



**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICAS DA QUALIDADE  
DA ÁGUA PARA O CONSUMO HUMANO NA PROVÍNCIA DO PLANALTO  
CENTRAL - HUAMBO - ANGOLA.**

Lafayette de Assunção Fernandes

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do  
Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar*

Orientado por

Professora Doutora Maria Letícia Miranda Fernandes Estevinho

Professora Doutora Maria da Conceição Vaz Angélico

Bragança

2014

**Nome:** Lafayete de Assunção Fernandes

**Orientadora:**

Prof. Doutora Maria Leticia Miranda Fernandes Estevinho, Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Bragança.

**Co-Orientadora:**

Prof. Doutora Maria da Conceição Vaz Angélico, Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Bragança.

*" Tudo que é bom dura o tempo necessário para ser inesquecível "*

*Fernando Pessoa*



## **Dedicatória**

À memória do meu querido **pai**, António Domingos Fernandes, pelos ensinamentos, os conselhos, o carinho, fizeram de mim a pessoa que sou hoje, e as lembranças ainda estão vivas dentro de mim, e nelas me refugio para lutar e enfrentar os obstáculos da vida.

A toda **minha família**, especialmente a **minha mãe** (Maria Helena Júlia Fernandes), aos **meus filhos** (Etiandro e Arieth), aos **meus irmãos queridos** (Iveth, Celso, Ivo, Isolete, Israel), as **minhas sobrinhas** (Palmira, Surpresa, Ivete, Renely, Gemilson, Edmilsom, Isolete, Lusinildo, Vado, Luvânia, Denise, Lafayeth), **as minhas tias** (Isaura, Lúcia, Dos Anjos, Isabel) **tios** (António, Patrício, Guto), aos **primos** (Vado, Castriote, Marques) e **primas** (Leonilde, Doroteia, Belina, Neide, Rata, Jandira) pelo carinho e apoio incondicional, me deram sempre coragem e confiança para continuar.

*Dedico*



## Agradecimentos

Durante a minha trajetória em Bragança, muitos foram os obstáculos que enfrentei, as quais foram superadas por Deus. Colhi muitas experiencias, que contribuíram para crescer e aprender com as barreiras. Conheci e convivi com várias pessoas que se tornaram amigos e conquistaram a minha admiração e tive o privilégio de poder contar sempre.

Agradeço primeiramente a **Deus** pelo dom da vida, perseverança, e por mais uma oportunidade de crescer profissionalmente.

A toda **minha família**, a quem devo tudo o que sou hoje. Muito obrigada pela confiança que depositaram em mim.

À minha orientadora, Professora Doutora **Maria Letícia Miranda Fernandes Estevinho**, pelo carinho, disponibilidade, paciência, motivação em trabalhar neste tema, esforço, apoio científico, ensinamentos e confiança demonstrada na realização deste trabalho.

À minha co-orientadora Professora Doutora **Maria da Conceição Vaz Angélico**, pelo apoio incondicional, e ensinamentos.

Ao Professor Doutor **Luís Dias**, pela preocupação, amizade, apoio no tratamento de dados experimentais, paciência e disponibilidade demonstrada.

À equipa maravilhosa do **Laboratório de Microbiologia**, pelo apoio, amizade, e disponibilidade.

À dona **Olinda** e ao Engenheiro **Eng. David**, pela simpatia e apoio incondicional na realização deste trabalho.

Ao **Instituto Superior Politécnico do Cuanza-Sul**, na pessoa do Diretor Geral Eng. **Octávio Spínola**, por apostar e acreditar no projeto de Mestrado, aos seus Adjuntos **Dra. Ana Manuela, Dr. Kwaya, Dr. Chinote, Dr. Adérito Cunha, Dr. Joel Eculíca, Dr. Lourenço** e ao corpo **Docente** o meu eterno obrigado.

Ao corpo Directivo do **Instituto Politécnico de Bragança**, na Pessoa do Professor Doutor **Sobrinho Teixeira**, Professor Doutor **Albino Bento**, por apostarem neste projeto de Pós-graduação em parceria com o **Instituto Superior Politécnico do Kwanza Sul**, sobre alçada do **Governo da República de Angola**.

Ao corpo docente do curso de **Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar**, pelo voto de confiança, paciência e amizade durante a formação.

Não me poderia esquecer e agradecer aos meus amigos que participaram nesta etapa da minha vida, especialmente, **Ornelas** pela motivação e troca de ideias, **Esmael Gomes Berline, Sandra, Gelson, André Sinela, Jandira Leon, Zelda, Júlia, Claudete, Lira, Henda, Aristides, Peltier, Irene, Armindo, Anilda, Rossana, Dunn, Georgina, Sara, Almy, Demise, Júlia Ferreira, Selma** pela motivação e apoio incondicional.

Às meninas do Erasmus da **Domus Universitária**, obrigada por todo apoio e amizade.

A todos os que não foram mencionados, mas que de alguma forma participaram na realização deste trabalho, o meu sincero obrigado.

# Índice Geral

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vii
Índice Geral.....	ix
Índice de Figuras.....	xi
Índice de Figuras.....	xi
Índice de Tabelas.....	xi
Lista de abreviaturas.....	xii
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xv
1. Introdução Geral ao Tema.....	1
1.1. Caraterização geográfica.....	3
2. Controlo da qualidade da água.....	5
2.1. Poluição aquática.....	5
2.1.1. Tipo de poluição.....	5
2.1.2. Microrganismos indicadores da poluição.....	7
2.1.3. Doenças que tem origem na água.....	9
2.1.4. Caraterização microbiológica da água.....	11
2.1.4.1. <i>Enterobacteriaceae</i> .....	11

2.1.5. Caracterização físico-química da água .....	14
3. Material e Métodos .....	26
3.1. Parte experimental .....	26
3.2. Análises microbiológicas.....	26
3.2.1. Colheita, acondicionamento e transporte das amostras .....	27
Tabela 1. Meios de cultura usados na pesquisa e enumeração dos microrganismos estudados .....	29
3.3. Análise físico-química.....	31
3.3.1. Procedimento técnico .....	31
4. Resultados e Discussão.....	42
4.1. Análises Microbiológicas .....	42
4.2. Análises físico-químicas.....	44
4.2.1 Caracterização da água da torneira.....	47
4.2.2 Caracterização da água do poço .....	47
5. Conclusão .....	48
6. Recomendações .....	51
Bibliografia.....	53
Anexo I.....	57

## Índice de Figuras

Figura 1. Referente ao limite comunal da província sede do Huambo.....	4
--	---

## Índice de Tabelas

Tabela 1. Meios de cultura usados na pesquisa e enumeração dos microrganismos estudados .....	29
Tabela 2. Média e desvio padrão dos resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos nas amostras de água provenientes do poço e torneira, transportadas à temperatura ambiente. ....	43
Tabela 3. Média, desvio padrão dos resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos nas amostras de água provenientes do poço e torneira, transportadas em condições de refrigeração. ....	44
Tabela 4. Resultados médios, desvio padrão, obtidos para os parâmetros físico-químicos na água (acondicionada à temperatura ambiente).....	45

