

Indicadores microbiológicos como parâmetro de qualidade da água de dois corpos hídricos na ARIE Floresta da Cicuta - RJ

Victor Maximiliano Reis Tebaldi

Professor Doutor, Centro Universitário de Barra Mansa, UBM

Silvério Pereira

Graduando em Biologia.

Centro Universitário de Barra Mansa, UBM

Elaine Maria Pizol Sanches

Bióloga. Departamento de Laboratórios Multidisciplinares.

Centro Universitário de Barra Mansa, UBM

Sandro Leonardo Alves

Analista Ambiental. Instituto Chico Mendes da Biodiversidade - ICMRio

Resumo

O trabalho visou avaliar a qualidade da água de dois corpos hídricos na ARIE Floresta da Cicuta-RJ. Foram amostrados três pontos do rio Brandão e cinco pontos do córrego Águas Frias. Foi empregada a técnica de plaqueamento em profundidade para a contagem de microrganismos heterotróficos totais e a técnica do Número Mais Provável (NMP) para enumeração de coliformes. Os resultados evidenciaram a contaminação dos corpos hídricos por coliformes totais e termotolerantes. Foi confirmada a presença de *E. coli* em quatro pontos do córrego Águas Frias. As contagens de microrganismos heterotróficos revelaram valores de: máximo $1,6 \times 10^7$ UFC/mL e mínimo de $8,0 \times 10^2$ UFC/mL. Ressalta-se a necessidade de ações voltadas para a educação ambiental, evitando os despejos de resíduos não tratados. Salienta-se a importância da adoção de políticas públicas das cidades para tratamento de esgotos e a importância do monitoramento frequente da qualidade da água nesta Unidade de Conservação.

Palavras-chave: Água. Recursos naturais. Contaminação. Coliformes.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the quality of water from two water bodies at ARIE Forest of Cicuta-RJ. Were sampled three points of the Brandão river and five points of the Águas Frias stream. The depth plating technique was used to count total heterotrophic microorganisms whereas the Most Probable Number (MPN) technique was utilized to enumerate coliforms. The results evidenced the contamination of the water bodies by total and thermotolerant coliforms. The presence of *E. coli* was confirmed in four points of the Águas Frias stream. The counting of heterotrophic microorganisms revealed maximum values of 1.6×10^7 CFU/mL and minimum of 8.0×10^2 CFU/mL. Emphasis is placed on the need for actions focused on environmental education, against the dumping of untreated waste. It is highlighted the importance of the adoption of public policies by cities for sewage treatment and the importance of frequent monitoring of water quality in this Conservation Unit.

Key words: Water. Natural resources. Contamination. Coliforms.

Introdução

A água doce é um recurso finito e indispensável à manutenção da vida na Terra e vem sendo alvo de discussões sobre a poluição, escassez e suas formas de uso. É um dos elementos mais importantes da biosfera para a sobrevivência da espécie humana, bem como de toda a vida na Terra (CUNHA et al., 2010).

O crescimento urbano e indiscriminado próximo a mananciais e rios causa a remoção florestal, despejo de lixos e esgotos e impermeabilização do solo, tornando a qualidade da água desse manancial comprometida pela presença de coliformes, e outros contaminantes provenientes de resíduos urbanos e industriais (ANDREOLI et al., 2000).

A degradação da alta carga de matéria orgânica trazida pelo esgoto e lixiviação de solos acarreta, na depleção de oxigênio da água, aumento da turbidez, levando à redução da fotossíntese e produção primária, aumento da concentração de alguns micropoluentes e da concentração de metais e microrganismos patogênicos (PAULA et al., 2013).

Indicadores microbiológicos têm sido utilizados mundialmente para verificar a contaminação de corpos hídricos por resíduos humanos. Tipicamente, são utilizados organismos que são encontrados em elevadas concentrações em fezes humanas. Os indicadores geralmente utilizados incluem coliformes totais, coliformes fecais, *Escherichia coli* e enterococci (SHIBATA et al., 2004).

