



NORMA TÉCNICA

L5.120

Out/1991
13 PÁGINAS

Água - Demanda bioquímica de oxigênio (DBO) - método da diluição e incubação (20 graus centígrados, 5 dias) - método de ensaio

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

<http://www.cetesb.sp.gov.br>

| | | |
|--------|--|------------------|
| CETESB | ÁGUA - DETERMINAÇÃO DA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO) MÉTODO DA DILUIÇÃO E INCUBAÇÃO (20°C, 5 dias) Método de ensaio | L5.120 OUT/91 |
|--------|--|------------------|

| SUMÁRIO | Pág. |
|---|------|
| 1 Objetivo..... | 1 |
| 2 Normas e documento complementares..... | 1 |
| 3 Definição..... | 1 |
| 4 Aparelhagem..... | 1 |
| 5 Execução do ensaio..... | 4 |
| 6 Resultados..... | 8 |
| Anexo A - Adaptação da semente..... | 11 |
| Anexo B - Referências bibliográficas..... | 13 |

1 OBJETIVO

1.1 A presente Norma prescreve o método de determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) em amostras de águas naturais, efluentes domésticos e industriais, lodos e águas de mar.

2 NORMAS E DOCUMENTO COMPLEMENTARES

Na aplicação desta Norma é necessário consultar:

- L5.121 - Determinação de demanda química de oxigênio.
- L5.149 - Determinação de sólidos - Método gravimétrico.
- L5.169 - Determinação de oxigênio dissolvido - Método de Winkler modificado pela azida sódica.
- L5.186 - Determinação de oxigênio dissolvido - Método do eletro de membrana.
- Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água, da CETESB.

3 DEFINIÇÃO

Para os efeitos desta Norma é adotada a seguinte definição:

3.1 Demanda bioquímica de oxigênio

É a quantidade de oxigênio necessária para a oxidação biológica e química das substâncias oxidáveis contidas na amostra, nas condições do teste.

4 APARELHAGEM

4.1 Vidraria, materiais equipamentos

4.1.1 Incubadora, a ar ou um banho de água termostatizado, $20 \pm 1^\circ\text{C}$, sem luz.

4.1.2 Frascos de DBO, vidro borossilicato ou similar, boca estreita, volume 250-300 mL, tampa esmerilhada, com "selo d'água".

4.1.3 Provetas graduadas, vidro borossilicato, com tampa de polietileno ou polipropileno, 1 000 mL.

4.1.4 Béqueres, 500, 1 000 e 2 000 mL.

4.1.5 Pipetas volumétricas, volumes diversos.

4.1.6 Balões volumétricos, vidro borossilicato, com tampa de polietileno ou polipropileno, volumes diversos.

4.1.7 Vidraria, materiais e equipamentos para determinação de oxigênio dissolvido (vide cap. 2).

4.2 Reagentes

Todos os reagentes devem ser p.a.-A.C.S.

4.2.1 Água destilada e desionizada contendo menos que 0,01 mg/L de cobre, isenta de cloro, cloraminas, alcalinidade de hidróxidos, matéria orgânica e ácidos.

4.2.2 Solução-tampão de fosfatos

Dissolver 8,5 g de fosfato monobásico de potássio, KH_2PO_4 , p.a., 21,75 g de fosfato dibásico de potássio, K_2HPO_4 , p.a., 33,4 g de fosfato dibásico de sódio heptahidratado, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, p.a., e 1,7 g de cloreto de amônio, NH_4Cl , p.a., em 500 mL de água destilada e desionizada e diluir a 1 000 mL. O pH da solução deve ser 7,2 sem ajustes.

4.2.3 Solução de sulfato de magnésio

Dissolver 22,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, p.a., em água destilada e desionizada e diluir a 1 000 mL.

4.2.4 Solução de cloreto de cálcio

Dissolver 27,5 g de CaCl_2 anidro. p.a., em água destilada e desionizada e diluir a 1 000 mL.