## **Lista de abreviaturas**

OMS - Organização Mundial da Saúde

UFC - Unidade Formadoras de Colónias

ISO - Internacional Standard Organization

ml - mililitro

mg/l - miligramas por litro

$\mu\text{S/cm}$  - microsimens por centímetro

NMP - Número Mais Provável

NP - Norma Portuguesa

VMR - Valor Máximo Recomendável

VMA - Valor Máximo Admissível

pH - Potencial Hidrogeniónico

$\text{CBO}_5$  - Carência Bioquímica de Oxigénio

OD - Oxigénio Dissolvido

PCA - Plate Count Agar

IPQ - Instituto Português de Qualidade

EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético

$\text{CaCO}_3/\text{L}$  - Carbonato de cálcio por mililitro

SW - Sudoeste

S - Sul

## Resumo

A água é um dos recursos mais abundante no planeta e essencial a vida, pelo que é imprescindível a sua gestão e qualidade. No entanto a sua utilidade deve ser salvaguardada quer nos aspectos ambientais quer sanitários.

O presente estudo teve como objetivo analisar amostras de água para o consumo humano provenientes da cidade do Planalto Central - Huambo, Angola, e associar a qualidade com o meio envolvente. Assim colheram-se duas amostras de água da torneira e do poço e avaliou-se a qualidade físico-química (alcalinidade, acidez, pH, condutividade elétrica, cloretos, oxigénio dissolvido, nitritos, nitratos, sulfatos, fosfatos, oxidabilidade, dureza, cálcio, magnésio, e CBO<sub>5</sub>) e microbiológica (número de colónias a 22<sup>o</sup>C e 37<sup>o</sup>C, *Pseudomona aeruginosa*, esporos de *Clostridium* sulfito redutores, coliformes totais e *E. coli* e *Enterobacteriaceae*). As análises foram efetuadas de acordo com as normas Portugueses e Europeias.

No que diz respeito aos resultados obtidos nas análises microbiológicas, as águas foram classificadas como impróprias, pois os valores máximos admissíveis (VMA) legalmente estipulados pelo Decreto-Lei n<sup>o</sup> 306/2007 de 27 de Agosto, foram ultrapassados em relação aos microrganismos a 22<sup>o</sup>C e 37<sup>o</sup>C e coliformes totais. *E. coli*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores e *Pseudomonas aeruginosa* estavam ausentes em todas as amostras analisadas. Relativamente aos parâmetros físico-químicos, os valores foram inferiores ao legislado. Apesar de observarmos valores inferiores ao limite legalmente estipulados por lei para os parâmetros físico-químicos, conclui-se que as águas são impróprias para o consumo humano, tendo em atenção os valores obtidos na análise microbiológica. No presente trabalho, a contaminação microbiológica observada, revela a necessidade de vigilância do sistema de abastecimento de água na cidade do Huambo.

Palavras - chave: água, qualidade, contaminação.



## Abstract

The water is one of the most resource abundant on planet and essential to life, however it is extremely indispensable their quality. Meanwhile, their utility must be safeguard either on ambient aspects even sanitary.

The present study has as objective to analyze the samples of water for the human being consume originating from Central Tableland Haumbo-city, Angola and to associate the quality with the environment so, it was collecting two samples of tape water and from shaft and it was evaluated the Physic-Chemistry quality (alkalinity, acidity, PH, electric conductivity, chlorides, dissolved oxygen, nitrites, nitrate, sulphates, phosphate, oxidability, hardness, calcium, magnesium and CBO5) and microbiology's (colonies number to 22<sup>0</sup>C and 37<sup>0</sup>C, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium* spores, total coli forms and *E. coli* and *Enterobacteriaceae*). Analyzes it was effectuated in order with Portuguese and Europeans standards. In relations to the obtained results on microbiology's analyzes, the water it was classified as improper so the maximum acceptable values (VMA) legally stipulated from Decree Law n 306/2007 of 27 of August, it was exceeded in relation to microorganism from 22<sup>0</sup>C e 37<sup>0</sup>C and total coli forms *E. coli*, *Clostridium* spores, sulphite-reducing and *Pseudomonas aeruginosa* it was absent in all samples analyzed.

Relatively to the parameters the values obtained to the parameters analyzed it was inferior. In spite of what we observe inferior values the limit legally stipulated by the law. It was concluded that the water are improper for the human being consume. Being in attention the values obtained on microbiology's analyzes. On present work, the microbiology's contamination observed, it reveals the necessity of vigilance of the system of supplies of water in Haumbo city.

Key-Words: Water, quality, contamination.

# 1. Introdução Geral ao Tema

A água é um elemento fundamental para o desenvolvimento sustentável dos países, desde a proteção e conservação ambiental à segurança alimentar, ao aumento do turismo e investimento, à educação e promoção da igualdade do género, em todos os processos produtivos e às perdas de produtividade devidas a doenças e má nutrição (Mendes, 2001). Ao longo dos tempos tem-se registado um crescente aumento populacional em algumas regiões da Província do Planalto Central do Huambo-Angola em detrimento do recurso hídrico mais valioso, a água. Este aumento tem vindo a diminuir a sua qualidade, tornando-a imprópria para o consumo humano.

O acesso das populações ao saneamento básico adequado não é universal e todos os anos morrem milhões de pessoas de doenças associadas a água imprópria. A existência de uma rede de saneamento básico, juntamente com o uso de disseminação de práticas higiénicas adequadas (lavagem das mãos, por exemplo), é considerada uma condição prévia para a redução das taxas de morbilidade e mortalidade do homem (Mendes, 2004).

De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, a água destinada ao consumo humano, é definida como:

- *Toda a água, no seu estado original ou depois do tratamento, que é usada para beber, cozinhar, preparar alimentos ou outros usos domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio cisterna, em garrafas ou outros recipientes, com ou sem fins comerciais;*
- *Toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para o fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinadas ao consumo humano, exceto quando a utilização dessa água não afeta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada.*

Toda a água destinada ao consumo humano antes do seu uso sofre um processo de potabilização. Para o efeito, é submetida a uma série de manipulações complexas e dispendiosas para garantir a ausência de partículas sólidas (filtração) em suspensão

(adição de substâncias flocculantes e decantação), evitar odores e sabores (filtros de carvão) e procurar que esteja livre de microrganismos (coloração).

