Determinação da DBO₅ na faixa de 5 mgO₂/L a 1000 mgO₂/L

Teste em cubetas para determinação da matéria orgânica oxidável por bactérias aeróbias, em um período de 5 dias, em amostras de águas e efluentes - Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) -, por espectrofotometria.

Método: Baseado na norma *DIN EN 1899-1:1998 (Determination of biochemical oxygen demand after n days (BODn) – Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea acid addition.*

Aplicação

Efluentes domésticos e industriais, águas doces (superficiais ou subterrâneas), bem como substâncias puras solubilizadas em água (em solução).

Conteúdo da embalagem

- * 25 ou 50 cubetas de teste (opcional);
- * Solução A;
- * Solução B;
- * Reagente C;
- * Solução D;
- * Bula instrutiva;
- * Bula prática resumida;
- * FISPQ.

Armazenamento do produto

Manter todos os frascos hermeticamente fechados e ao abrigo da luz, sob temperaturas de 4 a 8°C, até o momento da utilização.

Equipamentos e acessórios necessários ao ensaio

- * Pipetas com capacidade de transferência de 0,05mL, 1mL e 5mL;
- * Frasco opaco com capacidade mínima de 500 mL;
- * Sistema de aeração: pedra porosa conectada a um mini compressor de ar, através de uma mangueira de silicone;
- * Incubadora, termobloco ou similar, para manter as cubetas de teste a 20 °C, durante 5 dias;
- * Espectrofotômetro compatível para leitura de cubetas com diâmetro 13 mm, operando com comprimento de onda = 620 nm.

Interferentes da análise

Algumas substâncias presentes na amostra podem causar interferências no resultado da análise, gerando respostas incorretas. O quadro abaixo apresenta uma lista dos íons que provocam interferência na análise de DBO.

Íon	Concentração
Cl ⁻	> 10000 mg/L

Outros interferentes:

- * Peróxidos e outras substâncias com caráter fortemente oxidante;
- * Substâncias fortemente redutoras;
- * Cloro livre;
- * Luz pode causar reações fotossintéticas;
- * Qualquer coloração na amostra pode influenciar positiva ou negativamente no resultado;
- * Falta de homogeneidade da amostra;
- * Partículas em suspensão na cubeta analítica no momento da leitura do resultado;
- * Substâncias que absorvem na região do espectro eletromagnético na faixa de 620 nm.

Minimização do efeito dos interferentes

- * Para reduzir ou eliminar a interferência provocada por peróxidos e cloro livre: aerar a amostra por 15 minutos antes de sua utilização.
- * Para eliminar a interferência da luz durante a incubação das amostras: cubra as cubetas com papel alumínio.
- * Para minimizar as interferências provocadas pelos demais agentes mencionados no item anterior, recomenda-se a diluição da amostra.

Preparo da água de diluição

- * Inóculo: para o preparo da água de diluição é necessário o uso de micro-organismos (bactérias aeróbias), que podem ser obtidos comercialmente (inóculos preparados) ou em uma estação de tratamento de efluentes domésticos.
- Inóculo Comercial BIOCULT (Produto Qualykits Cód. BTL-02, fornecido separadamente): prepare conforme descrito na bula do produto.

- Inóculo de estação de tratamento: a partir de uma amostra de efluente do tanque de aeração, deixe decantar o lodo biológico e utilize o sobrenadante como inóculo. Recomenda-se que este inóculo seja utilizado em um período máximo de 7 dias.

Sugere-se que a água de diluição seja preparada semanalmente. Para o preparo da água de diluição, os passos 1 a 5 deverão ser seguidos:

1) Em um frasco opaco, utilizado somente para este fim, adicione 500 mL de água deionizada;

2) Introduza a pedra porosa do sistema de aeração na água e ligue o minicompressor de ar. Deixe a água aerando por 15 minutos;

3) Após os 15 minutos, mantenha o sistema de aeração ligado e adicione 1 mL da solução D e 0,25 mL do inóculo (obtido comercialmente ou em uma estação de tratamento);

4) Aere a água por 1 hora;

5) Após decorrido o tempo de 1 hora, desligue o sistema de aeração e mantenha a água em repouso por mais 1 hora antes do uso.

Nota: O volume de água de diluição que não for utilizado no mesmo dia do preparo deverá ser armazenado sob refrigeração, por no máximo 7 dias. Mesmo que a água de diluição não seja preparada no dia da realização do ensaio, esta deverá ser aerada por 1 hora e permanecer em repouso por mais 1 hora antes da utilização. A concentração de Oxigênio Dissolvido na água de diluição deverá ser superior a 6 mg O₂/L no momento do uso.