4.1.5 Solução de cloreto férrico

Dissolver 0,25 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, p.a., em água destilada e desionizada e diluir a 1 000 mL.

4.2.6 Solução de hidróxido de sódio 1N

Dissolver 40 g de NaOH, p.a., em água destilada e desionizada isenta de CO_2 e diluir a 1 000 mL. Guardar em frasco de polietileno com tampa de polietileno, ou em frasco vidro borossilicato, com rolha

de borracha.

4.2.7 Solução de ácido sulfúrico 1N

Diluir 28 mL de H_2SO_4 conc., p.a., a 1 000 mL, com água destilada e desionizada.

4.2.8 Reagentes para determinação de oxigênio dissolvido

Consultar a determinação de oxigênio dissolvido, método de Winkler modificado pela azida sódica (ver Norma L5.169).

4.2.9 Solução de sulfito de sódio 0,025 N

Dissolver 1,575 g de Na_2SO_3 anidro, p.a., em 1 000 mL de água destilada.

4.2.10 Solução padrão de DBO (200 mg/L O_2)

Dissolver 0,15 g de glicose, $C_6H_{12}O_6$, p.a., e 0,15 g de ácido glutâmico, $C_5H_9NO_4$, p.a., previamente secos a $103^\circ C$ por 1 hora. Após a dissolução diluir a 1 000 mL com água destilada e desionizada. Armazenar a solução em frasco âmbar e autoclavar.

4.2.11 Solução padrão de DBO (20 mg/L O_2)

Diluir 100 mL da solução-padrão de DBO (4.2.10) a 1 000 mL com água destilada e desionizada. Armazenar a solução em frasco âmbar e autoclavar.

4.2.12 Solução-padrão de DBO (5 mg/L O_2)

Diluir 25 mL da solução-padrão de DBO (4.2.10) a 1 000 mL com água destilada e desionizada. Armazenar a solução em frasco âmbar e autoclavar.

4.2.13 Água de diluição sem semente

Estocar a água destilada e desionizada a $20^\circ C$ e no escuro, em recipiente de vidro com tampa de algodão, por um período suficiente para saturá-la de oxigênio. No momento do uso, adicionar 1 mL de cada um dos reagentes: solução-tampão de fosfatos (4.2.2), sulfatos de magnésio (4.2.3), cloreto de cálcio (4.2.4) e cloreto férrico (4.2.5) por litro de água destilada e desionizada. Utilizar a água de diluição a $20 \pm 1^\circ C$. A água de diluição sem semente não deve consumir mais que 0,2 mg/L de oxigênio num período de incubação de 5 dias.

ALTERNATIVA: Saturar a água destilada e desionizada, de oxigênio, aerando-a com ar comprimido limpo (pode-se usar bomba de ar do tipo das usadas em aquário).

4.2.14 Água de diluição com semente (preparar diariamente)

Proceder como em 4.2.13 (ou ALTERNATIVA). No momento do uso, adicio

nar também uma quantidade adequada de semente por litro de água destilada e desionizada, isto é, uma quantidade de semente que cause uma correção ($C_s \times R$) da ordem de 0,6 mg/L pelo menos.

Nota: Método prático para determinar quantidade de semente a adicionar à água de diluição.

% semente na água de diluição, $P = \frac{60}{\text{DQO da semente}}$, e volume

de semente a acrescentar a 1 litro de água de diluição $V = 10P$.

4.2.15 Semente comum

Armazenar uma porção de esgoto doméstico decantado a 20°C durante 24-36 h, com aeração. Usar em seguida.

4.2.16 Semente adaptada

Adaptação da semente (ver Anexo A).

5 EXECUÇÃO DO ENSAIO

5.1 Princípio do método

Uma amostra, ou diluições apropriadas da mesma, é incubada nas condições do teste. A diferença entre as concentrações de oxigênio no início e no fim do período de incubação corresponde à demanda bioquímica de oxigênio.