A água utilizada para o consumo humano não deve causar danos à saúde pública, deve ser agradável ao paladar, à vista dos consumidores e, não causar deterioração ou destruição das diferentes partes dos sistemas de abastecimento; estes aspetos físicos e sensoriais estão ligados aos parâmetros organoléticos, microbiológicos, físico-químicos indesejáveis e tóxicos, os quais definem se uma determinada água é adequada para o consumo humano.

O presente trabalho desenvolveu-se tendo em conta os seguintes objetivos:

- Determinar a qualidade microbiológica de amostras de água (poço e torneira) provenientes do planalto central - Huambo, Angola;
- Avaliar as características físico-químicas da água;
- Formular recomendações para as entidades governamentais e população em geral.

## 1.1. Caracterização geográfica

A província do Huambo, também conhecida por " Planalto Central ", ocupa o 11º lugar dentro do território angolano e fica situado na região centro-oeste de Angola. É limitada a noroeste e a leste pela província do Bié, a sul, pela província da Huila, a oeste pela cidade de Benguela e a noroeste pela província do Cuanza Sul. Corresponde á superfície planáltica de maior altitude do território angolano, situada acima da curva de 1500m. Estende-se para Sul, ocupando uma superfície de 35 771 km<sup>2</sup> (2,61% da extensão nacional), sendo sua capital a cidade do Huambo. O município sede ocupa o 8º lugar dentro de um grupo de 11 municípios. A província atravessa regiões essencialmente agrícolas, e uma região urbana importante. Situa-se entre os paralelos 10<sup>0</sup> 27' e 14<sup>0</sup> 16' de latitude Sul e os meridianos 14<sup>0</sup> 14' e 17<sup>0</sup> 37' de longitude Este (Atlas Geográfico, vol. 1, 1986).

A província do Huambo (figura 1) encontra-se localizada na zona de climas húmidos e secos das regiões intertropicais de ventos alisados. Tendo em conta à altitude territorial da província, o clima é geralmente temperado, mesotérmico quente com invernos secos e verões chuvosos (Classificação de Köppen), sendo a temperatura média anual inferior a 20°C. No entanto, os valores médios mensais e os extremos apresentam uma variação bastante irregular ao longo do ano, atingindo uma média mínima de 5°C (extremo Sul) a 8°C (Norte). Nas regiões com maior altitude, o mês mais frio é Junho e o mais quente Setembro, com médias variáveis entre os 28°C e aos 30°C, nas zonas de baixas altitudes o mês de Outubro é o mais quente.

As precipitações oscilam desde os 1100 mm a S e SW e 1400 mm no centro-oeste.

A estação chuvosa estende-se por sete meses, correspondendo aos meses de Outubro a Abril, caracterizando-se pela existência de dois máximos na curva das precipitações, um em Novembro ou Dezembro e outro em Março ou Abril. No intervalo entre estes dois máximos, existe um período de chuvas mais escassas denominadas de " pequeno cacimbo". A época de cacimbo coincide com a estação seca que vai de Maio a Agosto, já os meses de Setembro e Abril correspondem aos meses de transição.

No que diz respeito à geologia, as rochas são de origem metamórfica e sedimentar, nomeadamente: granito-gnaisses, os ortognaisses, os granitos, os granodioritos, os

quartzodioritos. Destacam-se as formações pré-câmblicas pertencentes ao maciço eruptivo (Diniz, 1973).



Figura 1. Referente ao limite comunal da província sede do Huambo

## **2. Controlo da qualidade da água**

Atualmente, a qualidade da água constitui uma preocupação dominante para muitas entidades gestoras dos sistemas de abastecimento de água em todo mundo. Para ultrapassar esse desiderato, as entidades governamentais traçam metas para dar respostas naquilo que tem vindo a causar mortes prematuras principalmente de crianças, idosos e pessoas imunodeprimidos que consistem na implementação de sistemas de rastreabilidade desde as estações de tratamento até ao consumidor final, utilizando técnicas eficientes e económicas de detenção e proveniência das águas.

Para manter a qualidade da água e dar credibilidade aos usuários do precioso líquido deve-se ter em conta: o tratamento adequada da água, manutenção das redes de tubagens e reservatórios e, análise periódica e sistemática das águas destinadas ao consumo humano. Um dos métodos mais eficaz de diagnosticar se a água é ou não própria para o consumo consiste na avaliação periódica dos principais constituintes, para tal, deve ser submetida a um processo de análises físico-químicas e microbiológicas em todo sistema de abastecimento desde a sua origem até a distribuição (Maul *et al.*, 1989, citado por Costa, 2007).

### **2.1. Poluição aquática**

#### **2.1.1. Tipo de poluição**

Poluição é a introdução ou acumulação de substâncias, naturais ou exógenas que vão e/ou podem alterar o equilíbrio do ecossistema ou englobar substâncias estranhas ao sistema, o que pode afetar o metabolismo dos organismos presentes levando à disfunção, tornando a água imprópria para o consumo público e com consequências a nível da sua utilização (Mendes & Oliveira, 2004).

A poluição hídrica, traduz-se a nível da qualidade das águas (superficiais e subterrâneas) que se reflete em ações do tipo estática, biocida e processos de disrupção endócrina com real enfoque na hidrosfera.

Os problemas começaram quando as cidades se desenvolveram e os sistemas naturais já não eram capazes de depurar os esgotos que neles eram lançados, iniciando-se dessa

forma a degradação de áreas cada vez mais vastas. Alguns produtos industriais, uma vez lançados nos sistemas naturais, tornam-se inócuos, mas acumulam-se em concentrações tóxicas para a biota e para o homem (Tundisi, 2003).

Em paralelo à poluição das águas, os grandes focos de poluição são os esgotos pluviais, os escoamentos de superfícies, a indústria, a agricultura, o excesso de fertilizantes que se vão infiltrar no solo e poluem os lençóis de água subterrâneas e/ou os rios e ribeiros. Por outro lado, a extração mineira como por exemplo modificações hidrológicas, construções de barragens e canalizações podem também ser focos de contaminação das águas (Cortes *et al.*, 2002).

A poluição química das águas atinge os mares e oceano. Esta caracteriza-se por dois tipos de poluentes:

- Biodegradáveis são produtos químicos que ao final de um tempo são decompostos pela ação de bactérias (detergentes, pesticidas, fertilizantes etc.);
- Persistentes são produtos químicos que se mantêm por longo tempo no meio ambiente e nos organismos vivos; estes poluentes podem causar graves problemas de contaminação de alimentos (dicloro-difenil-dicloroetano), mercúrio etc.

A poluição é um problema importante que se agrava à medida que a população aumenta e a indústria se expande sendo necessário tomar decisões para a recuperação dos recursos aquáticos degradados e permitir a sua conservação (Wetzel,1993; Mendes & Oliveira, 2004).