Preparo da amostra

A amostra deverá ser previamente diluída, visando enquadrar o resultado dentro das quatro faixas de leitura do kit, conforme descrito a seguir:

1) Faixa de leitura DBO ₅	2) Volume de amostra	3) Volume de água de diluição	4) Volume de amostra diluída para pipetar na cubeta	5) Fator de diluição
A: 5 – 38 mgO ₂ /L	-	-	0,9 mL	7
B: 25 – 138 mgO ₂ /L	1 mL	1 mL	0,5 mL	25
C: 100 – 550 mgO ₂ /L	0,5 mL	3,5 mL	0,5 mL	100
D: 300 – 1000 mgO ₂ /L	0,5 mL	11,5 mL	0,5 mL	300

6) Após a escolha da faixa de leitura, realize as pré-diluições em tubos de ensaio, pipetando os volumes indicados nas colunas 2 e 3 da tabela;

7) Em seguida, transfira o volume indicado na coluna 4 para a cubeta de teste;

8) Após a transferência das amostras pré-diluídas, preencha as cubetas de teste com água de diluição, tomando CUIDADO para que, no momento do fechamento da cubeta, não sejam formadas bolhas de ar;

9) Juntamente ao lote de amostras a ser analisado, incube uma cubeta denominada como CONTROLE, a qual é preenchida apenas por água de diluição, sem amostra.

Nota: recomenda-se, após a colocação das tampas, inverter a cubeta de cabeça para baixo, observando se alguma bolha de ar foi formada. Em caso afirmativo, abra a cubeta e adicione mais água de diluição, e repita o processo de fechamento, até que não sejam observadas bolhas.

CUIDADO! Ao fechar as cubetas não segure-as pelas duas extremidades opostas, risco de quebra e corte.

Incubação

10) Coloque as cubetas, controle e de teste, em banho-maria ou em termobloco de alumínio (produto Qualykits Cód. UP-302) e proteja-as da luz (sugestão: envolva com papel alumínio);

11) Em seguida, incube à 20°C ±2°C, por um período de 5 dias (±2 h).

Revelação

12) Após o período de 5 dias, retire as cubetas da incubadora e adicione 0,1 mL da solução A;

13) Em seguida, adicione 0,05 mL da solução B;

14) Depois, acrescente 1 mL de água deionizada no tubo *Eppendorf* contendo o reagente C e homogenize até completa dissolução;

Nota: após a dissolução do reagente C, este deve ser utilizado o quanto antes. Recomenda-se envolver o tubo com papel alumínio e armazená-lo sob refrigeração com o restante do kit. Ao menor sinal de oxidação, ou seja, mudança gradativa da coloração levemente azul para amarela, descartá-lo imediatamente.

15) Transfira 0,05 mL da solução preparada no item anterior (14) às cubetas;

16) Adicione 2 pérolas de vidro, feche e inverta as cubetas 3 vezes;

Nota: Após a adição de todos os reagentes será observada a formação de uma coloração avermelhada nas cubetas.

Leitura do resultado

17) Acesse o método pré-programado no espectrofotômetro (programa de usuário);

Nota: Diferente de outros kits, a programação da curva de calibração para o kit de DBO é FIXA e necessita da inserção de FÓRMULAS em seu espectrofotômetro, NÃO havendo a necessidade de alteração da curva conforme a mudança de lote. Solicite o manual "Como programar o espectrofotômetro para DBO5" para o nosso comercial.

18) Com um papel macio, limpe a superfície externa da cubeta Controle, inverta-a 10 vezes, para garantir a completa homogeneização e zere o equipamento. Para isso, insira a cubeta Controle no espectrofotômetro e aperte o botão "Zero";

19) Proceda a leitura da cubeta de teste, para isso, limpe a superfície externa da cubeta e inverta-a 10 vezes, em seguida insira a cubeta no equipamento e aperte o botão "Ler";

20) Selecione o fator de diluição, conforme coluna 5 da tabela;

21) O resultado será expresso em mgO_2/L . Se a amostra necessitou ser diluída para se encaixar na faixa D do kit, multiplique o resultado pelo fator de diluição.

Nota: após o procedimento, NÃO reutilize as cubetas.

Descarte de resíduos

Descartar em local adequado. A Qualykits se responsabiliza pela disposição final de seus produtos. Fica como responsabilidade do cliente o devido acondicionamento das cubetas e soluções e o transporte destas até a Umwelt. Certifique-se de que as cubetas estão devidamente fechadas e livres de vazamentos, antes de depositá-las no local pré-determinado.

Atendimento

Em caso de dúvidas, reclamações ou sugestões:

Telefone: +55 (47) 3325-3703

E-mail: qualykits@umweltambiental.com.br

PREPARO DA ÁGUA DE DILUIÇÃO PARTE 1/3

*BIOCULT: Inóculo de bactérias preparado especialmente para realização de ensaio de DBO₅. Fornecido separadamente.

INCUBAÇÃO DA AMOSTRA PARTE 2/3

1 Escolha a diluição da amostra, conforme o resultado esperado (faixa de leitura).

1	PRÉ-DILUIÇÃO DA AMOSTRA			5
	2	3	4	
RESULTADO ESPERADO (FAIXA DE LEITURA)	VOLUME DE AMOSTRA	VOLUME DE ÁGUA DE DILUIÇÃO	VOLUME DE AMOSTRA PRÉ-DILUÍDA PARA PIPETAR NA CUBETA DE TESTE	FATOR DE DILUIÇÃO
A 5 - 38 mgO ₂ /L	-	-	0,9 mL	7
B 25 - 138 mgO ₂ /L	1 mL	1 mL	0,5 mL	25
C 100 - 550 mgO ₂ /L	0,5 mL	3,5 mL	0,5 mL	100
D 300 - 1000 mgO ₂ /L	0,5 mL	11,5 mL	0,5 mL	300

REVELAÇÃO E LEITURA DO RESULTADO PARTE 3/3