5.1.1 Existem variações do método, adaptando-o aos diversos tipos de amostra, a saber:

Método A: da incubação sem diluição - aplica-se a águas superficiais e águas superficiais pouco poluídas, que contêm microrganismos próprios e oxigênio suficiente para que, após 5 dias de incubação, ainda haja oxigênio na amostra.

Método B: da incubação com diluição - aplica-se a águas superficiais poluídas, efluentes e águas residuárias, que têm microrganismos próprios, porém não têm oxigênio suficiente para que, após 5 dias de incubação, ainda haja oxigênio na amostra.

ALTERNATIVA: No caso de baixa DBO esperada, aerar a amostra por 5 minutos aproximadamente, para que sua concentração inicial de oxigênio dissolvido seja superior à requerida pela DBO, ou seja, pelo menos 7 mg/L.

Método C: da incubação com diluição e semeadura - aplica-se a águas residuárias e efluentes que não possuem microrganismos próprios nem

oxigênio na amostra.

ALTERNATIVA: No caso de baixa DBO esperada, aerar a amostra por 5 minutos aproximadamente, para que sua concentração inicial de oxigênio dissolvido seja superior à requerida pela DBO, ou seja, pelos mesmos 7 mg/L. Semear em seguida.

Método D: da suspensão e incubação, com diluição e semeadura - aplica-se a lodo.

5.2 Interferentes

5.2.1 A temperatura da incubação da amostra interfere na metabolização da matéria orgânica; sendo assim, a temperatura é padronizada em $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

5.2.2 O pH da amostra interfere no comportamento dos microrganismos; sendo assim, o pH é padronizado em 6,5 a 7,5.

5.2.3 O tempo de incubação interfere na quantidade e no tipo de matéria orgânica oxidada; sendo assim, o tempo de incubação é padronizado em 5 dias; admite-se que, neste período, 80% da matéria orgânica carbonada já esteja mineralizada e esteja começando a nitrificação. Uma oxidação total, em geral, leva em torno de 20 dias.

5.2.4 A qualidade da água de diluição interfere no desenvolvimento dos microrganismos; a água de diluição padronizada deverá conter quantidade apropriada de nutrientes minerais e de solução-tampão.

5.2.5 A presença de luz estimula a produção de oxigênio pelas algas presentes na amostra; sendo assim, a incubação padronizada é feita no escuro.

5.2.6 As formas biológicas presentes na amostra durante a incubação devem estar aptas a utilizar a matéria orgânica da amostra como alimento, por isso é recomendada a adaptação dos microrganismos (semente) à amostra (ver Anexo A).

5.2.7 O cloro interfere no desenvolvimento dos microrganismos da amostra; assim, o procedimento-padrão indica a eliminação do cloro, sempre que houver;

5.2.8 Amostras supersaturadas podem perder oxigênio durante a incubação; o procedimento-padrão indica redução da concentração de oxigênio para o nível de saturação a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$;

5.2.9 Interferem ainda outros fatores dificilmente controláveis,

tais como: a duração da fase lag dos microrganismos, a velocidade de utilização do oxigênio pelos mesmos, a atividade e a concentração desconhecidas dos microrganismos, como também a eventual presença de tóxicos e a alteração na concentração de tóxicos, em virtude da diluição da amostra;

5.3 Coleta de amostras

As amostras para a determinação de DBO são coletadas conforme o Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água, da CETESB.

5.4 Método A

5.4.1 Procedimento

5.4.1.1 Encher 2 frascos de DBO com amostra homogênea até transbordar e tampá-los, tendo o cuidado de não deixar bolhas de ar no interior do mesmo. No caso de se utilizar o método do eletrodo de membrana (2), opcionalmente poderá se encher apenas um frasco.