Para à conservação destes recursos, temos de ser capazes de avaliar a qualidade da água com a finalidade de detetar as possíveis alterações, conhecer as fontes de contaminação e propor hipóteses de recuperação.

A eutrofização é também um modo de poluição pois é causada pelo excesso de nutrientes no meio aquático, provocando um desenvolvimento primário e excessivo das algas. Esse processo pode ocorrer naturalmente, por lixiviação, descarga de efluentes agrícolas e resíduos orgânicos (Mendes & Oliveira, 2004).

As principais fontes de eutrofização são os fosfatos e nitratos resultantes da agricultura e os fertilizantes contendo elevadas concentrações de azoto e fósforo. Estas substâncias são os principais nutrientes essenciais ao crescimento das plantas aquáticas, especialmente as algas, cuja velocidade de multiplicação é elevada tornando a água esverdeada ou acastanhada.

A água também pode ser infetada direta ou indiretamente por produtos químicos tóxicos ou organismos patogénicos. Ela pode conter:

- Bactérias - que podem provocar infeções intestinais e endémicas (febre tifóide, cólera, salmonelose, leptospirose, etc.);
- Vírus - provocam hepatites, infeções nos olhos etc.;
- Protozoários - responsáveis por amebiasas e giardiasas, etc.;
- Vermes - esquistossomas e outras infeções.

A maior parte da população das regiões suburbanas consome regularmente água de nascentes ou poços artesianos muitas vezes pode estar contaminada pela proximidade de fossas e lançamento de esgotos. A contaminação ocorre por infiltração através do solo.

Os múltiplos impactos ambientais advindos de atividades antrópicas tais como extração de recursos, construção de barragens e represas, também desvios do curso natural dos rios e introdução de espécies exóticas podem ser foco de contaminação das águas (Agences de L'eau, 1993, Silveira, 2004).

### **2.1.2. Microrganismos indicadores da poluição**

A água nos últimos anos tem constituído um dos fatores preocupantes a nível mundial, pois grande parte da população morre por infeções provocadas por águas provenientes de vários focos contaminados. Grande parte dos microrganismos poluidores das águas encontram-se presentes nas matérias e resíduos fecais ou urinários provenientes do metabolismo de animais de sangue quente, com valores muito elevados, isto é, 1g de fezes contem cerca de  $10^9$  organismos, alguns destes são patogénicos e outros não patogénicos.

De acordo com Mendes, (2010), a maior parte dos microrganismos indicadores de poluição são utilizados para monitorizar e avaliar a presença potencial de organismos

patogénicos da água, devendo a seleção desses microrganismos obedecer aos seguintes critérios:

- A concentração dos microrganismos indicadores de poluição da água contaminada deve ter uma relação direta com o grau de contaminação;
- O microrganismo indicador deve ser suficientemente conhecido, de forma a permitir a atribuição de valores-limite;
- A uma metodologia de análise dos microrganismos indicadores deve ser padronizada e específica para o microrganismo em causa (i.e., a presença de outros microrganismos não deve gerar resultados positivos) e suficientemente sensível para detetar níveis baixos dos indicadores;
- A análise dos microrganismos indicadores deve ser rápida, inequívoca e de baixo custo;
- Os microrganismos indicadores devem estar presentes sempre que microrganismos fecais patogénicos estejam também presentes, e em quantidades superior aos patogénicos;
- O microrganismo indicador deve ser mais resistente aos agentes desinfetantes que os microrganismos patogénicos (i.e., deve sobreviver mais tempo);
- Os microrganismos indicadores não devem reproduzir-se na água (para não causar sobre estimativas da poluição);
- Os microrganismos devem distribuir-se de forma aleatória na massa de água;
- Os microrganismos indicadores devem ser propícios para análise de todos os perigos de água: torneira, rios, subterrânea, barragens, estuários, oceanos, águas residuais (i.e., deve ser capaz de sobreviver nos vários tipos de água);
- Os microrganismos indicadores devem ser inofensivos para o ser humano.

Estudos realizados por Pina *et al*, (1998) & Lee (2000), demonstraram que, a ausência de microrganismos indicadores não nos permitem concluir que não existem microrganismos patogénicos, apenas nos indicam que não houve contaminação com resíduos fecais.

A água é um dos principais veículos de transmissão de doenças que está estreitamente relacionada com a sua qualidade, pois pode conter microrganismos suscetíveis de causar doenças. Também a insuficiência da água pode provocar doenças devido à higiene inadequada desde o manuseamento dos alimentos, utensílios, manipuladores entre outros meios envolventes.

Os indicadores considerados clássicos, de acordo com Mendes (2010), são:

- *Coliformes totais e Escherichia coli*;
- Esporos de *Clostridium* sulfito-redutores;
- *Enterococcus fecais*.

### **2.1.3. Doenças que tem origem na água**

A água representa um recurso de vital importância para o desenvolvimento das sociedades, quer seja em qualidade quer em quantidade, constituindo um fator limitante para o crescimento socioeconómico. Tal como referido anteriormente, pode ser caracterizada como um dos principais veículos de transmissão de doenças. As crianças e os idosos são os mais vulneráveis (OMS, 2004).

De acordo com Mendes (2004), as águas superficiais, como as subterrâneas contêm microrganismos, que são transportadas pelas grandes enxurradas, esgotos domésticos e outros resíduos orgânicos com diversas origens.

A maior parte dos microrganismos patogénicos associados à água, são transmitidos por alimentos o que torna difícil identificar a origem de diversas doenças seja uma infeção ou uma intoxicação alimentar (Cairncross & Feachem, 2005).

Nas últimas décadas, a diarreia é considerada como o principal foco de mortalidade com realce nas crianças com menos de 5 anos, causando deste modo a desnutrição prematura e o crescimento retardado. De acordo com a OMS (2004), 88% das doenças diarreicas estão associadas ao saneamento básico inadequado, à falta de higiene, e ao incumprimento do tratamento e abastecimento de água imprópria.

A incidência de doenças é função da sazonalidade, características dos sistemas de abastecimento, tipo de microrganismos e sua severidade, podendo ser temporárias ou

parciais. Atendendo a sua gravidade podem ser pouco severas como é o caso das gastroenterites e muito severas tais como: diarreias, febre tifóide entre outras.

A contaminação das águas para o consumo humano está ligada a vários microrganismos patogénicos capazes de transmitir doenças, está também envolvido o aumento populacional, aumento das águas residuais, mudanças de estilo de vida e a intervenção médica (Cairncross & Feachem, 2005).

Atualmente as doenças veiculadas na água, derivam de:

- Doenças associadas à ingestão da água, causadas pela presença de agentes patogénicos (*Coliformes*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, etc), enterovirus, protozoários e vermes intestinais;
- Doenças associadas ao contacto com a água, como consequência de um inadequado uso para fins de higiene pessoal;
- Doenças resultantes do habitat hídrico e relacionadas com a presença de vetores específicos. Estas, constituem o mais importante grupo de doenças ligadas à água.