O escoamento superficial, durante o período de chuva, é o fator que mais contribui para a mudança da qualidade microbiológica da água. A presença de coliformes nas amostras de água de mananciais, segundo Amaral et al. (2003), tem relação direta com a presença de chuva, devido ao arraste de excretas humanas e animais. A ausência de tratamento favorece o alto nível de contaminação.

As bacias hidrográficas constituem ecossistemas adequados para avaliação dos impactos causados pela atividade antrópica, os quais acarretam riscos ao equilíbrio e a manutenção da quantidade e qualidade da água (TORRES et al., 2009).

No Estado do Rio de Janeiro, os remanescentes florestais constituem porção estratégica ao longo da zona de ocorrência da Floresta Atlântica, pois concentram elevada riqueza de espécies, apresentando várias áreas reconhecidas como de “Extrema Importância Biológica” (ROCHA et al., 2003).

Inserida neste contexto está a Floresta da Cicuta, localizada entre os municípios de Barra Mansa-RJ e Volta Redonda-RJ e cortada pelo Rio Brandão, um dos afluentes do Rio Paraíba do Sul. A Unidade de Conservação (UC) também é banhada pelo córrego Águas Frias, e ambos os rios servem para dessedentação animal além de oferecerem proteção natural contra incêndios. O Brandão é um rio quase totalmente urbano e ao longo de seu curso recebe despejo de esgoto doméstico de vários bairros. Dessa forma, o rio chega à Floresta com alta carga de poluentes.

Diante do exposto, o trabalho visou avaliar a qualidade da água de dois corpos hídricos situados na Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE) Floresta da Cicuta com base nos indicadores microbiológicos.

Metodologia

ÁREA DE ESTUDO E DELINEAMENTO AMOSTRAL

Situada entre as Serras do Mar e da Mantiqueira, abrangendo parte dos municípios de Barra Mansa e Volta Redonda, na região do Médio Vale do Paraíba do Sul, Rio de Janeiro, a Floresta da Cicuta encontra-se atualmente protegida pelo decreto nº. 90.792 de 9 de janeiro de 1985, estando enquadrada na categoria de ARIE. Esta Unidade de Conservação localiza-se entre as coordenadas de 22° 24' e 22° 38' Sul e 44° 09' e 44° 20' Oeste, compreendendo 131 ha. As altitudes variam entre 300 a 500 m (MONSORES et al.1982). Na classificação de Köppen, o clima local é mesotérmico (Cwa), com inverno seco e verão quente e chuvoso, com elevados índices de umidade. As temperaturas médias anuais variam entre 17°C (julho) e 24°C (fevereiro) e as precipitações entre 1.000 a 1.600 mm/ano (MONSORES et al., 1982).

PONTOS DE COLETA

Foram selecionados três pontos para coleta de água ao longo do rio Brandão (BD1, BD2 e BD3) e cinco pontos de coleta, ao longo do córrego Águas Frias (AF1, AF2, AF3, AF4 e AF5) (Figura 1). As coordenadas geográficas, de acordo com cada ponto, são: P. 73: 22° 33' e 20,9" sul 44° 05' e 14,3" oeste (BD1); P. 74: 22° 32' e 36,4" sul 44° 05' e 19,7" oeste (BD2); P. 75: 22° 32' e 48,7" sul 44° 05' e 10" oeste (BD3); P.

327: 22° 33' e 0,0° sul 44° 05' 33,8" oeste (AF1); P. 328: 22° 32' e 53° sul 44° 05' 31,6" oeste (AF2); P. 329: 22° 32' e 50,6° sul 44° 05' 25,1" oeste (AF3); P. 330: 22° 33' e 52,6° sul 44° 05' 18,3" oeste (AF4); P. 331: 22° 32' e 54,5° sul 44° 05' 16,4" oeste (AF5).



Figura 1. Vista aérea da ARIE Floresta da Cicuta destacando os pontos de coleta de água

COLETA DAS AMOSTRAS

As coletas foram realizadas com a autorização para atividades com finalidade científica expedida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), sob o número: 57573.