5.4.1.2 Após 15 minutos, determinar a concentração de oxigênio dissolvido, OD_1 , de um dos frascos.

5.4.1.3 Incubar o outro frasco por 5 dias a $20 \pm 1^\circ C$ no escuro.

5.4.1.4 Após 5 dias, determinar a concentração de oxigênio dissolvido, OD_5 , deste outro frasco.

5.5 Método B

5.5.1 Procedimento

5.5.1.1 Se a concentração de oxigênio dissolvido na amostra for superior a 9 mg/L, encher parcialmente um frasco com um volume suficiente de amostra, esperar a amostra atingir $20 \pm 1^\circ C$ aproximadamente e, em seguida, agitá-la intensamente, baixando, assim, a concentração de oxigênio para níveis de saturação.

5.5.1.2 Num béquer, ajustar o pH de um volume suficiente de amostra, ou de amostra tratada conforme o item 5.5.1.1, em 6,5 a 7,5, de necessário.

5.5.1.3 Utilizando 4 provetas de 1 000 mL. preparar 4 diluições adequadas da amostra, enchendo as provetas parcialmente com água de diluição sem semente (4.2.13), em seguida acrescentando a cada proveta a quantidade V de amostra correspondente para se obter as diluições adequadas e completando os volumes a 1 000 mL com a referida água de diluição.

Nota: Método prático de determinação das diluições adequadas:

% de amostra na 3ª proveta, $P_3 = \frac{1200}{\text{DQO da amostra}}$, e volume

de amostra na 3ª proveta, $V_3 = 10P_3$. Daí:

$$P_4 = 2P_3 \text{ aproximadamente}$$

$$V_4 = 10P_4$$

$$P_2 = \frac{P_3}{2} \text{ aproximadamente}$$

$$V_2 = 10P_2$$

$$P_1 = \frac{P_3}{4} \text{ aproximadamente}$$

$$V_1 = 10P_1.$$

5.5.1.4 Transferir, por sifonação, a amostra diluída de cada proveta para 2 frascos de DBO, enchendo-os até transbordar; tampá-los, tendo o cuidado de não deixar bolhas de ar no interior dos mesmos. Obtêm-se, então, 2 séries de diluições da amostra. No caso de se utilizar o método do eletrodo de membrana (2), opcionalmente poderá se encher apenas um frasco.

5.5.1.5 Após 15 minutos, determinar a concentração de oxigênio dissolvido OD_1 , de uma das séries de frascos.

5.5.1.6 Incubar a outra série de frascos por 5 dias a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro.

5.5.1.7 Após 5 dias, determinar a concentração de oxigênio dissolvido, OD_5 , desta outra série.

5.5.1.8 Efetuar um controle da água de diluição sem semente: encher 2 frascos de DBO, medir a concentração de oxigênio de um deles e a do outro após 5 dias de incubação. Verificar a quantidade de oxigênio consumida, que não deverá ser superior a 0,2 mg/L.

5.5.1.9 Correr 3 padrões conforme itens 4.2.10 a 4.2.12.

5.6 Método C

5.6.1 Procedimento

5.6.1.1 Se a concentração de oxigênio dissolvido na amostra for superior a 9 mg/L, encher parcialmente um frasco com um volume suficiente de amostra, esperar a amostra atingir $20 \pm 1^\circ\text{C}$ aproximadamente, e, em seguida, agitá-la intensamente, baixando, assim, a concentração de oxigênio para níveis de saturação.

5.6.1.2 Num béquer, ajustar o pH de um volume suficiente de amostra, ou de amostra tratada conforme o item 5.6.1.1, em 6,5 a 7,5, se necessário.

5.1.6.3 Se necessário, eliminar pequenas concentrações de cloro residual, deixando a amostra em repouso por 1 a 2 horas antes de processá-la.