De acordo com Mendes (2010), os principais agentes biológicos responsáveis pela contaminação da água são: bactérias, vírus e parasitas.

Os vírus são pequenos agentes infecciosos, visíveis ao microscópio eletrónico, parasitas obrigatórios por não possuírem metabolismo independente e terem capacidade de se reproduzirem apenas no interior de células hospedeiras vivas. Frequentemente são encontrados em águas contaminadas por dejetos humanos.

As doenças causadas por vírus mais comuns são: gripe, hepatite (A, B e C), sarampo, febre-amarela, poliomielite, meningite, pneumonia, varicela, raiva e alguns tipos de doenças venéreas.

As bactérias patogénicas encontradas na água e/ou alimentos são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade de humanos. São responsáveis pelos numerosos casos de enterites, diarreias infantis e doenças epidémicas (febre tifóide), como resultados frequentemente letais.

## 2.1.4. Caraterização microbiológica da água

### 2.1.4.1. *Enterobacteriaceae*

É uma família muito numerosa, pertencente aos microrganismos Gram-negativos. São anaeróbios facultativos, catalase e citocromo-oxidase negativo, não esporulados e fermentadoras da glicose

Fazem parte desta família *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *E. coli*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Yersinia*

São microrganismos com uma distribuição ubiquitária, encontrando-se nos solos, plantas e água. Existem géneros desta família que habitam no trato intestinal do homem e de animais, causando várias infeções como é o caso da *E. coli*, *Salmonella* e a *Shigella* (Mendes, 2010).

### 2.1.4.1. Coliformes Totais

Os coliformes, são um grupo de microrganismos que habitam no intestino do homem e animais de sangue quente. Pertencem a família *Enterobacteriaceae*, são bacilos Gram-negativos, não esporulados, anaeróbios facultativos e crescem em meios contendo sais biliares. Fermentam a lactose, em 48 horas a 37°C, com produção ácido e gás.

Atualmente a contagem de *coliformes* é amplamente utilizada na indústria alimentar, justifica-se pelo facto destas bactérias possuírem capacidade de sobreviverem e de se multiplicarem na água. São considerados como bons indicadores do estado de higienização (APDA, 2012a, APHA, 200b).

Fazem parte deste grupo as bactérias pertencentes aos géneros *E. coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. O género *Klebsiella* caracteriza-se por apresentar colónias mucóides em gelose de MacConkey, por produzir urease e ser imóvel. O *Citrobacter*, apresenta mobilidade sendo que a maior parte dos microrganismos desta espécie fermenta a lactose e provoca infeções urinárias no homem. Para a detenção e contagem destes microrganismos são utilizados vários métodos, entre eles salienta-se o da membrana filtrante (Mendes, 2010).

## ***Escherichia coli***

A *E.coli*, foi pela primeira vez isolada a partir de fezes da criança. É o principal indicador de contaminação fecal do grupo das *Enterobacteriaceae*. Este microrganismo, vulgarmente designada de coli-bacilo, é uma bactéria de grande importância clínica por ser frequentemente agente causador de infeções designadamente urinárias, gastrointestinais, pneumonias e septicemias. É uma bactéria Gram-negativa, que habita no trato intestinal do homem e na maioria das espécies de animais de sangue quente. Como não se multiplica em ambientes aquáticos, a sua presença em águas de consumo é indicador de poluição fecal (Novais, 2010; APDA, 2012b).

De acordo com o mecanismo de contaminação a *E. coli* está dividida em seis grupos: *Enteropatogénicas (EPEC)*, *Enterotoxigénicas (ETEC)*, *Enteroinvasivas (EIEC)*, *Enterohemorrágicas (EHEC)*, *Enteroagregativas (EaggEC)* e *as difusamente aderentes (EDEC)*. É dada maior ênfase aos quatro primeiros grupos (Sousa, *et al.*, 1991).

## **Esporos de *Clostridium* sulfito-redutores**

O género *Clostridium* pertencem à família *Bacillaceae*. São microrganismos Gram-positivos, em forma de bastonete, esporulados, anaeróbios, habitantes do trato intestinal do homem e animais. São resistentes à depuração natural e ao cloro, sendo por isso considerados indicadores de contaminação de origem fecal remota, devido aos longos períodos de permanência e às condições de sobrevivência dos seus esporos (Mendes, 2010).

Este grupo possui um microrganismo de grande interesse como indicador de poluição fecal, o *Clostridium perfringens*, também conhecido como *Clostridium welchii*, e são bacilos Gram positivo, bastante grossos, retos, imóveis, com extremidades quadradas de 0,6-2,4 µm de largura e 1,3-9,0 µm de comprimento. Encontram-se no solo, lamas, em contacto com as águas residuais ou com estrume. Caracterizam-se pela sua tolerância ao oxigénio e pela capacidade de crescerem em meios de cultura especiais.

O *Clostridium perfringens*, é responsável pela síntese de aproximadamente 15 toxinas, com realce para toxinas alfa (CPA), beta (CPB), épsilon (ETX) e iota (ITXA e ITXB), com atividades variadas, as quais são utilizadas para caracterizar as bactérias do tipo A

B C D e E. *Clostridium perfringens* do tipo A, é o responsável pela gangrena gasosa do homem e várias enterites ( Ferreira *et al*, 2010).

Grupo bastante homogêneo, representa 95% dos organismos anaeróbios redutores de sulfito, presentes nas fezes e em águas residuais. O botulismo, infecção de origem alimentar, é uma doença neuro paralisante, rara, grave, causada pela ingestão de alimentos contaminados com uma neurotoxina, pré-formada nos alimentos consumidos. Os primeiros sintomas ocorrem poucas horas a alguns dias após a sua ingestão (Novais,

As células vegetativas de *C. botulinum* são eliminadas por temperaturas de pasteurização e no processo de preparação dos alimentos, enquanto as toxinas são destruídas a temperaturas de aproximadamente 75 - 80 °C durante 30 minutos (Parrilli, 2008).

A indústria alimentar tem vindo a efetuar esforços para eliminar estas estirpes, para o feito tem usado vulgarmente desinfetantes eficazes para a sua destruição, nomeadamente o peróxido de hidrogénio, soluções de cloro e iodo (ICMSF, 1996).

Segundo Novais (2010), a intoxicação por *C. botulinum* pode ser extremamente grave, sendo caracterizada inicialmente por náuseas, vômitos e fadiga, evoluindo para paralisia muscular, diplopia, paragem respiratória seguida da morte.

### **Número de colónias a 22°C e 37°C**

A contagem total do número de bactérias formadoras de colónias a 22°C e 37°C utilizando a temperatura e o tempo como fator seletivo, engloba um largo espectro de microrganismos heterotróficos. São considerados indicadores da flora total presente em água.