As amostras foram coletadas em frascos estéreis, sendo imersos contra a correnteza até a profundidade de aproximadamente 20 cm, de modo a coletar um volume de água superior a 100 mL, deixando um espaço livre no frasco para agitação antes de proceder as análises.

Após identificação das amostras, as mesmas foram acondicionadas em recipiente térmico e imediatamente conduzidas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Barra Mansa para realização das análises.

CONTAGEM DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS TOTAIS

As amostras coletadas tiveram seus frascos homogeneizados com 25 movimentos suaves. Em seguida, foi retirado 1 mL da amostra e transferido para série de tubos, contendo 9 mL de Tampão Fosfato com Cloreto de Magnésio, obtendo-se diluições seriadas decimais até 10^{-5} .

Foi empregada a técnica de plaqueamento em profundidade (*pour platè*), transferindo-se alíquotas de 1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-4} em placas de Petri estéreis. Em seguida, foram adicionados ~ 20 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), previamente fundido e resfriado a 44-46°C. Em seguida, o inóculo foi misturado com o meio de cultura, por meio de movimentos circulares suaves, em forma de “8”. Após solidificação do meio, as placas foram incubadas a 37°C/24h, com posterior contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). O plaqueamento de todas as amostras foi conduzido em triplicata. As análises foram realizadas de acordo com Silva et al. (2010).

ENUMERAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

As amostras foram homogeneizadas por agitação, invertendo o frasco 25 vezes em ângulo de 45°. Alíquotas de 1 mL das amostras de água foram transferidas para tubos contendo 9 mL de Tampão Fosfato com Cloreto de Magnésio, realizando-se diluições seriadas até 10^{-5} . Em seguida, alíquotas de 1mL das diluições foram transferidas para séries de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em dupla concentração e incubados a 35°C/24-48h. Foram considerados positivos os testes que apresentaram produção de gás nos tubos de Durham. A partir dos tubos positivos de caldo LST, foram transferidas alíquotas com alça de semeadura para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante (VB) e Caldo *Escherichia coli* (EC), para a realização de testes confirmativos para coliformes totais e termotolerantes, respectivamente. Os tubos contendo Caldo VB foram incubados a 35°C/24-48h e Caldo EC a 45°C/24h. Os tubos de EC positivos para coliformes termotolerantes foram suspeitos da presença de *E. coli* sendo então confirmada sua presença por meio de provas bioquímicas.

CONFIRMAÇÃO DA PRESENÇA DE *Escherichia coli*

Para confirmação de *Escherichia coli*, uma alçada de cada tubo de caldo EC positivo foi estriada em Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). As placas foram incubadas a 35°C/24h. Das placas que apresentaram crescimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com o centro preto com ou sem brilho verde metálico) foram coletadas e transferidas colônias isoladas para tubos contendo Ágar Trypticase de Soja (TSA) inclinado, incubando-os a 35°C/24h. Após o crescimento no Ágar TSA. A confirmação de *E. coli* foi realizada por meio de testes bioquímicos IMVIC (indol; vermelho de metila; Voges-Proskauer; citrato).

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 estão expressos os resultados da quantificação de microrganismos heterotróficos totais, coliformes totais (35°C) e coliformes termotolerantes (45°C) nas amostras de água do rio Brandão e córrego Águas Frias.

Tabela 1. Resultados das contagens de microrganismos heterotróficos totais, coliformes totais e termotolerantes em amostras de água coletadas na ARIE Floresta da Cicuta

Amostras	Contagem de Heterotróficos totais (UFC/mL)	Coliformes Totais (NMP/100 mL)	Coliformes Termotolerantes (NMP/100 mL)
BD1	$1,0 \times 10^6$	$4,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$
BD2	$7,6 \times 10^4$	$7,8 \times 10^2$	$7,8 \times 10^2$
BD3	$1,6 \times 10^7$	$4,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$
AF1	$2,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$
AF2	$8,0 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$
AF3	$1,0 \times 10^5$	$2,4 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$
AF4	$5,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$6,8 \times 10^2$
AF5	$7,9 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$