5.6.1.4 Se necessário, eliminar o cloro residual em concentrações maiores acrescentando à amostra neutralizada uma quantidade suficiente de solução de sulfito de sódio. Determinar a quantidade suficiente testando uma porção de amostra em separado: a 100 mL de amostra adicionar 10 mL de solução de ácido acético 1 + 1 e 10 mL de solução de iodeto de potássio 10 g/L e titular o iodo liberado com a solução de sulfito de sódio (4.2.9). A uma outra porção suficiente de amostra adicionar solução de sulfito de sódio em quantidade indicada pelo teste. Esperar 10 a 20 minutos e, então, continuar conforme os itens 5.6.1.5 e 5.6.1.6.

5.6.1.5 Proceder como em 5.5.1.3 (e Nota), 5.5.1.4, 5.5.1.5, 5.5.1.6 e 5.5.1.7, empregando água de diluição com semente (4.2.14).

5.6.1.6 Proceder com a semente como em 5.5.1.2 e depois 5.5.1.3 (e Nota), 5.5.1.4, 5.5.1.5, 5.5.1.6, 5.5.1.7 e 5.5.1.8 e 5.5.1.9.

5.7 Método D

5.7.1 Procedimento

5.7.1.1 Preparar uma suspensão de uma quantidade conhecida de lodo (20 g aproximadamente) em 1 litro de água destilada e desionizada.

5.7.1.2 Num béquer, ajustar o pH da suspensão em 6,5 a 7,5 se necessário.

5.7.1.3 Proceder com a suspensão como em 5.5.1.3 (e Nota), 5.5.1.4, 5.5.1.5, 5.5.1.6 e 5.5.1.7, empregando água de diluição com a semente (4.2.14).

5.7.1.4 Proceder com a semente como em 5.5.1.2 e depois 5.5.1.3 (e Nota) 5.5.1.4, 5.5.1.5, 5.5.1.6, 5.5.1.7 e 5.5.1.8. No caso de se utilizar o método de eletrodo de membrana (2), opcionalmente poderá se encher apenas um frasco.

5.7.1.5 Em separado, determinar o teor de sólidos do lodo (ver cap. 2).

6 RESULTADOS

6.1 Expressão dos resultados

6.1.1 A expressão do resultado da DBO é (Método A):

$$\text{mg/L} = \text{OD}_1 - \text{OD}_5$$

6.1.2 A expressão do resultado da DBO é (Método B), para cada diluição:

$$\text{mg/L} = \frac{(\text{OD}_1 - \text{OD}_5) \times 100}{\% \text{ amostra}}, \text{ e o resultado é a média daqueles}$$

para os quais a quantidade de O_2 consumida durante a incubação represente 28 a 86% da quantidade inicial de O_2 .

$$\text{Nota: } \% \text{ O}_2 \text{ consumido} = \frac{(\text{OD}_1 - \text{OD}_5) \times 100}{\text{OD}_1}$$

6.1.3 A expressão do resultado da DBO é (Método C), para cada diluição:

$$\text{mg/L} = \frac{[(\text{OD}_1 - \text{OD}_5) - (C_s \times R)] \times 100}{\% \text{ da amostra}}$$

onde:

$$R = \frac{100 - \% \text{ amostra}}{100}$$

$$C_s = \frac{\text{DBO}_s \times \% \text{ semente na água de diluição}}{100}$$

DBO_s = DBO da semente calculada conforme item 6.1.2.

6.1.4 A expressão do resultado da DBO é (Método D), para cada diluição:

$$\text{mg/L} = \frac{[(\text{OD}_1 - \text{OD}_5) - (C_s \times R)] \times 100}{S \times Q \times T_s}$$

onde:

S = % de suspensão que foi diluída

Q = quantidade de lodo com que foi preparada a suspensão, em g

T_s = teor de sólidos do lodo, determinado à parte.

6.2 Precisão e exatidão

6.2.1 Conforme "Standard Methods for the Examination of Water and

Wastewater", 17ª ed., um único laboratório usou como teste uma mistura de glicose-ácido glutâmico, de 300 mg/L, e os resultados obtidos foram:

Número de meses = 14

Número de triplicatas = 421

Média mensal recuperada = 204 mg/L

Média mensal de desvio-padrão = 10,4 mg/l.

