Office Laboratory-Rajkot Gujarat Pollution Control Board Race Course. Ring Road Near Union Bank , Rajkot-360 001 Gujarat	Physical. Chemical. Organics Microbiological. Toxicological. and Air Pollution parameters for analysis of ambient air. source emission. noise. vehicular emission and micro-meteorological parameters	Legal 42(3)/87 dated 1 st February. 2008	31 st January. 2013
12.	Environmental Laboratory Central Mine Planning & Design Institute limited Gondwana Place ,Kanke Road, Ranchi-834 008. Jharkhand	Physical. Chemical, Microbiological, and Air Pollution parameters for analysis of ambient air. source emission and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 1 st February. 2008	31 st January. 2013
13.	Pollution Control Research institute, Bharat Heavy Electricals Limited Ranipur. Haridwar-249 403 Uttarakhand	Physical. Chemical. Microbiological. Toxicological and Air Pollution parameters for analysis of ambient air. source emission. and, micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 1 st April. 2008	31 st March. 2013
14.	Central Laboratory Central Pollution Control Board Parivesh Bhawan East Arjun Nagar Delhi-110032	Physical. General and non-Metallic. Metals. Organics. Microbiological. Toxicological Biological, Hazardous Wastes, Soil, Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission. noise and micro-meteorological parameters,	Legal 42(3)J 87 dated 1 st October, 2009	30 th September. 2014

S.N.	Name of laboratory	Group of parameters	Gazette notification no. and date	Validity upto
15.	Central Laboratory Punjab Pollution Control Board Vatavaran Bhawan. Patiala, Punjab-147001	Physical, General Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological, Toxicological Biological, Hazardous wastes. Soil. Sludge, Sediments and Air Pollution Parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological & vehicular emission monitoring parameters,	Legal 42(3)/87 dated 15 th January. 2010	14 th January. 2015
16.	Regional Laboratory Maharashtra Pollution Board Control Jog Centre, 3rd Floor, Puna-Mumbai Road, Shivaji Nagar. Pune-411003	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological, Toxicological, Hazardous wastes, Soil, Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 15 January, 2010	14 th January, 2015
17,	Zonal Laboratory Central Pollution Control Board, Zonal office , Kolkata 502, South end Conclave, 1582 Rajdanga Main Road Kolkata 700107	Physical, General, Chemical and non-Metallic. Metals, Organics, Microbiological, Toxicological Biological, Hazardous Wastes, Soli, Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological & vehicular emission monitoring parameters,	Legal 42(3)J 87 dated 15 January, 2010	14 th January. 2015
18.	Environment Protection Training and Research Institute (EPTRI), 91/4, Gachi Bowli. Hyderabad. 500032 Andhra Pradesh	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological. Toxicological Biological, Hazardous Wastes, Soil, Sludge. Sediments and-Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological Parameters,	Ler- 142(3)/87 dated 20 September. 2010	19 th September, 2015
19.	P.G. Department of Environment Management Chhatrapati Shahu Institute of Business Education and Research (SIBER). University Road, Kolhapur. 416004 Maharashtra	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metal, Organics, Microbiological, Toxicological, Biological, and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 20 September. 2010	19 th September. 2015
20.	Punjab Bio-Technology Incubator Agri. And Food. testing Laboratory SCO: 7 & 8 (Top Floor). Phase.V, SAS Nagar. Mohali-160059 Punjab.	Physical, General. Chemical and non-Metallic. Metals. Organics, Microbiological. Toxicological. Hazardous Wastes, Soil. Sludge. Sediments and Ai Pollution parameters for analysis of	Legal 42(3)18 7 dated 20 th September. 2010	19 th September, 2015

S.N.	Name of laboratory	Group of parameters	Gazette notification no. and date	Validity upto
		ambient air, source emission, and micrometeorological parameters.		
21.	Regional Laboratory Maharashtra State Pollution Control Board 6th Floor, "Udyog Bhawan" Civil Lines Nagpur-440001 Maharashtra	Physical. General. Chemical and non-Metallic, Metals. Organics, Microbiological, Toxicological Biological. Hazardous Wastes, Soil, Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission. noise and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 2 nd January. 2011	26 th January, 2016
22.	Regional Laboratory Maharashtra State Pollution Control Board 1 st Floor Udyog Bhawan. Rathi Chowk, Trimbak Road, Nashik-422007 Maharashtra	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological, Toxicological Biological, Hazardous wastes, Soil, Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)187 dated 27 th January, 2011	26 th January, 2016
23.	Regional Laboratory Maharashtra State Pollution Control Board "Paryavaran Bhavan" A-4/1, Chikalthana MIDC, Behind Dhoot Hospital, Aurangabad-431210 Maharashtra	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological. Toxicological Biological, Hazardous Wastes, Soil. Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological Parameters.	Legal 42(3)187 dated 27 th January. 2011	26 th January. 2016
24.	Central Laboratory Uttar Pradesh Pollution Control Board PICUP Bhawan, 3 rd Floor, B-Block Vibhuti Khand, Gomati Nagar Lucknow. 226010 U.P.	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics. Microbiological. Toxicological. Soil, Sludge. Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)187 dated 31 st January, 2012	•
25.	Regional Laboratory M.P. Pollution Control Board Plot No, 455/456, Vijay Nagar. Jabalpur-482002 Madhya Pradesh	Physical. General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological, Toxicological, Soli. Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological Parameters.	Legal 42(3)/87 dated 31 st January. 2012	•

S.N.	Name of laboratory	Group of parameters	Gazette notification no. and date	Validity upto
26.	Regional Laboratory M.P. Pollution Control Board Sc-17, Bharatpuri Ujjain-456010 Madhya Pradesh	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological, Toxicological, Soil, Sludge, Sediments and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)187 dated 31 st January, 2012	•
27.	Regional Laboratory M.P. Pollution Control Board Scheme No.-78 Part-II. Aranya Nagar Indore 452010 Madhya Pradesh	Physical, General, Chemical and non-Metallic, Metals, Organics, Microbiological. Toxicological. Soil. Sludge, Sediment; -and Air Pollution parameters for analysis of ambient air, source emission, noise and micro-meteorological parameters.	Legal 42(3)/87 dated 31 st January, 2012	•

- Environmental laboratories and the Government Analysis so mentioned shall remain valid only up to specific dates (As per provision of office memorandum dated 12th Aug 2011), issued by ministry of Environment & forest to acquire the required accreditation / certification to achieve eligibility under the essential pre-requisite or office memorandum.

Note: The latest position of Govt.. approved environmental laboratories may be seen at cpcb website www.cpcb.nic.in for analysis of effluent samples of Biotoilet coaches.