Nota: Amostras com números antecedidos pelas letras BD referem-se aos pontos de coleta do rio Brandão, amostras com números antecedidos pelas letras AF referem-se aos pontos de coleta do córrego Águas Frias

Os resultados encontrados neste trabalho revelaram valores para contagem de coliformes termotolerantes que alcançaram 1000 NMP/100 mL em algumas das

amostras analisadas. De acordo com a Resolução do CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005, a água analisada na ARIE Floresta da Cicuta é classificada como água de classe especial. No que concerne aos parâmetros microbiológicos de qualidade, a legislação não estipula valores para coliformes fecais para esta classe. No entanto, essa água é utilizada para dessedentação de animais no interior da Floresta e é importante para a conservação de comunidades aquáticas e manutenção do equilíbrio ecológico. Dessa forma, é importante que sua qualidade microbiológica seja satisfatória.

O principal rio que corta a ARIE, o rio Brandão, está poluído e assoreado, e ocorre frequentemente carreamento de lixo e chorume, devido ao Aterro Sanitário de Volta Redonda estar localizado a montante da UC. Esse rio, parte da beleza cênica local, já chega à ARIE com altos índices de contaminação por efluentes domésticos e lixo. Foi encontrado, na área da represa, inclusive material de lixo hospitalar, além de toda ordem de material, tais como pneus e garrafas de plástico, transportados em épocas de alta vazão. A UC também é banhada pelo córrego Águas Frias, e outros tributários que servem para a dessedentação dos animais e oferecem proteção natural contra incêndios (BRASIL, 2016).

De acordo com os resultados encontrados, pode-se constatar que despejos de esgotos são lançados em alguns pontos dos corpos hídricos, estudados antes da passagem dos mesmos pela ARIE, tornando essa água contaminada por microrganismos. Segundo Cunha et al. (2010), uma forte alteração dos níveis de concentração de coliformes fecais **em alguns corpos d'água podem ser observados** nas áreas de drenagem próximas e intercortadas por zonas urbanas e periurbanas.

Maiores valores para contagem de microrganismos heterotróficos totais foram observados nas águas do rio Brandão ($1,6 \times 10^7$ UFC/mL) quando comparados com os valores encontrados nas águas do córrego Águas Frias (valor máximo de $7,9 \times 10^4$ UFC/mL), não existindo na legislação vigente um valor aceitável para esta categoria de microrganismos. Vale ressaltar que nas águas onde o índice de bactérias heterotróficas totais foi mais alto, a contagem de coliformes foi menor.

Mesmo que a maioria das bactérias heterotróficas da água não seja considerada patogênica, é importante que sua densidade seja mantida sob controle, pois densidades muito elevadas dessas bactérias na água podem causar riscos à saúde. Algumas dessas bactérias podem atuar como patógenos oportunistas, deteriorantes da qualidade da água; ocasionando odores e sabores desagradáveis e produzindo limo e películas, e influência

inibidora de alguns microrganismos; pois quando presentes em número elevado podem impedir a detecção de coliformes (FILHO e DIAS, 2008).

Segundo a Portaria nº 1.469, de 29 de dezembro de 2000 do Ministério da Saúde, a contagem de bactérias heterotróficas totais segue pela determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir unidades formadoras de colônias (UFC), na presença de compostos orgânicos contidos em meio de cultura apropriado, sob condições pré-estabelecidas de incubação: 35,0, ± 0,5°C por 48 horas (BRASIL, 2001).

Na Tabela 2 estão expressos os resultados das provas bioquímicas para a confirmação da presença ou ausência da *E. coli* nas amostras de água analisadas.

Tabela 2. Resultados das provas bioquímicas para confirmação da presença de *Escherichia coli* nas amostras de água analisadas

Amostras	<i>Escherichia coli</i>
BD1	Ausência
BD2	Ausência
BD3	Ausência
AF1	Ausência
AF2	Presença
AF3	Presença
AF4	Presença
AF5	Presença

Nota: Amostras com números antecidos pelas letras BD referem-se aos pontos de coleta do rio Brandão, amostras com números antecidos pelas letras AF referem-se aos pontos de coleta do córrego Águas Frias

A presença de *E. coli* foi confirmada em quatro pontos do córrego Águas Frias, não sendo detectada em nenhum dos três pontos analisados do rio Brandão. A não detecção do microrganismo talvez possa ter correlação com a alta contagem de microrganismos heterotróficos apresentada nos pontos amostrados do Rio Brandão. Diante dos resultados apresentados nos testes bioquímicos para identificação de *E. coli*, é possível inferir sobre a contaminação de natureza fecal desta água.

Considerações Finais

Com base nos resultados obtidos, foi demonstrado que a água dos rios no interior da ARIE Floresta da Cicuta vem sofrendo despejos de efluentes ao longo do seu curso, chegando a seu interior com uma considerável carga de poluição. Esse fato a torna imprópria para a dessedentação de animais, manutenção do equilíbrio ecológico e conservação de comunidades aquáticas.

As águas desses rios são impróprias para os diversos fins de utilização para o homem, evidenciando alto grau de degradação.

Ressalta-se a necessidade de realização de ações voltadas para a Educação Ambiental, mostrando a importância da preservação dos corpos hídricos e destinação correta de resíduos. Medidas devem ser adotadas por meio de políticas públicas das cidades para tratamento de esgotos, e que, assim não sejam lançados nos rios sem o devido tratamento. Por fim, salienta-se também a importância do monitoramento frequente da qualidade da água nesta Unidade de Conservação.

Referências

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O. D.; FERREIRA, F. L. A.; BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. *Revista de Saúde Pública*, v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.

ANDREOLI, C. V. et al. *Limites ao Desenvolvimento da Região Metropolitana de Curitiba, Impostos pela Escassez de Água*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 9, 2000, Porto Seguro-BA. Anais. Porto Seguro-BA: ABES, 2000. p.185-195.

BRASIL. Ministério da Saúde. *PORTARIA nº 1469, de 29 de dezembro de 2000*. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, 2 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. *Plano de manejo ARIE Floresta da Cicuta*. Volta Redonda, 2016, 103 p.

BRASIL. *Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005*. Classificação dos corpos-d' água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/> Acesso em: 07/06/2017.

CUNHA, A. H.; TARTLER, N. S.; SANTOS, R. B.; FORTUNA, J.L.; Análise microbiológica da água do rio Itanhém em Teixeira de Freitas BA. *Revista Biociências, UNITAU*, v. 16, n. 2, 2010.

FILHO, A. F.; DIAS, M. F. F. Qualidade microbiológica de águas minerais em galões de 20 litros. *Alimentação e Nutrição, Araraquara*, v. 19, n. 3, p. 243-248, 2008.

MONSORES, D. W.; BUSTAMANTE, J. G. G.; FEDULLO, L. P. L.; GOUVEIA, M. T. J. *Relato da situação ambiental com vistas à preservação da área da Floresta da Cicuta*. Relatório técnico, 1982, 17 p.

PAULA, S. M.; RAMIRES, I.; DANTAS, F. G. S.; TEODÓSIO, T. K. C.; CAMPOS, K. B. G.; BRABES, K. C. S.; NEGRÃO, F. J.; Qualidade da Água do Rio Dourados, MS – Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos. *Evidência, Joaçaba*, v. 13, n. 2, p. 83-100, jul./dez. 2013.

ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; ALVES, M. A. S.; SLUYS, M. V. *A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata Atlântica*. São Carlos: RiMA, 2003, 160 p.

SHIBATA, T.; SOLO-GABRIELE, H. M.; FLEMING L. E.; ELMIR, S. Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment. *Water Research*, v.38, p.3119-3131, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo :Livraria Varela, 2010. 632p.

TORRES, J. L. R. et al. Morfometria e qualidade da água da microbacia do ribeirão da Vida em Uberaba-MG. *Global Science and Technology*. v. 2, n. 1. p. 1-9, 2009.