/ANEXO A

REVOGADA

ANEXO A - ADAPTAÇÃO DA SEMENTEA-1 Generalidades

A-1.1 A finalidade da semente é introduzir na amostra uma população biológica capaz de oxidar a matéria orgânica presente. Quando já existem microrganismos na amostra, como no caso de esgotos, águas de superfície e alguns efluentes não clorados, não é preciso empregar semente. Quando não houver microrganismos na amostra ou quando houver poucos (em virtude de temperatura elevada ou condições extremas de pH) é preciso empregar semente.

A-1.2 O material mais comumente empregado como semente é esgoto doméstico sedimentado armazenado a 20°C por 24 a 36 h, com aeração.

A-1.3 Quando o material orgânico a ser oxidado não é facilmente oxidável pelos microrganismos do esgoto doméstico, emprega-se semente adaptada à utilização deste material orgânico. A semente adaptada pode ter diferentes origens:

- a) efluentes de um processo de tratamento biológico que recebe material orgânico em questão;
- b) uma porção de água do curso que recebe o material em questão, alguns quilômetros após o seu ponto de lançamento no curso d'água;
- c) adaptada em laboratório.

A-2 Adaptação da semente em laboratório

A-2.1 Coletar uma amostra representativa do resíduo (A).

A-2.2 Coletar uma amostra de esgoto doméstico em uma estação de tratamento onde não haja contribuição de efluentes industriais (E).

A-2.3 Colocar uma amostra do rio em que o efluente vai ser lançado a 2-3 km do ponto de lançamento, isto é, num ponto em que ainda haja vestígios do despejo (odor, cor, matéria orgânica e organismos adaptados) (R).

A-2.4 Determinar pH, DQO e concentração de tóxicos da amostra (A).

A-2.5 Misturar (E) com (R). Esta mistura constitui a fonte de microrganismos para adaptação (M).

A-2.6 Num recipiente, colocar porções de (A) e de (M), cujos volumes são função da concentração de tóxicos, de forma que a mistura M₁ resultante tenha DQO da ordem de 60 mg/L.

A-2.7 Aerar à temperatura ambiente e sem luz durante 24 h.

A-2.8 Retirar 1/3 do volume de M_1 e fazer exame biológico (quantidade de protozoários) e DQO.

A-2.9 Completar o volume inicial de (M_1), com uma mistura de esgoto doméstico e despejo, de modo que a DQO da nova mistura (M_2) seja de 60 mg/L aproximadamente.

A-2.10 Repetir os itens A-2.7, A-2.8, A-2.9, completando com quantidades crescentes de amostra, até que o valor da DQO encontrado seja baixo e o exame biológico indique bom aumento do nº de protozoários. Usar então, a mistura como semente sem nova substituição.

A-2.11 Se a matéria orgânica da amostra for difícil de degradar, acrescentar substância orgânica e, quando houver adaptação a esta substância, continuar o processo substituindo gradativamente a substância pela amostra, 10 a 20% cada vez.

/ANEXO B

ANEXO B - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- B-1 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Standard methods for the examination of water and wastewater. 13 ed., New York, APHA, AWWA, WPCF, 1971.
- B-2 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Standard methods for the examination of water and wastewater, 14 ed., New York, APHA, AWWA, WPCF, 1975.
- B-3 SAWYER, C.S. & McCARTY, P.L. - Chemistry for sanitary engineers. 2 ed., New York, McGraw-Hill Book Co., c 1967. (series in Sanitary Science and Water Resources Engineering).
- B-4 ENVIRONMENTAL CANADA. Water Quality Branch - Analytical methods manual. Ottawa, 1974.
- B-5 ASTM - Annual book of ASTM standard. Philadelphia, 1975, vol. 31.
- B-6 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Standard methods for the examination of water and wastewater., 17 ed., New York, APHA, AWWA, WPCF, 1990.