O Decreto-Lei nº306/2007 de 27 de Agosto, estabelece o valor paramétrico "Sem alteração anormal" para estes dois parâmetros, não sendo desejável que o número de colónias a 22°C e 37°C seja inferior a 100 UFC/mL e 20 UFC/mL, respectivamente.

A presença muito elevada destes microrganismos na água indica uma grande quantidade de matéria orgânica facilmente biodegradável.

## ***Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas* pertencem à família *Pseudomonadaceae*. São bacilos Gram- negativos, facultativos, móveis com um único flagelo polar, não esporulados, oxidase e catalase positiva, com capacidade de desenvolvimento até 42°C. Existem um pouco por todo lado, na água, no solo, nas plantas e nos animais (Correia, 2000). Caracterizam-se por evidenciarem capacidade para produzir um pigmento fluorescente azul, a piocianina.

É considerado um agente patogénico oportunista, podendo causar várias infeções do trato urinário, do respiratório, oftalmológicas, ósseas e articulares e outras infeções sistémicas, principalmente em organismos imunodeprimidos. A maioria das espécies do género *Pseudomonas* são resistentes a muitos antibióticos, devido à presença de uma membrana exterior rica em Lipopolissacarídeo - L.P.S, que impede a entrada de determinados antimicrobianos. A espécie com maior relevância é a *Pseudomona aeruginosa*.

De acordo com Mendes (2010), o habitat usual destes microrganismos não é o tracto intestinal do homem, apesar de serem excretados por cerca de 12% da população infetada. A sua presença ocorre em águas de recreio e em equipamentos e tem sido considerado indicadora de poluição de origem fecal (Mendes, 2010).

Deste modo, deve proceder-se à sua pesquisa e quantificação em bebidas e alimentos confeccionados, em produtos farmacêuticos, nos hospitais e de uma maneira geral em águas de utilização pública.

## **2.1.5. Caracterização físico-química da água**

### **2.1.5.1. Parâmetros físico-químicos**

#### **Alcalinidade**

Definimos alcalinidade como a medida da capacidade da água para neutralizar os ácidos. Os maiores contribuintes para a alcalinidade em águas naturais são os iões de carbonatos, hidróxidos e bicarbonatos e em menor grau os ácidos fracos tais como os boratos, fosfatos, silicatos e substâncias orgânicas que provocam á alteração do pH (Koch, 2010).

Estudos realizados por Koch, (2010) dão conta de que as águas com alcalinidade muito elevada, tem grande poder tampão, isto é, o pH da água manter-se-á estável com a adição de um ácido. Quando a alcalinidade é muito baixa, pequenas quantidades de ácido pode diminuir drasticamente o pH. Normalmente as águas com níveis de alcalinidade baixo estão associadas a águas que provocam corrosão das condutas, já as águas com alcalinidade elevada causam incrustações de  $\text{CaCO}_3$  (Mendes & Oliveira, 2004).

A alcalinidade de uma água, representa um dos parâmetros de equilíbrio, nem sempre é estável, devido ao teor de cálcio, à concentração de  $\text{CO}_2$  e ao pH. Os parâmetros supracitados encontram-se intimamente ligados entre si, reagindo de uma maneira mais ou menos complexa, em processos de dissolução e precipitação de carbonato de cálcio. O  $\text{CO}_2$  dissolvido numa amostra de água, quando em presença de excesso de carbonato de cálcio sólido reage, dissolvendo-se. Dependendo do pH, esse processo demora um período de tempo mais ou menos longo, até se estabelecer o equilíbrio entre as diversas espécies químicas (Mendes & Oliveira, 2004).

### **Acidez**

A acidez de uma água refere-se à capacidade que possui de reagir quantitativamente com uma base forte a um pH definido (Ritter, 2010). O  $\text{CO}_2$ , que é absorvido da atmosfera ou resultante da decomposição da matéria orgânica, associados ao ácido sulfúrico são os responsáveis pela acidez natural. Resulta também da passagem de água nas tubagens enferrujadas, resíduos das indústrias e minérios (Mendes & Oliveira, 2004).

Em termos de saúde pública, a acidez tem relativamente pouca importância, pois não são conhecidos efeitos prejudiciais. No entanto, uma água ácida afeta a conservação dos sistemas de saneamento básico e o funcionamento biológico das estações de tratamento de águas residuais.

### **Condutividade**

A condutividade elétrica é a capacidade que a água possui de transmitir corrente elétrica. É a condutância numa coluna de água compreendida entre dois eletrodos

metálicos de 1cm<sup>2</sup> de superfície, separando um do outro por 1cm. A condutividade no meio aquático depende da concentração de iões dissolvidos em água, tais como ácidos inorgânicos, bases e sais, bem como da temperatura e dos impactos ambientais que ocorram na drenagem provocados por lançamentos de resíduos industriais, mineração, esgotos, entre outros (Gopal, 2004).

A condutividade eléctrica expressa-se em Sorensen " $\mu\text{S cm}^{-1}$  a 20°C" (Rodier *et al*, 2009).

Este parâmetro, apesar de não determinar as quantidades presentes em determinadas amostras, permite avaliar de uma forma rápida e global a sua composição mineral. O resultado é dado pela relação entre os sais minerais dissolvidos e a resistência de passagem à corrente eléctrica.

A determinação da condutividade eléctrica é efectuada através do método eletrométrico, utilizando para isso o condutivímetro digital (Mendes & Oliveira, 2004).

## **pH**

O pH é uma medida de acidez ou basicidade relativa de uma amostra, ou seja, expressar a concentração de iões de hidrogénio na solução.

Definem-se como águas ácidas aquelas em que o potencial hidrogeniónico ou pH é inferior a 6. Isto deve-se a presença de anidro carbónico e alumínios,  $\text{AL}^{3+}$ , de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) como é o caso das águas vulcânicas.

A escala do pH é constituída por uma série de números variando de 0 a 14. Em águas naturais, o pH depende da rocha que lhe deu origem, a natureza geológica e do revestimento vegetal.

O pH é um parâmetro importante em muitos estudos no campo ambiental, pois fornece informações sobre a qualidade da água, no entanto não exerce nenhum efeito prejudicial sobre a saúde do consumidor (Mendes & Oliveira, 2004).

A água dos rios e das lagoas, geralmente tem um pH entre 4 a 9. Estas restrições de pH são estabelecidas para diversas classes de águas naturais, de acordo com a legislação em vigor (Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto). Os critérios de qualidade da água fixam para o pH valores que oscilam entre 6,5 e 9,0.

A determinação do pH é feita através do método potenciômetro, utilizando um eletrodo de hidrogênio e um potenciômetro (Rodier, 2009).

### **Cálcio**

Descoberto pela primeira vez em 1808 em Londres, Inglaterra, pelo Inglês químico Sir Humphrey Dary, o cálcio é um catião preponderante na maioria das águas e a sua concentração depende do tipo de rocha que lhe deu origem. Nos solos, geralmente é encontrado sob a forma de bicarbonato de cálcio, especialmente em águas associadas com o calcário ou cal e como sulfato de cálcio. O bicarbonato de cálcio é responsável pela dureza temporária, os sulfatos, cloretos e os nitratos pela dureza permanente.

O cálcio é um mineral essencial na dieta humana, sendo a principal fonte para a formação dos ossos, dentes, mas o seu valor nutricional na água é mínimo quando comparado com a ingestão de alimentos (Twory *et al*, 2000). Tal como referido anteriormente, é o elemento responsável pela dureza da água, junto como o magnésio e outros sais. As águas duras dificultam as reações de saponificação.

### **CBO<sub>5</sub>**

A Carência Bioquímica de Oxigênio (CBO) define-se como sendo a quantidade de oxigênio dissolvido, (OD), expresso em mg/L, que é consumido durante a oxidação biológica aeróbia da matéria orgânica, contida na amostra, após incubação a  $20 \pm 1$  °C, em ambiente escuro num período de 5 dias (CBO<sub>5</sub>). É um dos parâmetros utilizados na análise de águas tanto residuais como superficiais (Wetzel, 1993; Uded, 2004).

A sua determinação, de acordo com o Decreto-Lei n° 236/98, deve ser efetuada com base no método de Winkler ou o método electroquímico. São métodos muito dispendiosos, requerem grandes quantidades de reagentes, de material laboratorial e de pessoal especializado. A pesquisa em CBO<sub>5</sub>, envolve parâmetros como oxigênio dissolvido usados pelos microrganismos na oxidação bioquímica da matéria orgânica. Assim sendo, os testes utilizados para determinar a carência bioquímica de oxigênio baseiam-se na quantidade de oxigênio necessária para estabilizar a matéria orgânica presente, bem como para medir a eficiência de alguns tratamentos (Calisto, 2004).

De acordo com Penn *et al.*, (2004), as fontes naturais de CBO<sub>5</sub> em águas superficiais incluem material orgânico da decomposição de plantas e de resíduos de animais, já as

fontes humanas envolvem fezes, urina, detergentes, gorduras e óleos. O  $\text{CBO}_5$  é bom indicador de poluição das águas superficiais.

### **Cloretos**

O cloro é utilizado na desinfecção das águas desde a antiguidade. É um dos principais aniões inorgânicos presentes em águas naturais e residuais. São compostos derivados do cloro que permanecem solúveis na água, intimamente ligados aos catiões de sódio, cálcio, magnésio e potássio. De acordo com a OMS (2009), a sua presença em meios aquáticos deve-se principalmente à percolação da água em terrenos salinos ou em infiltração de águas marinhas nas toalhas freáticas. Aparecem ainda devido à ação do homem pelas descargas de dejetos de esgotos domésticos e excrementos de animais. É também utilizado como indicador de eutrofização do lençol freático quando estes se situam em níveis muito elevados e, em muitos funcionam como índice de poluição urbana ou industrial.

O cloreto, exerce uma influência nas características dos ecossistemas aquáticos naturais, devido a alterações na pressão osmótica em células dos microrganismos aquáticos, além disso, a presença sucessiva de compostos azotados e cloro, pode dar origem a cloroaminas e outros compostos organofosforados com efeito cancerígenos.

De acordo com trabalhos realizados por Mendes & Oliveira, (2004), alguns cloretos alcalinos-terrosos, exercem um efeito laxativo, (mesmo sem atingir níveis tóxicos), para concentrações muito elevadas de cloretos na água de consumo. Vale realçar que tal afirmação não é extensiva para todos os consumidores do precioso líquido, visto que teores elevados de cloretos, principalmente de sódio, podem ser prejudiciais a doentes renais ou que esteja sofrendo de problemas cardiovasculares.

De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, o valor máximo admissível (VMA) para o teor de cloretos na água para o consumo humano é de 250 mg/L Cl, contudo concentrações de cloretos acima de 250mg/L Cl tem efeitos nocivos.

### **Dureza Total**

Um dos fatores que determina a qualidade da água é o seu grau de dureza.

A dureza total de uma água, também designada por grau hidrotimétrico, está relacionada com a concentração de iões bivalentes presentes na água. Isto porque a maior parte destes iões está associado aos iões de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e magnésio ( $\text{Mg}^{+}$ ), os quais podem ser determinados por titulação de complexação (Mendes & Oliveira, 2004).

De acordo com Mendes & Oliveira, (2004), definimos água dura como aquela que o seu uso obriga ao consumo de mais sabão no decurso das lavagens, devido à formação de sais solúveis dos metais como ácidos gordo dos sabões. Quando a quantidade dos sais referidos anteriormente é baixa a água denomina-se doce ou macia.

De acordo com Gray (2008), a dureza da água varia significativamente, com a natureza geológica dos terrenos atravessados ou com a rocha que lhe deu origem. Normalmente as águas superficiais são mais macias que as águas subterrâneas. Justifica-se pelo facto das águas subterrâneas apresentarem teores elevados de oxigénio dissolvido (OD) e de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), os quais vão aumentando o poder solubilizante das rochas com quem contactam. Convém salientar que resíduos provenientes das atividades indústrias e da extração mineira, estão implicados no aumento da dureza das águas.

De acordo com o Decreto-Lei nº 306/ 2007 de 27 de Agosto, é desejável que a dureza total em carbonato de cálcio para água destinada ao consumo humano, esteja compreendida entre 150 mg e 500 mg /L  $\text{CaCO}_3$  (VMA).

## **Magnésio**

Reconhecido como o elemento mais abundante da crosta terrestre, o magnésio é um dos fatores determinante da dureza da água e elemento essencial á vida.

De acordo com Symons (2010), os minerais ferreomagnesianos (são minerais ricos em Ferro (Fe) e /ou Magnésio (Mg), presentes em rochas magmáticas ou rochas originadas a partir destas).

No que diz respeito às águas naturais, a quantidade de magnésio é inferior à do cálcio. No entanto, em alguns casos excepcionais pode dar-se o caso de haver mais Mg do que Ca, como por exemplo em águas marinhas e em algumas águas minerais (Mendes & Oliveira, 2004).

De acordo com Symons (2010), concentrações elevadas de magnésio são prejudiciais no abastecimento de água potável. Quando presente sob a forma de sulfatos, pode causar irritações gastrointestinais, efeitos purgantes e diuréticos e, aumentar o consumo de detergente ou sabão na água usada para atividades domésticas, manipulação dos alimentos entre outras funções. Está presente no osso e é ativador de numerosos sistemas enzimáticos (metabolismo energético, proteico e lipídico) e hormonais.

### **Oxigénio dissolvido**

Os sistemas aquosos tanto produzem como consomem oxigénio.

O oxigénio encontra-se na maior parte das rochas, quer na forma de óxidos, quer de hidróxidos ou óxidos complexos. Na água, o oxigénio está presente sob a forma de gás dissolvido no meio hídrico e na matéria presente em solução em suspensão (orgânica ou inorgânica).

Segundo Udeh (2004), concentrações ótimas deste gás na água, são necessárias para a vida dos peixes e outros organismos aquáticos e para prevenção de maus odores. Estas concentrações variam principalmente com a temperatura e com a altitude, as quais estão diretamente relacionadas com os processos de fotossíntese e a respiração.

O oxigénio dissolvido não é um elemento característico da água, mas conserva as suas propriedades oxidantes, intervindo em reações de oxidação (com o ferro), e em fenómenos químicos e electroquímicos. Pode também intervir em processos de corrosão das matérias com quem contacta, ou ainda por meio de processos biológicos em larga escala (Mendes & Oliveira, 2004).

As águas superficiais apresentam valores relativamente elevados de oxigénio dissolvido comparativamente com as águas subterrâneas. No entanto, em águas mais ou menos paradas como é o caso dos lagos, albufeiras, barragens e reservatórios verificam-se valores superiores (sobressaturação)

Segundo dados da OMS (2008), o esgotamento do oxigénio na água pode estimular a redução microbiana do nitrato a nitrito e sulfato a sulfito; pode ainda causar o aumento da concentração de ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) em solução.

## **Sulfatos**

O sulfato é um ião  $\text{SO}_4^{2-}$ , ocorre naturalmente em águas como resultado da dissolução do gesso. O teor de sulfatos em águas naturais é muito variável, tal facto deve-se ao material que lhe deu origem, observando-se normalmente concentrações elevadas em águas profundas. Também, a poluição atmosférica, associada às chuvas ácidas, pode estar na origem de depósitos significativos de sulfatos, tanto na forma de partículas como em solução nas águas da chuva (Mendes & Oliveira, 2004).

Os iões de sulfato são caracterizados como elementos químicos de reduzida toxicidade. No entanto, em crianças e bebés, mesmo em teores baixos podem exercer efeitos negativos induzindo diarreias e complicações gastrointestinais. Estes efeitos acentuam-se quando os catiões associados são alcalinos e/ou alcalinoterrosos. Doses de 1-2ml/L, tem efeitos purgativos ligeiros em adultos.

De acordo com a nova legislação comunitária e com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, o teor em sulfatos representa um valor indicativo (250 mg/L de  $\text{SO}_4^{2-}$ ) da qualidade da água para o consumo humano.

## **Fósforo (Fosfato)**

De acordo com Massoud (1992); Wetzel (1993); Mendes & Oliveira (2004), o fósforo pode ser encontrado na natureza sob a forma mineral e orgânica. É caracterizado como elemento essencial à vida e não tóxico aos seres vivos. No entanto, o excesso deste nutriente na água aumenta a proliferação das bactérias contribuindo para o efeito no processo de eutrofização.

O fósforo na forma de ortofosfato, normalmente encontra-se dissolvido nas águas superficiais, resultado da biodegradação de substâncias orgânicas ou do processo de lixiviação dos solos. Resulta de resíduos de afluentes indústrias, domésticos e agrícolas, os quais são incorporados em solos aráveis ou em hortas como fertilizantes e da biodegradação da matéria orgânica (Mendes & Oliveira, 2004).

Tal como foi referenciado, os resíduos e afluentes indústrias representam um dos principais fornecedores de fósforo, onde se encontram sob a forma de fosfatos, provenientes de detergentes ou como resultado da biodegradação da matéria orgânica ai

presente. Atua como agentes redutores da dureza da água e, o seu uso deve ser restrito, podendo vir a poluir as águas dos rios, lagoas (Lévêque, 2002; Mendes & Oliveira, 2004).

A eutrofização resulta da proliferação das plantas aquáticas que modificam a massa de água, comprometendo o seu uso para recreação e consumo. O aumento populacional também exerce um efeito semelhante na medida que os esgotos domésticos geralmente apresentam teores elevados de fósforo (Wetzel, 1993; Mendes & Oliveira, 2004).

### **Nitratos**

Dentre os vários compostos azotados destaca-se o nitrato como sendo um produto final da oxidação da matéria orgânica azotada (mineralização) e constituinte essencial da biomassa das plantas e dos animais. Este composto pode ser um agente poluidor quer das águas superficiais quer das águas subterrâneas (Mendes & Oliveira, 2004).

Níveis significativos de nitratos resultam de fertilizantes químicos provenientes da agricultura devido ao processo de lixiviação dos solos, da drenagem de explorações de gado, dos esgotos domésticos e das águas residuais e industriais (Gray, 2008).

O nitrato é a forma mais oxidada de azoto, encontrada nas águas superficiais e subterrâneas. Os nitratos, em teores elevados na água destinada ao consumo humano podem causar problemas de saúde pública graves, principalmente em crianças com menos de seis meses por apresentarem o sistema enzimático não desenvolvidos.

A ingestão de alimentos ricos em nitrato ou preparados com águas onde os teores destes são elevados provocam a "Metahemoglobinemia infantil". Isto ocorre por um processo de redução do nitrato a nitrito e este associa-se a hemoglobina. O bloqueio acontece a nível da reoxidação da carboxihemoglobina, resultando assim na morte do bebe por asfixia, seguida de uma coloração azul característico (cianose).

De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, o valor máximo admissível de nitratos em águas para o consumo humano é de 0,5 mg/L de NO<sub>3</sub>.

## **Nitritos**

De acordo com Udeh (2004), os nitritos resultam da oxidação do amónio ou seja da redução do nitrato. São iões na forma de nitrogénio encontrados nas águas superficiais em pequena quantidade, pois são rapidamente oxidados a nitratos por ação das nitrobactérias.

Segundo Mendes & Oliveira (2004), a formação dos nitritos na água pode ser potenciada por dois mecanismos: biológicos resultantes da redução microbiana dos nitratos e químicos (oxidação do amoníaco proveniente da esterilização/desinfecção das águas a temperaturas elevadas).

Se consumido em excesso pelos seres vivos pode causar problemas sérios, em alguns casos a morte, com maior incidência em crianças com idade inferior a 6 meses. Os nitritos, no organismo convertem-se em nitratos, ligam-se às moléculas de hemoglobina, impedindo a conversão da carboxihemoglobina em oxihemoblobina. A sua fixação causa danos neurológicos permanentes, dificultando a respiração e em casos mais sérios a morte por asfixia. