

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA**

CARINE BELARMINO DO NASCIMENTO

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO NO LABORATÓRIO INTEGRADO DE ÁGUAS DE
MANANCIAS E RESIDUÁRIAS DO INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ –
LIAMAR/IFCE (FORTALEZA – CE)**

**FORTALEZA
2010**

CARINE BELARMINO DO NASCIMENTO

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO NO LABORATÓRIO INTEGRADO DE ÁGUAS DE
MANANCIAS E RESIDUÁRIAS DO INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ –
LIAMAR/IFCE (FORTALEZA – CE)**

Trabalho Supervisionado (Modalidade B) -
Relatório de Estágio Supervisionado
submetido à Coordenação do Curso de
Graduação em Engenharia de Pesca, da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para obtenção do título de
Engenheiro de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vinícius do
Carmo e Sá

**FORTALEZA
2010**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N194e Nascimento, Carine Belarmino do.
Estágio supervisionado no Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias do Instituto Federal do Ceará - LIAMAR/IFCE (Fortaleza - CE) / Carine Belarmino do Nascimento. – 2010.
38 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2010.
Orientação: Prof. Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá.
Coorientação: Prof. Raimundo Bemvindo Gomes.

1. Trabalho supervisionado. 2. Estágio. 3. LIAMAR. I. Título.

CDD 639.2

CARINE BELARMINO DO NASCIMENTO

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO NO LABORATÓRIO INTEGRADO DE ÁGUAS DE
MANANCIAIS E RESIDUÁRIAS DO INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ –
LIAMAR/IFCE (FORTALEZA – CE)**

Relatório de Estágio Supervisionado submetido à Coordenação do Curso de Graduação em Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Aprovado em ___ / ___ / ___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Vinicius do Carmo e Sá (Orientador)
Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof^a Dra. Silvana Saker Sampaio
Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof. Dr. Raimundo Nonato de Lima Conceição
Universidade Federal do Ceará-UFC

ORIENTADOR TÉCNICO

Prof. Raimundo Bemvindo Gomes, M.Sc.
Instituto Federal do Ceará- IFCE

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá pela orientação deste trabalho, e apoio concedido durante a minha formação acadêmica.

Ao IFCE por ter cedido o LIAMAR para a realização do Estágio Supervisionado, em especial, ao professor Raimundo Bemvindo Gomes, pela oportunidade de acompanhamento das análises laboratoriais sobre qualidade de água e por ter me recebido de braços abertos me proporcionando momentos bastante agradáveis, com uma equipe competente e animada.

Aos meninos do LIAMAR, pelo respeito e ajuda, em especial, ao incrível Yves, Germana, Jordana, Eduardo (Dudu), Natan, Riva, Ellen, Jonh, Anamyrian, Laiz, Nadia, Vandinha, Valquiria (Kia), Fabíola, Tuan, Tatiana, Caroline, Karol, Irismar, Ítalo, Isabelle, Karla e Bruno.

Ao grupo da tilápia, em especial, ao professor Dr. José Wilson Calíope de Freitas, por ter aparecido na minha vida como um pai, me dando forças para não desistir.

A todos os professores da Engenharia de Pesca que contribuíram de forma significativa para a minha formação.

Aos meus pais, Chagas e Adila, por acreditarem na realização deste sonho.

Ao meu tio, José Maria do Nascimento, por toda participação na minha vida acadêmica.

Aos meus irmãos, Netinho e Epfânio, pela colaboração e apoio.

A minha estilista preferida, Emanuelle Amorim, sempre me incentivando, desde o meu ensino médio, até a conclusão deste trabalho. Obrigada por tudo, pela amizade, pela lealdade, pela compreensão e, principalmente, pelo empréstimo da sua potente câmera digital. Sem ela, as fotografias deste trabalho ficariam comprometidas.

Aos meus amigos de Curso, em especial, Ismael Nilo, Alice Kájala, Thalyta Pires, Lana, Caroline Pontes e Izabel Kalene.

Aos meus amigos que sempre contribuíram dando apoio e incentivo “pra nunca deixar a peteca cair”: Talita Regia, minha prima Gislaine Marques, pelas horas de paciência em ler e reler o trabalho e Marlane Diacuires, grande amiga.

As minhas Engenheiras de Pesca preferidas e futuras sócias, Ítala Farias e Roberlene de Castro, pelo apoio, compreensão, amizade, respeito e participação direta na elaboração desse trabalho.

RESUMO

Descreve as etapas acompanhadas durante o Estágio Supervisionado, parte integrante da disciplina Trabalho Supervisionado, modalidade B, do Curso de Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, na área de Limnologia. O Estágio foi realizado no Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias (LIAMAR), localizado no Instituto Federal do Ceará (IFCE), entre os meses de fevereiro e maio de 2010, sob a orientação técnica do professor Raimundo Bemvindo Gomes. Foram acompanhadas as atividades realizadas na sala de Análises Físicas e Químicas – SAFQ, na sala de Análises Hidro e Microbiológicas – SAHM, na sala de Ensaio Ecotoxicológicos – SEE e na Sala de Microscopia – SM. Na SAFQ foram acompanhados os procedimentos operacionais padrão das análises de pH, cor, turbidez, condutividade elétrica, óleos e graxas, sólidos, dureza, alcalinidade, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), sulfato, sulfeto, fósforo total, nitrato e nitrito. Na SAHM foram acompanhadas as etapas de determinação de coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CTT) e *Escherichia coli*, presentes em amostras de água. Na SM foi acompanhada a determinação da comunidade fitoplanctônica presente nas amostras. Na SEE foram acompanhadas as etapas de manutenção do cultivo de *Daphnia magna* e os testes ecotoxicológicos realizados em amostras de água.

Palavras-chave: Trabalho supervisionado. Estágio. LIAMAR.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Treinamento dos membros da equipe de analistas, referente ao Programa de Nivelamento de Análises Físicas e Químicas (PRONAFIQ).	3
FIGURA 2	Potenciômetro ou pHmetro utilizado na determinação de pH	5
FIGURA 3	Turbidímetro Policontrol 2000 para determinação de turbidez	6
FIGURA 4	Condutivímetro, Modelo DL-150P, condutividade elétrica	7
FIGURA 5	Cone de Imhoff para determinação de sólidos edimentáveis.	9
FIGURA 6	Parte do sistema de Soxhlet para extração de óleos e graxas composto por bateria de aquecedores e de condensadores.	10
FIGURA 7	Espectrofotômetro UV- vis	16
FIGURA 8	Determinação de nitrato, cuja concentração é proporcional a intensidade da coloração amarela resultante da reação	17
FIGURA 9	Cultivo de microalgas	20
FIGURA 10	Cartela Quant-Tray preenchida com amostra e meio de cultivo para determinação de coliformes totais e <i>Echerichia. coli</i>	22
FIGURA 11	Tubo de ensaio positivo, para coliformes termotolerantes (CTT), mostrando o aspecto turvo do tubo do meio e a presença de gás no tubo de Durhan	23
FIGURA 12	Fitoplâncton presente em uma amostra de água analisada no Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias do Instituto Federal do Ceará (LIAMAR/IFCE).	24
FIGURA 13	Câmara de Sedgwick-Rafter, para contagem de fitoplâncton	25
FIGURA 14	Lotes de <i>Daphnia</i> organizados em prateleiras	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IFCE	Instituto Federal do Ceará
LIAMAR	Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias
HCl	Ácido clorídrico
UNT	Unidade nefelométrica de turbidez
Ca(HCO₃)₂	Bicarbonato de cálcio
Mg(HCO₃)₂	Bicarbonato de magnésio
CaSO₄	Sulfato de cálcio
MgSO₄	Sulfato de magnésio
CaCO₃	Carbonato de cálcio
EDTA	Ácido etildiaminotetracético
OD	Oxigênio dissolvido
MnSO₄	Sulfato de manganês
NaN₃	Azida sódica
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
SO₄⁻²	Sulfato
ZnS	Sulfeto de zinco
ATP	Adenosina trifosfato
(NH₄)₂S₂O₈	Persulfato de amônio
K₂S₂O₈	Persulfato de potássio
CT	Coliformes totais
CTT	Coliformes termotolerantes
EC	<i>Escherichia coli</i>
NMP	Número mais provável
ONPG	Cromogênico ortonitrofenil β-D-galactopiranosídeo
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
SEMACE	Superintendência Estadual do Meio Ambiente

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES ACOMPANHADAS	3
2.1 Sala de Análises Físicas e Químicas – SAFQ	3
2.1.1 Métodos Instrumentais de Medida Direta	4
2.1.1.1 pH	4
2.1.1.2 Turbidez	5
2.1.1.3 Condutividade elétrica	5
2.1.1.4 Oxigênio dissolvido (OD)	7
2.1.1.5 Sólidos sedimentáveis	8
2.1.2 Métodos gravimétricos	9
2.1.2.1 Óleos e graxas	9
2.1.3 Métodos titulométricos	10
2.1.3.1 Alcalinidade	10
2.1.3.2 Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	12
2.1.3.3 Demanda química de oxigênio (DQO)	12
2.1.3.4 Dureza	12
2.1.4 Métodos espectrofotométricos	14
2.1.4.1 Fósforo total	14
2.1.4.2 Nitrito	15
2.1.4.3 Nitrato	16
2.1.4.4 Sulfato	17
2.1.4.5 Sulfetos	18
2.1.4.6 Cor	19
2.2 Sala de Análises Hidro e Microbiológicas - SAHM	20
2.2.1 Coliformes totais	21
2.2.2 <i>Escherichia coli</i> (EC)	22
2.2.3 Coliformes termotolerantes (CTT)	22
2.3 Sala de Microscopia – SM	24
2.4 Sala de Ensaio Ecotoxicológicos – SEE	26
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXOS	32

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO NO LABORATÓRIO INTEGRADO DE ÁGUAS DE
MANANCIAIS E RESIDUÁRIAS DO INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ –
LIAMAR/IFCE (FORTALEZA – CE)**

CARINE BELARMINO DO NASCIMENTO

1 INTRODUÇÃO

Uma das preocupações mundiais consiste na qualidade de água potável para o consumo e para o desenvolvimento de outras atividades, como por exemplo, a aquicultura. Isso se deve ao fato da “água se constituir em um dos compostos de maior distribuição e importância na crosta terrestre. Sua importância para a vida está no fato de que nenhum processo metabólico ocorre sem sua ação direta ou indireta” (ESTEVES, 1998, p. 34).

Qualidade de água refere-se a um conjunto de características físicas, químicas e biológicas, de acordo com sua utilização. Para a aquicultura, de um modo geral, é importante que os criadores estabeleçam normas de conduta quanto a sua obtenção, seu tratamento, sua disposição e seu reuso, a fim de tornar a atividade aquícola sustentável.

A palavra limnologia vem do grego “limné”, que significa lago. De acordo com Esteves (1998, p. 55), a limnologia pode colaborar na melhoria da água utilizada pela população, através da identificação das fontes poluidoras, fazendo proposições para a sua eliminação e contribuindo para a estabilidade do ecossistema. Além disso, a limnologia tem papel fundamental no estabelecimento de critérios biológicos, físicos e químicos para o controle da qualidade de água.

“Os objetivos do controle da qualidade das águas são relacionados com a conservação e melhoria das fontes e mananciais, aplicação da tecnologia apropriada para a correção e tratamento quando necessário e distribuição e uso seguro no destino final” (PIVELI; KATO, 2006, p. 2).

O controle da qualidade de água envolve análises físicas, químicas e biológicas, que são realizadas de forma qualitativa e quantitativa, cujos resultados permitem avaliar a sua natureza e/ou condições físicas, químicas e biológicas.

O Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias do Instituto

Federal do Ceará (LIAMAR/IFCE) é um espaço laboratorial integrado localizado na Av. Treze de Maio, 2081, Benfica, Fortaleza, Ceará, voltado para estudos limnológicos, ecotoxicológicos e de microbiologia analítica, que se constituem em suas principais linhas de pesquisa. As ações realizadas por este Laboratório incluem as análises físicas, químicas e biológicas de águas naturais, tratadas e residuárias.

O espaço tem uma área de 187 m², paredes totalmente revestidas de azulejos, forro em PVC, bancadas laterais de concreto revestidas de azulejos e bancadas centrais em madeira revestida de fórmica com lâminas de vidro recobrimdo as superfícies. Apresenta oito ambientes de trabalho: uma sala de Recepção – SR, uma sala de Coordenação – SC, uma sala de Análises Físicas e Químicas – SAFQ, uma sala de Preparo de Amostras – SPA, uma sala de Ensaio Ecotoxicológicos – SEE, uma sala Quente – SQ, uma sala de Análises Hidro e Microbiológicas - SAHM e uma sala de Microscopia – SM.

No rol de análises realizadas estão incluídos mais de 70 parâmetros diferentes determinados em amostras de água e de sedimento cujas metodologias seguem diretrizes gerais do “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2005) ou outra metodologia oficial. Os resultados são adequadamente tratados, considerando-se número de replicatas (pelo menos duas) e os limites de quantificação de cada método. Uma vez considerados válidos, os dados de análises são transcritos para um laudo de análises contendo além dos resultados, todas as informações necessárias como apresentado no modelo (Anexo).

As conclusões e demais observações constantes nos laudos têm como referência a base legal vigente, como: resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), portarias da Superintendência Estadual do Meio Ambiente (SEMACE), entre outras.

O Estágio realizado no LIAMAR/IFCE teve como objetivos conhecer a estrutura física, “layout” do espaço e os procedimentos operacionais padrão de análises; compreender os fenômenos físicos e químicos envolvidos nos processos analíticos realizados, participar da operacionalização das análises e interpretar os resultados obtidos. Tais conhecimentos são importantes para utilizá-los como ferramenta na resolução dos problemas concernentes à atuação de um bom profissional em Engenharia de Pesca.

2 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES ACOMPANHADAS

2.1 Sala de Análises Físicas e Químicas – SAFQ

A SAFQ é constituída espacialmente por três partes: uma sala principal e duas de apoio. As salas de apoio, onde são realizados procedimentos analíticos, se dividem em uma sala de preparo de amostras e materiais de coleta e a sala quente.

As amostras de água são coletadas em vários pontos, de acordo com o tamanho do reservatório. Dependendo das análises, algumas amostras são fixadas no ponto de coleta com o objetivo de uma confiabilidade maior nos resultados, como, por exemplo, para as determinações de oxigênio dissolvido, que é fixado com sulfato manganoso e azida sódica álcali e de sulfeto total que é fixado com acetato de zinco e hidróxido de sódio.

O LIAMAR/IFCE ainda dispõe de uma equipe de analistas, em que cada membro é responsável por uma análise. Semanalmente é feito um treinamento em que os analistas ministram um Programa de Nivelamento de Análises Físicas e Químicas (PRONAFIQ), cujo objetivo é reunir a equipe e tornar de conhecimento geral os procedimentos de análise adotados (Figura 1).

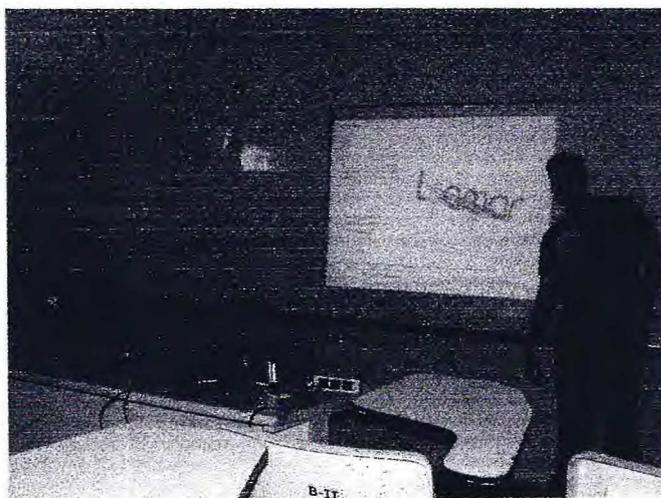


Figura 1- Treinamento dos membros da equipe de analistas, referente ao Programa de Nivelamento de Análises Físicas e Químicas (PRONAFIQ).

As análises são divididas em físicas e químicas. Os principais parâmetros para se caracterizar fisicamente a água são cor, turbidez, temperatura e odor. Segundo Piveli e Kato (2006, p. 11), embora essas análises sejam características físicas, elas fornecem meios para se avaliar de forma preliminar as análises denominadas como químicas. A temperatura, por exemplo, está relacionada diretamente ao oxigênio dissolvido na água. Assim, de acordo com Esteves (1998, p. 146), com a elevação da temperatura e diminuição da pressão ocorre redução de solubilidade do oxigênio na água.

2.1.1 Métodos instrumentais de medida direta

2.1.1.1 pH

É um parâmetro importante em muitos estudos no campo de saneamento ambiental. “A influência do pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido aos seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies” (PIVELI; KATO, 1998, p. 136). No caso de cultivo de tilápias, segundo Kubitzka (2000, p. 23), “o pH da água de cultivo deve ser mantido entre 6,0 e 8,5. Abaixo de 4,5 ou acima de 10,5, a mortalidade é significativa,” pois a exposição a águas ácidas ou alcalinas causa aumento na secreção de muco, irritação e inchaço nas brânquias.

A determinação do pH pode ser realizada por três métodos: (1) método comparativo utilizando-se o papel indicador universal de pH; (2) kits usados em piscinas; e (3) método eletrométrico, que é o método utilizado no LIAMAR/IFCE.

O método eletrométrico consiste na medida do pH realizada em potenciômetro ou pHmetro (Figura 2), dotado de um eletrodo indicador, um eletrodo de referência e um dispositivo de temperatura compensadora.

Quando os eletrodos são imersos na solução, um circuito é formado através do potenciômetro. O eletrodo de referência consiste em uma semicélula que gera um potencial de eletrodo constante. O eletrodo indicador é constituído por um bulbo de vidro especial contendo uma concentração fixa de KCl. Quando se imerge o eletrodo na solução, a superfície externa do bulbo se hidrata, promovendo assim a troca de íons de sódio (Na^+) com íons de hidrogênio (H^+) da solução, de modo a formar uma camada superficial de H^+ . Os pHmetros

devem ser calibrados com soluções tampão comerciais de pH 4,0, 7,0 e 10,0, antes da sua utilização.

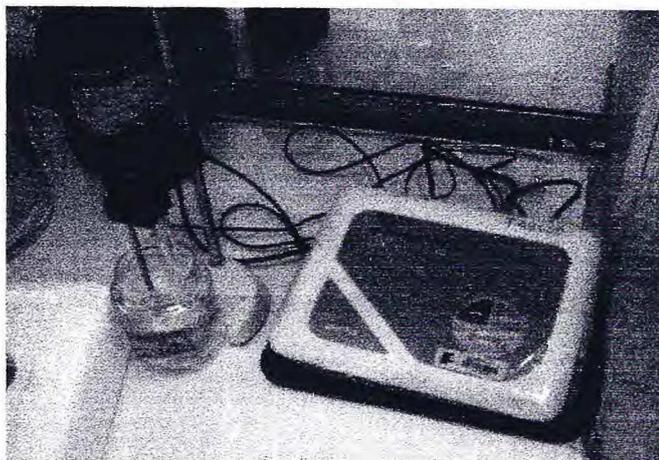


Figura 2 – Potenciômetro ou pHmetro utilizado na determinação de pH.

2.1.1.2 Turbidez

A turbidez consiste em uma variável importante, pois sua medida reflete a quantidade de sólidos em suspensão, os quais agem diretamente sobre a penetração de luz, fotossínteses e produtividade, podendo promover alterações quantitativas e/ou qualitativas da qualidade das águas.

“Existem dois tipos básicos de turbidez nos viveiros: (1) a que resulta do crescimento do fitoplâncton e (2) a que é ocasionada pelas partículas de solos suspensas” (BOYD, 2000 p. 21).

No LIAMAR/IFCE, a turbidez é determinada com o auxílio de um turbidímetro, Policontrol 2000, que mede a quantidade de material em suspensão, através da capacidade da luz difundida por entre substâncias (meio líquido), (Figura 3). A turbidez é expressa em unidade nefelométrica de turbidez (UNT). É uma unidade de turbidez da água baseada na luz que se dispersa num ângulo (geralmente) de 90°.



Figura 3-turbidímetro Policontrol 2000 para determinação de turbidez

2.1.1.3 Condutividade elétrica

“A condutividade elétrica ou condutância específica (K) de uma amostra é a medida de sua capacidade de conduzir corrente elétrica sendo dependente do número e do tipo de espécies iônicas nela dispersa” (SILVA; OLIVEIRA, 2001, p. 33).

Segundo Esteves (1998, p. 263), corpos de água ricos em compostos húmicos e com pH ácido, aproximadamente 4,0, podem apresentar altos valores de condutividade elétrica. Os principais íons responsáveis são os macrominerais cálcio, magnésio, potássio, sódio, carbonato, sulfato e cloretos.

No LIAMAR/IFCE, a condutividade elétrica das amostras de água é medida através de um condutivímetro, Modelo DL-150P, (Figura 4). Os resultados são expressos em microSiemens por centímetro ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

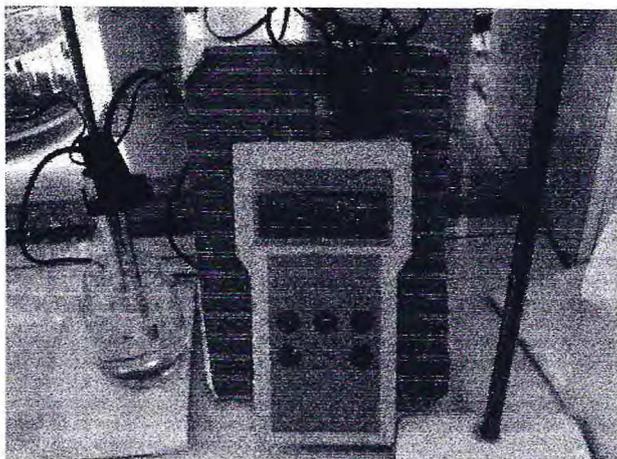


Figura 4 - Condutivímetro, Modelo DL-150P, condutividade elétrica

Os valores de condutividade elétrica desejáveis para a água usada em piscicultura encontram-se entre 20 e 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (FULBER *et al.*, 2010).

2.1.1.4 Oxigênio dissolvido (OD)

O OD é um dos principais elementos na caracterização de um ecossistema aquático, sendo uma variável importante para a aquicultura. Como as taxas de OD afetam diretamente na produção dos recursos aquícolas, seu conhecimento é imprescindível.

A taxa de OD na água depende de fatores como a temperatura e a pressão. A principal fonte de oxigênio na água é a fotossíntese realizada pelos organismos fototróficos, que durante o dia liberam para o ambiente aquático. A turbidez e cor da água influenciam diretamente na penetração dos raios solares (luz), determinando a taxa de fotossíntese.

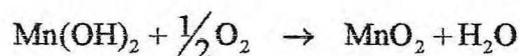
A elevada concentração de oxigênio na água está ligada a sobrevivência dos organismos aquáticos para que eles possam desenvolver todas as suas atividades metabólicas satisfatoriamente, pois baixas concentrações interferem nos resultados de conversão alimentar, tornando-os mais susceptíveis a doenças devido ao estresse que é causado.

De acordo com Kubitza (2000, p. 20), em relação ao cultivo de tilápia, especificamente, embora elas possuam habilidade de sobreviver algumas horas sob condições anóxicas, elas ficam mais susceptíveis a doenças apresentando desenvolvimento reduzido.

A determinação da concentração de OD em água se faz pelo método eletrométrico

e pelo método químico. O método eletrométrico consiste no uso de uma sonda que possui uma membrana capaz de adsorver seletivamente o oxigênio. Estes aparelhos são chamados de oxímetros e devido à praticidade e aos resultados instantâneos são os mais utilizados na aquicultura. O método químico, por sua vez, envolve várias etapas, seguindo uma sequência de reações químicas, que são mais demoradas.

No LIAMAR/IFCE, o método químico utilizado é o método de Winkler modificado pela azida de sódio. Ainda no local de coleta, deve ocorrer a fixação do oxigênio na amostra coletada para impedir seu consumo pelos micro-organismos. São adicionados à amostra, sulfato manganoso (MnSO_4) e a solução de álcali-iodeto-azida, preparada com hidróxido de sódio (NaOH), iodeto de sódio (NaI) e azida sódica (NaN_3). A fixação do OD ocorre através da formação de óxido de manganês, de acordo com a reação a baixo.



Na segunda fase, ocorre a liberação do iodo, que é realizada devido à adição de ácido sulfúrico concentrado, o qual promove a formação de uma coloração amarelada cuja intensidade é proporcional a concentração de oxigênio presente inicialmente na amostra (PIVELI; KATO, 2006, p. 207). Na fase final da análise é feita a titulação com solução de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), utilizando solução de amido como indicador com viragem de azul para incolor. Os resultados são expressos em $\text{mg O}_2/\text{L}$, diante dos volumes gastos na titulação conforme a fórmula abaixo:

$$\text{mg O}_2 / \text{L} = \frac{N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times 8.000}{V_{\text{amostra}}}$$

Onde:

V= volume

N= normalidade

2.1.1.5 Sólidos sedimentáveis

“A designação de sólidos sedimentáveis é aplicada a sólidos em suspensão na água que decantam em condições de quiescência, devido à ação da gravidade” (SILVA;

OLIVEIRA, 2001, p. 87)

No LIAMAR/IFCE, utiliza-se o método de decantação em cone de Imhoff (Figura 5). O método se baseia em despejar 1 L da amostra em um cone e deixar sedimentar durante 45 minutos. A leitura é feita em mililitros por litro.



Figura 5 - Cone de Imhoff para determinação de sólidos sedimentáveis.

2.1.2 Método Gravimétrico

2.1.2.1 Óleos e graxas

“Óleos e graxas, de acordo com o procedimento analítico empregado, consistem no conjunto de substâncias que um determinado solvente consegue extrair da amostra e não se volatiliza durante a evaporação do solvente a 100°C” (PIVELI; KATO, 2006 p. 248).

Óleos e graxas na água se acumulam na superfície, tendo em vista que o óleo é menos denso que a água. Por esse motivo, o óleo provoca uma barreira trazendo sérios prejuízos ecológicos por dificultar a passagem de luz e impedir as trocas gasosas, principalmente do oxigênio da atmosfera para a massa líquida. Com isso, há prejuízo para a base da cadeia alimentar aquática, o fitoplâncton.

O método utilizado pelo LIAMAR/IFCE para a determinação de óleos e graxas é o método de Soxhlet. A amostra é inicialmente acidificada para facilitar a separação do óleo.

Primeiramente, a amostra é filtrada a vácuo. Após secar em estufa, o material retido no filtro passa para a etapa de extração. O filtro com o material oleoso é dobrado e introduzido no cartucho de extração. O extrator conectado em um balão de vidro contendo solvente, que normalmente é o hexano, é mantido sobre chapa de aquecimento, que provoca evaporação e o contato com o material oleoso da amostra (Figura 6).

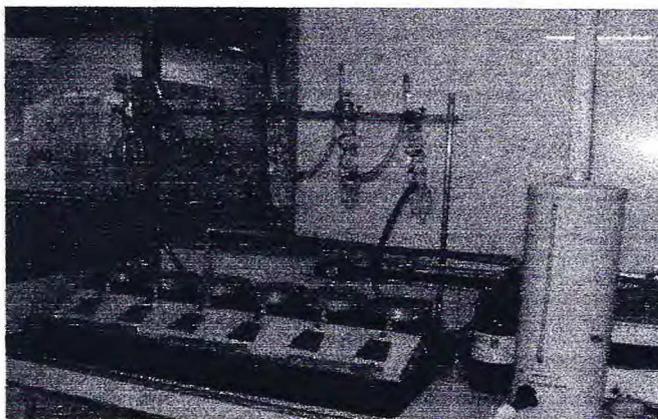


Figura 6 - Parte do sistema de Soxhlet para extração de óleos e graxas composto por bateria de aquecedores e de condensadores.

Após 80 ciclos de extração, aproximadamente 4 horas, retira-se o balão, com o solvente contendo óleo dissolvido promovendo-se em seguida a evaporação do solvente. A diferença entre a massa do balão com óleo impregnado e o balão vazio, corresponde à quantidade de óleos e graxas da amostra.

2.1.3 Métodos Titulométricos

2.1.3.1 Alcalinidade

Alcalinidade de uma amostra de água é definida como sua capacidade de reagir quantitativamente com um ácido forte até um valor definido de pH. Os principais componentes de alcalinidade são sais de ácido carbônico, ou seja, bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos. A concentração total de bases na água, expressa em miligramas por litro do

equivalente de carbonato de cálcio (CaCO_3), é o resultado da alcalinidade total da água.

A alcalinidade total na água é derivada principalmente da dissolução do calcário contido nos solos. Segundo Boyd (2000, p. 98), viveiros de solo arenoso frequentemente apresentam uma alcalinidade abaixo de 20 mg/L e os viveiros em áreas de solo calcário podem ter concentrações acima de 100 mg/L.

A calagem de viveiros de aquicultura visa à melhoria da produtividade e dos índices de sustentabilidade ambiental e tem como objetivos neutralizar a camada superficial de sedimentos do fundo dos viveiros e aumentar a alcalinidade total e a dureza total da água. A acidez do sedimento do fundo dos viveiros deve ser corrigida até atingir valores de pH entre 7,0 e 8,0. O ideal é que a alcalinidade total fique em torno de 20 mg/L como aponta Boyd (2000, p. 133).

O método utilizado pelo LIAMAR/IFCE para a determinação da alcalinidade total é o titulométrico. A determinação potenciométrica de alcalinidade total se baseia na titulação de um determinado volume de amostra medido em proveta, com solução de ácido sulfúrico de normalidade 0,002 N, sob leve agitação, até o pH que corresponda ao ponto de inflexão ou de equivalência da curva de titulação.

Na prática da determinação de alcalinidade total de amostras de águas naturais, águas residuárias domésticas, efluentes de lagoas e reservatórios de estabilização, nos quais a principal fonte de alcalinidade é o sistema carbônico, o ponto de inflexão está situado na faixa $4,0 < \text{pH} < 5,0$ sendo comumente definido o pH 4,5. Determinado o volume de ácido, necessário para atingir tal ponto, a alcalinidade total pode ser calculada com base no princípio de equivalência química.

Para a determinação utiliza-se a fórmula abaixo:

$$\text{alcalinidade total (mg CaCO}_3\text{/L)} = \frac{N_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times f \times 1.000}{V_{\text{amostra}}}$$

Onde:

f = fator de correção

V = volume

2.1.3.2 Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)

A DBO representa a taxa de oxigênio consumido por via biológica. Os compostos orgânicos biodegradáveis são transformados em produtos finais mais estáveis, tais como água, gás carbônico, sulfato, fosfato etc. A DBO é um teste que corresponde à diferença entre as concentrações de oxigênio dissolvido no início e no fim de um período de incubação. No LIAMAR/IFCE, medem-se as concentrações de oxigênio inicial. Em seguida, a amostra é conduzida para a incubadora onde permanece por cinco dias a 20°C para a ocorrência da oxidação biológica. No final desse período, calcula-se o oxigênio dissolvido. A DBO será a diferença entre as concentrações de oxigênio dissolvido no início e no final.

Os viveiros de aquicultura, segundo Boyd (2000, p. 110), tipicamente apresentam valores de DBO que variam de 5 a 20 mg/L. Quanto mais elevada for a DBO, maior será o grau de enriquecimento da água do viveiro com matéria orgânica.

2.1.3.3 Demanda química de oxigênio (DQO)

“A DQO consiste em uma técnica utilizada para avaliação do potencial de matéria redutora de uma amostra, através de um processo de oxidação química em que se emprega o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$)”. (PIVELI; KATO, 2006, p. 22). A DQO estima a quantidade de matéria biodegradável e não biodegradável. A amostra é acidificada no campo com ácido sulfúrico (H_2SO_4), para manter a amostra com pH inferior a 2,0, evitando assim a degradação dos compostos orgânicos por micro-organismos.

Os procedimentos analíticos feitos pelo LIAMAR/IFCE seguem o método da refluxação fechada ou da digestão. Para essa análise é utilizada a metodologia constante no Manual de Análises Físico-Químicas de Águas de Abastecimento e Residuárias, proposta por Silva e Oliveira (2001, p. 175).

2.1.3.4 Dureza

De acordo com Piveli e Kato (2006, p. 148), a principal fonte de dureza nas águas é a sua passagem pelo solo, devido à dissolução da rocha calcária pelo gás carbônico na água. A dureza de uma água é definida como a medida da sua capacidade de precipitar sabão, isto é, nas águas duras os sabões formam complexos insolúveis, sem formação de espuma, até que o processo se esgote. Segundo Esteves (1998, p. 195), a caracterização de dureza de uma água se refere principalmente aos teores de íons de cálcio e magnésio que estão combinados com carbonatos e bicarbonatos.

Os principais compostos que conferem dureza as águas são: $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$, CaSO_4 e MgSO_4 . Com relação ao abastecimento público, as águas duras podem ser um problema, inicialmente, por causa do consumo excessivo de sabão, e também pela probabilidade de causar cálculo renal (PIVELI; KATO, 2006, p. 148). A Portaria N^o 518/2004 do Ministério da Saúde limita a dureza em 500 mg CaCO_3/L como padrão de potabilidade (BRASIL, 2004).

No LIAMAR/IFCE utiliza-se o método titulométrico de EDTA para determinação da dureza. O método é baseado na reação do ácido ou seus sais de sódio que formam um complexo solúvel com certos cátions metálicos. A titulação é feita com EDTA 0,02 N, utilizando negro de Eriocromo T, como indicador, que apresenta viragem de vermelho vinho para azul escuro, quando a reação de complexação se completa. Para a determinação da dureza total, a amostra tem seu pH elevado para 10,0 através da adição de solução tampão, preparada pela dissolução de 16,9 g de cloreto de amônio em 143 mL de hidróxido de amônio concentrado e adição de 1,179 g de EDTA de sódio dihidratado, 0,78 g de sulfato de magnésio heptahidratado em 250 mL de água destilada.

O resultado de dureza é expresso em mg CaCO_3/L :

$$\text{Dureza (mg CaCO}_3/\text{L)} = \frac{N_{\text{EDTA}} \times V_{\text{EDTA}}}{V_{\text{amostra}}} \times 100.000$$

Onde:

N= normalidade

V= volume

Como a dureza está relacionada com as concentrações de cálcio e magnésio no ambiente, a importância desses dois elementos se deve ao fato do cálcio, por exemplo, ser essencial para o crescimento das algas, macrófitas aquáticas e muitos animais, em especial, crustáceos e moluscos. O cálcio tem funções importantes como manter a estrutura da

membrana celular e o magnésio tem importância por participar na formação da molécula de clorofila (ESTEVES, 1998, p. 273).

2.1.4 Métodos Espectrofotométricos

2.1.4.1 Fósforo total

O fósforo na água se apresenta, principalmente, nas formas de ortofosfato, polifosfato e fósforo inorgânico. A importância do fósforo na água está ligada ao crescimento de micro-organismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica, pois o fósforo está presente na molécula de adenosina trifosfato (ATP) e nos fosfolipídios das membranas celulares (ESTEVES, 1998, p. 223).

“O fosfato presente em ecossistemas aquáticos continentais tem origem de fontes naturais e artificiais. Dentre as formas naturais, as rochas da bacia de drenagem constituem a fonte básica de fosfato para os ecossistemas aquáticos continentais” (ESTEVES, 1998, p. 226). Dentre as fontes artificiais de fosfato, as mais comuns são esgotos domésticos e industriais e material particulado.

Com relação à aquicultura, o fósforo é decorrente dos restos de ração, adição de fertilizantes, excreção de peixes, dentre outros. De acordo com Boyd (2000, p. 120), as concentrações de fósforo na água de viveiros são usualmente muito baixas, pois quando o fósforo é adicionado a um viveiro, uma alta concentração desse elemento permanece na água apenas poucas horas ou dias. Provavelmente esta redução ocorre devido a sua absorção pelas plantas e bactérias presentes no ambiente aquático.

Quando um corpo hídrico passa a receber continuamente quantidades consideráveis de fosfato, seja por meio artificial ou por meio natural, a sedimentação e acúmulo no substrato favorecerão um maior crescimento do fitoplâncton, especialmente de cianobactérias, que segundo Esteves (1998, p. 238), são capazes de migrar para o hipolímnio, onde a concentração de fosfato é maior, possibilitando absorver grandes quantidades desse íon.

Com o crescimento explosivo de cianobactérias, a água se torna turva, impedindo a penetração dos raios solares, consequentemente trazendo prejuízos para o processo

fotossintético, declínio de oxigênio, aumento da decomposição da matéria orgânica e liberação de toxina pelas algas e bactérias (ESTEVES, 1998, p. 238).

Para a determinação de fósforo em amostra de água, o fósforo a ser determinado é previamente convertido em ortofosfato solúvel. O ortofosfato solúvel é determinado colorimetricamente pelo método do ácido ascórbico.

O método do ácido ascórbico consiste em reagir o ortofosfato com molibdato de amônio e tartarato de antimônio e potássio em meio ácido e reduzir o ácido fosfomolibdato formado azul de molibdênio. A intensidade da cor deste composto é proporcional à concentração de ortofosfato, sendo lida em espectrofotômetro a 880 nm.

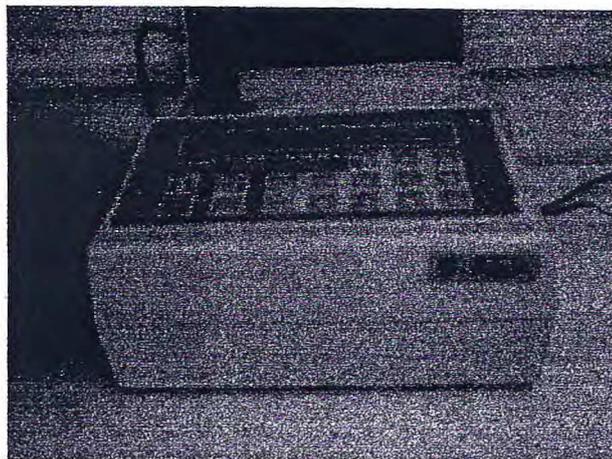
O procedimento analítico para a determinação do fósforo total segue as metodologias propostas no APHA (2006).

2.1.4.2 Nitrito

Segundo Esteves (1998, p. 206), o nitrito é encontrado em baixas concentrações em ambientes aquáticos oxigenados. Em ambientes anaeróbios, são encontradas concentrações elevadas desse íon. O nitrato é uma fase intermediária entre a amônia (forma mais reduzida) e nitrito (forma mais oxidada).

Na aquicultura, altas concentrações de nitrito se ligam à hemoglobina, formando a metahemoglobina, que impossibilita o transporte de oxigênio, levando o organismo à morte por asfixia. Segundo Siqueira (2004, p. 18), altas concentrações de nitrito no ambiente conferem uma coloração amarronzada ao sangue dos peixes.

Para a determinação de nitrito no ambiente é necessária a coleta de 50 mL de água em erlenmeyer âmbar, ao qual devem ser acrescentados 2 mL de reagente colorimétrico que consiste em solução de sulfanilamida, n-naftil e etildiamina. Toda a análise é feita em frascos âmbar, pois a luz promove a reação de conversão da amônia a nitrito, causando interferência no resultado. A leitura é feita no espectrofotômetro, que consiste em aparelho que lê o espectro luminoso (Figura 7). A leitura é feita no comprimento de onda de 543 nm



Figuras 7- Espectrofotômetro UV- vis

2.1.4.3 Nitrato

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no ecossistema aquático, sendo encontrado sob diversas formas, como nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônia (NH_3), íon amônio (NH_4^+). Sua importância se deve principalmente ao fato de este elemento estar presente na molécula de proteína. Em baixas concentrações, o nitrogênio pode atuar como fator limitante à produção primária. A principal fonte de nitrogênio para os produtores de águas continentais está sob a forma de nitrato (ESTEVEES, 1998, p. 204).

O LIAMAR/IFCE utiliza o método de salicilato de sódio para a determinação do nitrato. O método consiste em adicionar à amostra 1 mL de salicilato de sódio levando-a em seguida para o banho-maria a 80°C . Depois, acrescenta-se 15 mL de água deionizada com 15 mL de tartarato duplo de sódio e potássio. Esta reação resulta no aparecimento de uma coloração amarelada (Figura 8), cuja intensidade é proporcional a concentração de nitrato. A leitura é feita em espectrofotômetro no comprimento de onda de 543 nm.

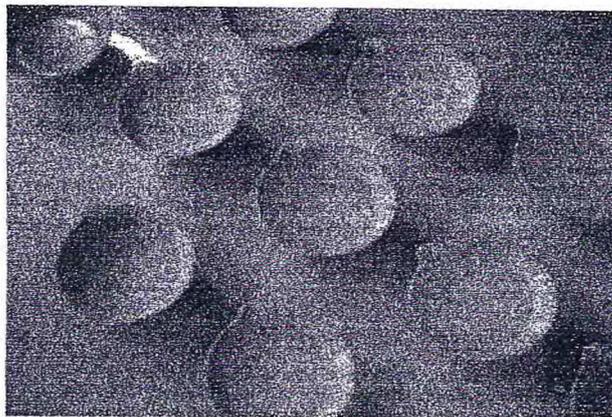
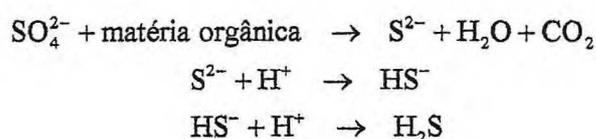


Figura 8- Determinação de nitrato, cuja concentração é proporcional a intensidade da coloração amarela resultante da reação.

2.1.4.4 Sulfato

O sulfato é um dos ânions (SO_4^{2-}) mais abundantes da natureza. No ambiente aquático ele assume importância devido à produtividade do ecossistema. Segundo Esteves (1998, p. 244), o sulfato representa a principal fonte de enxofre para os produtores primários, sendo decorrente das descargas de esgotos e efluentes industriais.

Os sulfatos podem causar fortes odores e problemas de corrosão de tubulações resultante da redução de sulfato para gás sulfídrico (H_2S), sob condições anaeróbias, como mostram as reações abaixo:



Após sua formação, o gás sulfídrico se mantém ou não no meio ambiente, dependendo das concentrações de oxigênio no meio. Na presença de oxigênio, ele é oxidado a enxofre elementar. Na ausência de oxigênio, o gás sulfídrico se acumula no hipolímnio, tornando essa região nociva aos organismos aquáticos (ESTEVES, 1988, p. 248).

O gás sulfídrico atua em nível enzimático, inibindo a cadeia respiratória, através da desativação da enzima citocromo-oxidase, prejudicando assim a formação de ATP. Ele

atua também sobre a hemoglobina, impedindo seu papel no processo respiratório (ESTEVEZ, 1998, p. 248).

Desta maneira é necessário cuidado com as formas de enxofre presentes no ambiente, sobretudo com as mais instáveis como sulfetos, pois, em condições desfavoráveis, como baixas concentrações de oxigênio causam grandes mortandades de peixes, com grande prejuízo para o ecossistema aquático.

No LIAMAR/IFCE, a determinação do sulfeto é feita pelo método turbidimétrico e é aplicável em concentrações que variam de 1 a 40 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$. Primeiramente, mede-se 100 mL da amostra filtrada em balão volumétrico e, em seguida, é feita a transferência para um erlenmeyer de cor âmbar de 250 mL. Para a medição do branco, substitui-se a amostra por 100 mL de água deionizada. O objetivo do branco é evitar a ação de interferentes, garantindo uma maior confiabilidade nos resultados.

Depois que transferir a amostra para os erlenmeyers, adiciona-se soluções tampões acéticas de ($\text{MgCl}_2(6\text{H}_2\text{O})$), $\text{CH}_3\text{COONa}.3\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 e CH_3COOH (solução tampão A) para concentrações entre 10 e 40 mg/L, ou soluções acéticas Contendo os mesmos sais da solução tampão A, acrescido de Na_2SO_4 (solução tampão B), para concentrações entre 1 e 10 mg/L.

São realizadas duas leituras no turbidímetro. A leitura A, que serve para tirar interferentes que possam alterar o valor correto, como turbidez de outras partículas, inclusive da própria solução tampão, e a leitura B. Após a leitura A, os conteúdos das cubetas voltam para os erlenmeyers. Acrescenta-se 0,5 g de BaCl_2 em cada uma das amostras, inclusive no branco. O BaCl_2 é previamente pesado em papel alumínio para evitar que o tempo entre uma pesagem e outra possa interferir nos valores por causa da luz. Esperam-se mais 5 minutos enquanto a reação se completa e, em seguida, todas as amostras, inclusive o branco (Br), são lidas novamente (leitura B) no turbidímetro.

2.1.4.5 Sulfetos

“A principal fonte de sulfeto em águas naturais é o lançamento de esgotos sanitários e de efluentes industriais que contenham sulfato em condições anaeróbias” (PIVELI; KATO, 2006, p. 160).

A redução de sulfato em sulfeto ocorre como mostrado na equação abaixo:



O sulfeto provoca problemas de toxicidade aguda em operadores de coleta de esgotos e é extremamente nocivo para a população aquática.

Para a determinação do sulfeto, no LIAMAR/IFCE, se usa o método iodométrico. A amostra é coletada em um frasco âmbar (500 mL) e o sulfeto é fixado com acetato de zinco e hidróxido de sódio 6 N. Em seguida, são filtrados 100 mL da amostra e a membrana é retirada para análise. A membrana é colocada no erlenmeyer, onde são adicionados 20 mL de iodo, 2 mL de HCl 6 N e 100 mL de água. Espera-se todo sulfeto de zinco (ZnS) se desprender da membrana e então a amostra é titulada com tiosulfato de sódio 0,025 N. Os resultados são expressos em mg S²⁻/L ou g S²⁻/L.

2.1.4.6 Cor

A cor de uma água está relacionada ao grau de redução de intensidade que a luz sofre ao atravessá-la. Esta redução dá-se por absorção de parte da radiação eletromagnética devido à presença de sólidos dissolvidos (PIVELI; KATO, 2006, p. 11).

No LIAMAR/IFCE, a determinação da cor é feita pelo método colorimétrico, realizado no espectrofotômetro. De acordo com o Manual sobre Manejo de Reservatórios para a Produção de Peixes (FAO, 1988), águas negras ou escuras, ou então alaranjadas, são geralmente provenientes de ambientes ricos em matéria orgânica em decomposição. As águas escuras impedem a passagem da luz, são geralmente ácidas e possuem gases tóxicos.

As melhores águas para abastecer tanques e viveiros de piscicultura são às claras, ligeiramente azuladas ou esverdeadas, pois a cor verde mostra sinal de boa produtividade orgânica, refletindo assim a incidência de algas clorofíceas (FAO, 1988).

2.2 Sala de Análises Hidro e Microbiológicas - SAHM

Trabalhando-se com água, seja para abastecimento ou para o cultivo de organismos aquáticos, sempre se corre o risco de elas se encontrarem poluídas por águas residuárias e excrementos de origem humana ou animal. Caso essa contaminação ocorra, os organismos patogênicos tornam-se um meio de transmissão de doenças. Por isso torna-se necessária a utilização de exames dos corpos hídricos para determinar seu grau de segurança sob ponto de vista bacteriológico.

A SAHM encontra-se dividida em três partes: sala de análises hidro e microbiológica, sala de microscopia e sala de análises ecotoxicológicas.

A sala de hidro é composta por seis bancadas no centro da sala, com estrutura de prateleiras centrais com iluminação para o cultivo de organismos fototróficos (Figura 9). Nas bancadas são realizadas as análises bacteriológicas.

Para a análise de bactérias presentes no ambiente aquático, faz-se necessário um ambiente asséptico a fim de se evitar uma contaminação das culturas interferindo nos resultados. A assepsia se faz com álcool a 70% e com o bico de Bunsen procurando manter dessa forma o ambiente estéril.

Para a análise bacteriológica da água, as bactérias do grupo coliforme que atuam como indicadores de poluição de origem fecal, pois ocorrem em grande número na microbiota intestinal de animais, são investigadas. Portanto, a presença de coliformes na água indica poluição, com risco potencial da presença de organismos patogênicos.

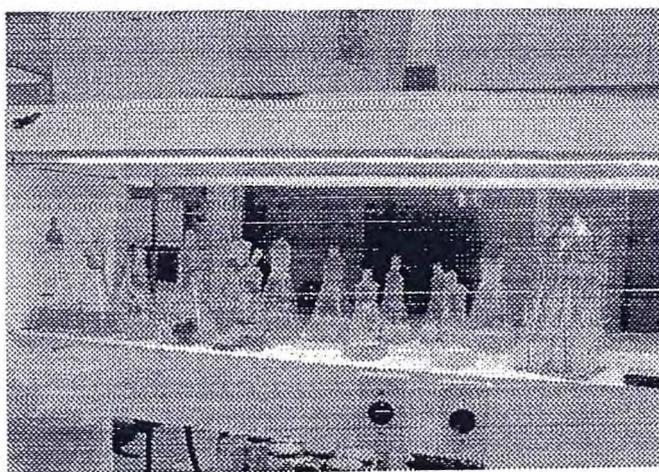


Figura 9 - Cultivo de microalgas.

Na sala de microbiologia, as análises realizadas com maior frequência são: coliformes totais (CT), *Escherichia coli* (EC) e coliformes termotolerantes (CTT).

2.2.1 Coliformes Totais

O estudo da qualidade de água, como já foi mencionado anteriormente, inclui indicadores de poluição fecal, o grupo dos coliformes, em especial a espécie *Escherichia coli*.

O LIAMAR/IFCE faz a identificação dos coliformes totais e *E. coli* através do método da cartela Quant-Tray (Figura 10). Para a quantificação usa-se a técnica de número mais provável (NMP) desenvolvido em cartelas plásticas estéreis e descartáveis, que substituem os tradicionais tubos de ensaio. Esse método usa um kit que permite rapidamente a determinação tanto da presença-ausência em 100 mL de amostra, assim como a quantificação de coliformes.

O método se baseia na utilização pelos coliformes de um substrato cromogênico ortonitrofenil β -D-galactopiranosídeo (ONPG) para detectar a enzima β -D-galactosidase que é produzida pelas bactérias do grupo coliformes totais. Sob a ação dessa enzima, o substrato é clivado liberando *o*-nitrofenol que muda a cor do meio para amarelo intenso (CEBALLOS *et al.*, 1999, p. 5). Vários meios de cultura têm sido desenvolvidos, entre eles o Colilert® (IDEXX Laboratories Inc.), o qual é utilizado pelo LIAMAR/IFCE. Ele é um meio de cultura em pó estéril comercializado em sachês plásticos, pronto para se adicionar a 100 mL de amostra de água.

100 mL da amostra bruta ou de suas diluições são adicionadas ao meio Colilert®, e depois transferidas para cartela. Finalmente, a cartela é levada para estufa 35-37 °C incubando por 24 horas. Os resultados são expressos através do NMP/100 mL da amostra obtido na tabela de combinação de cavidades positivas. Diante das células amareladas, que representam as células positivas de CT, elas são levadas a luz ultravioleta onde é feita a leitura de *E. coli*. Conta-se o número de células positivas (grandes e pequenas) com fluorescência e é consultada a tabela de combinação de cavidades positivas para avaliação quantitativa.



Figura 10 - Cartela Quant-Tray preenchida com amostra e meio de cultivo para determinação de coliformes totais e *Escherichia coli*

2.2.2 *Escherichia coli* (EC)

A presença de *E. coli* é utilizada como indicador clássico de contaminação fecal, cuja presença está associada à existência de bactérias patogênicas, normalmente mais difíceis de serem detectadas (LEYVA *et al.* 1991, p. 118-121).

A determinação de *E. coli* se faz juntamente com a de CT, após o período de incubação de 24 horas. Isso porque bactérias da espécie de *E. coli* possuem a enzima β -D-glucoronidase que quando entra em contato com o meio de cultura quebra a molécula de 4-metil umbeliferil-glucoronídeo liberando o 4-metil-umbelífero. Esse último é observado sob a luz ultravioleta de 365 nm e sua presença produz fluorescência azul intensa.

2.2.3 Coliformes termotolerantes (CTT)

Coliformes termotolerantes consistem em um subgrupo de bactérias do grupo dos coliformes, que são capazes de fermentar a lactose a $45,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas. A *Escherichia coli* é a principal representante desse grupo (PELCZAR, 1996 *apud* ROCHA-NETO *et al.*, 2007, p. 2).

A técnica para a determinação de CTT baseia-se no princípio de que as bactérias presentes em cada amostra podem ser separadas umas das outras por agitação, ocasionando

uma suspensão de células bacterianas individuais, uniformemente distribuídas na amostra original. Para a determinação de CTT, aplica-se a técnica dos tubos múltiplos.

Essa técnica determina o número mais provável (NMP) de coliformes na amostra. Ela consiste na inoculação de volumes decrescentes de amostra, em séries de tubos, em meio de cultura adequado ao crescimento dos micro-organismos.

O meio de cultivo utilizado é o meio A1, meio que contém a lactose. Coloca-se o A1 nos tubos de ensaio juntamente com o tubo de Durham invertido. Em seguida, eles vão para a autoclave durante 15 minutos em temperatura de 121°C com o objetivo de se esterilizar o meio. Antes de transferir as amostras para os tubos de ensaios esterilizados deve-se promover uma homogeneização por inversão do frasco em torno de 40 vezes, adicionando assepticamente na área estéril do bico de Bunsen.

Na análise, são feitas três sequências de cinco tubos de ensaio de acordo com APHA (2005). Depois de transferidas as amostras para os tubos esterilizados, deve-se homogeneizar cada tubo inoculado com o auxílio de um agitador de tubos vórtex. Depois, os tubos inoculados são incubados em estufa a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$, durante 3 horas, para, em seguida, incubá-los em banho-maria regulado a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 21 ± 2 horas.

A leitura dos resultados se dá a partir da fermentação da lactose que é prova positiva para a presença de bactérias CTT. Isso ocorre devido ao aspecto turvo no tubo de ensaio e presença de gás no tubo de Durham (Figura 11)

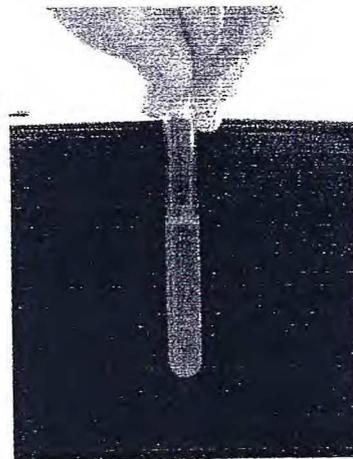


Figura 11 - Tubo de ensaio positivo, para coliformes termotolerantes (CTT), mostrando o aspecto turvo do tubo do meio e a presença de gás no tubo de Durham.

2.3 Sala de Microscopia – SM

A SM é constituída por bancadas para microscópios ópticos (comuns e invertidos) e estereoscópios. Cada microscópio possui um computador com placa de vídeo para otimizar a captura de imagens microscópicas e uma câmera fotográfica. A SM dispõe ainda de armários onde as amostras são armazenadas. Quando as amostras chegam ao laboratório, a comunidade planctônica é investigada.

Na SM, busca-se fazer a qualificação e a quantificação fitoplanctônica. Segundo Esteves (1998, p. 378), a predominância de um ou outro grupo em determinado ecossistema é função, principalmente, de características do meio. Os principais grupos com representantes no plâncton de água doce são Cyanophyta, Chlorophyta, Euglenophyta, Chrysophyta e Pyrrophyta.

A análise do fitoplâncton é feita utilizando-se os grupos supracitados, pois eles são bastante sensíveis a quaisquer alterações nas variáveis ambientais, tais como pH, temperatura, compostos nitrogenados.

A análise qualitativa do fitoplâncton se baseia na identificação de toda espécie encontrada no ecossistema (Figura 12).

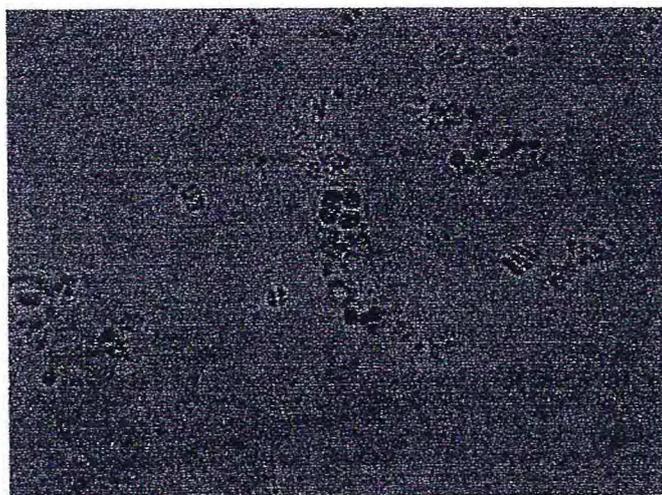


Figura 12 - Fitoplâncton presente em uma amostra de água analisada no Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias do Instituto Federal do Ceará (LIAMAR/IFCE).

A identificação do fitoplâncton mostrará a biodiversidade local, permitindo a avaliação dos táxons encontrados no meio. O material analisado é coletado em frascos âmbar

de 500 mL e fixado com formalina tamponada (20 mL). O material é coletado com rede de plâncton, e a análise qualitativa do fitoplâncton é feita em microscópios ópticos.

A análise quantitativa fornece informações sobre a relação das espécies de cianobactérias encontradas no ecossistema e sua densidade (números de organismos por mL). Essa contagem de células por mL é importante porque as cianobactérias são consideradas perigosas devido à liberação de cianotoxinas, substâncias tóxicas que podem causar de pequenas alergias até a morte

Por se tornar um perigo à saúde pública, a legislação ambiental brasileira define limites para a presença de cianobactérias e cianotoxinas. Para a potabilidade não é tolerável a presença dessas cianotoxinas, assegurando assim a manutenção da saúde da população que se utiliza da água para diversos fins. Para a balneabilidade, a Resolução Nº 357/05 do CONAMA estabelece máximo de 20.000 células/mL (BRASIL, 2005).

A análise quantitativa é feita no microscópio invertido. A amostra é coletada na superfície e colocada em frascos âmbar de 1 L, com 5 mL de lugol. Quando a amostra chega ao laboratório, ela é deixada em repouso por 24 horas para que possa ocorrer a sedimentação. Quando é finalizado o tempo de sedimentação, o sobrenadante é sifonado e descartado e os 50 ml restantes são armazenados em frascos âmbar de 100 mL. O volume inicial e o volume final, juntamente com a constante do microscópio, vão influenciar na contagem dos organismos no microscópio invertido. 1 mL de amostra é depositado na câmara de Sedgwick-Rafter (Figura 13), que é demarcada com transectos a fim de auxiliar e otimizar o processo de contagem.

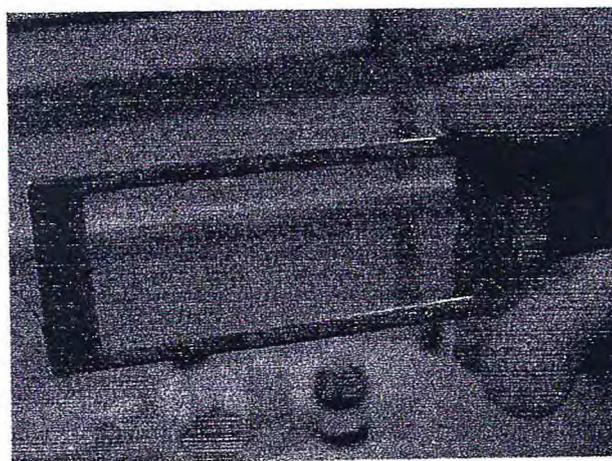


Figura 13 - Câmara de Sedgwick-Rafter, para contagem de fitoplâncton

1.4 Sala de Ensaio Ecotoxicológicos – SEE

A ecotoxicologia aquática surgiu para dar suporte no enfrentamento dos problemas de contaminação por compostos tóxicos. De acordo com o ecotoxicologista francês René Truhaut (1997, *apud* MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 1998, p. 356), a ecotoxicologia pode ser definida como a “ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nas quais os organismos vivem num contexto integrado”.

Dentro do grupo dos cladóceros, o gênero *Daphnia* é o mais utilizado como prova de toxicidade. Isso devido a sua ampla distribuição geográfica, facilidade de cultivo em laboratório e, principalmente, reprodução partenogenética, que assegura uniformidade aos resultados.

Os testes de toxicidade são ferramentas desejáveis para avaliar a qualidade das águas e a carga poluidora de efluentes. Na sala de ecotoxicologia do LIAMAR/IFCE, utiliza-se *Daphnia magna* nos testes.

A *Daphnia magna* é um microcrustáceo planctônico de 5 a 6 mm de comprimento que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Condições ideais de cultivo dão origem a fêmeas (reprodução assexuada). Por condições ideais de cultivo, entende-se temperatura entre 18 e 22°C, alimentação adequada, pH entre 7,0 e 8,0 e dureza total de 175 a 225 mg CaCO₃/L. Deve-se respeitar todos os parâmetros garantindo assim sucesso no cultivo. Surgindo algum fator de estresse, principalmente temperatura fora do padrão, os cladóceros *Daphnia* passam a se reproduzir sexualmente, ocorrendo a formação do epífito, que consiste em uma camada de coloração escura para a proteção dos ovos. As *Daphnia* começam a se reproduzir entre 7 e 10 dias.

O laboratório realiza o cultivo desses organismos seguindo a norma NBR 12713:2009 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2009). Essa norma especifica um método de avaliação da toxicidade de amostras de efluentes líquidos, águas continentais subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água para *Daphnia similis* e *magna*.

No LIAMAR/IFCE, a SEE constitui um ambiente limpo, de temperatura e luminosidade adequadas com o objetivo de garantir a reprodução partenogenética. A sala é

constituída por uma bancada, onde é feito todo o procedimento operacional, como troca de meio, contagem de organismos, prateleiras para armazenar os lotes de organismos devidamente organizados (Figura 14).

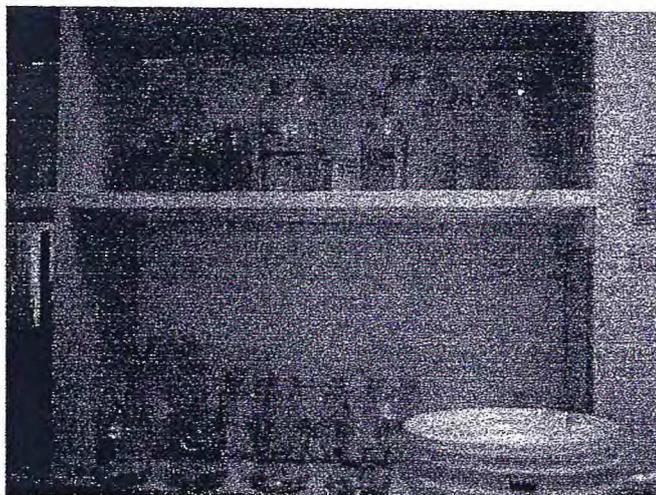


Figura 14- Lotes de *Daphnia* organizados em prateleiras

As águas de cultivo e de diluição são preparadas com vitaminas, macro e micronutrientes conforme a NBR 12713:2009 (ABNT, 2009). As soluções são preparadas em balões volumétricos e estocadas ao abrigo da luz e do calor. A água deve ser aerada para que possa haver a solubilização total dos sais, saturação do oxigênio. Essa aeração deve acontecer por no mínimo 24 horas antes da sua utilização.

No LIAMAR/IFCE, os organismos são mantidos em lotes de 15 adultos por litro, com luminosidade difusa, em temperatura de 22°C. A água é renovada a cada dois dias, devido ao consumo dos nutrientes e eliminação de metabólitos. O manuseio dos organismos é feito utilizando pipetas ou peneiras com malha de diâmetro que retenha os organismos. A alimentação dos organismos é feita diariamente, geralmente no final do dia, com a alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*, que é cultivada no próprio LIAMAR/IFCE.

Quando a amostra chega ao laboratório, ela é filtrada para a retirada de partículas em suspensão. A amostra é mantida em frascos totalmente preenchidos para minimizar a presença de ar e o teste é feito o mais rápido possível, não excedendo 12 horas. Para os ensaios de toxicidade, são procedidas diluições na amostra de 100, 50 e 25%, sendo o ensaio realizado em triplicata para dar uma maior confiabilidade aos resultados. Para cada diluição e controle, são adicionados 10 juvenis de 6 a 24 horas de idade, pois eles apresentam uma maior sensibilidade em relação aos testes, em seguida eles são levados para a incubadora, dentro de

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando em consideração a importância da água para o sucesso da aquicultura de um modo geral, o estágio no LIAMAR/IFCE foi de grande valor e contribuição para o futuro profissional de Engenharia de Pesca, pois vivenciando na prática a realidade do seu campo profissional o torna mais qualificado diante dos problemas que podem vir a surgir ao longo de sua carreira.

Durante o Estágio, foram executadas as metodologias das análises procurando estabelecer uma ligação direta com a Engenharia de Pesca. A necessidade de preservação dos recursos hídricos para a realização de uma atividade sustentável se faz necessário, pois a utilização não racional das águas implica na deterioração de sua qualidade, trazendo prejuízos para a população de um modo geral.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713:2009** Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). 2009. 23 p.

APHA - American Public Health Association; American Water Works Association – AWWA; Water Environment Federation - WEF. **Standard methods for the examination of water and waste water**. 21. ed. Washington DC: APHA, 2005 (CD).

BOYD, C. E. **Manejo da qualidade de água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho**. Recife: ABCC, 2000. 157 p.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 mar. 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 518/GM, de 25 de março de 2004. 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, 26 mar 2004. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-518.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

CEBALOS, B. S. O.; PELLIZARI, V. H.; KONIG, A.; CATÃO, R. M. R. **Novas metodologias em Microbiologia Ambiental**. Notas de aulas do Curso “Novas Metodologias em Microbiologia Ambiental”. Campina Grande-PB. AESA/DEC/CCT/UFPB. Outubro 1999. 34 p.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência Ltda., 1998. 602 p.

FAO. Manual sobre manejo de reservatórios para a produção de peixes. Documento preparado para o Projeto GCP/RLA/075/ITA apoio as atividades regionais de aquicultura para América Latina e o Caribe de autoria de João de Oliveira Chacon, Francisco Hilton Nepomuceno, José Jarbas Studart Gurgel, José Oriani Farias, Expedito Araújo de Vasconcelos; José William Bezerra e Silva, Pedro de Alcântara Filho, José Raimundo Bastos, Nino Merola e Juan Enrique Vinatea. Documento de Campo 9. Programa Cooperativo Governamental, FAO, Itália, 1988.

FÜLBER, V. M.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L. D.; BRACCINI, G. L.; MARENGONI, N. G.; GODOY, L. C. Desempenho produtivo de três linhagens de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 77-83, 2010.

KUBITZA, F. **Qualidade da água, planejamento da produção e manejo alimentar em piscicultura**. Cursos Avançados em Piscicultura. Jundiaí, 2000. 77 p.

LEYVA, C. V.; VALDOS, A. E.; CISNEROS, D. E.; RIVERO, L. L. Biochemical characterization of fecal coliform strains isolated from food. **Revista Cubana de Alimentación y Nutrición**, Habana, v. 5, p. 118-121, 1991.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO-FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

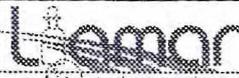
PIVELI, R. P.; KATO, M. T. **Qualidade das águas e poluição: aspectos físico-químicos**. São Paulo: ABES, 2006. 285 p.

ROCHA NETO, M. M.; FIGUEIRA, S. B.; SILVA, F. F. L.; GOMES, M. C.; SILVA, T. C. R. Redução de resultados falso negativos com utilização de indicador em meio de enriquecimento para análises de coliformes termotolerantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES), 2007.

SILVA, S. A.; OLIVEIRA, R. **Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias**. São Paulo: ABES, 2001. 266 p.

SIQUEIRA, A. D. D. **Saprolegniose: doença fúngica em peixe**. 2004. 41 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista, São Paulo, 2004.

ANEXO

 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA	LABORATÓRIO INTEGRADO DE ÁGUAS DE MANANCIAIS E RESIDUÁRIAS DO INSTITUTO FEDERAL DO CEARÁ	
	ÁREA DE QUÍMICA E MEIO AMBIENTE	

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Certificado Nº

CLIENTE

Nome:

Endereço:

Fone:

IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

Procedência:

Tipo:

Pontos de Amostragem:

Data da Coleta:

Hora:

Responsável:

Data da Entrada:

Hora:

Recebida por:

Informações Complementares:

PARÂMETROS	METODOLOGIA (APHA <i>et al.</i> , 2005)	RESULTADOS	Padrões *
Cor (uH)	Colorimétrico		75
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	Filtração a vácuo com membrana de fibra de vidro 0,45µm de porosidade - Secagem a 103°C - 105°C		-
Sólidos Dissolvidos Totais (mg/L)	Filtração a vácuo com membrana de fibra de vidro 0,45µm de porosidade - Secagem a 103°C - 105°C		500
DQO (mg/L)	Digestão por refluxação fechada		-
DBO ₅ (mg/L)	Frascos Padrões - Iodometria		5
Manganês (mg Mn/L)	Espectrofotométrico - Absorção Atômica		0,1

* RESOLUÇÃO CONAMA N° 357 de 17/03/2005

OBSERVAÇÃO

O resultado obtido responde pela amostra recebida no laboratório.

CONCLUSÃO

 Prof. Raimundo Benvidio Gomes
 Responsável pelo LIAMAR/IFCE
 Reg. CRQ N° 10.302.510

LABORATÓRIO INTEGRADO DE ÁGUAS DE MANANCIAIS E RESIDUÁRIAS - LIAMAR/IFCE

Avenida 13 de Maio, 2001 - Benfica - CEP:60.040-831 - Fortaleza - CE - Fone: (051)3307-3727 - Fax: (051)3307-3699 E-MAIL: liamar@ifce.edu.br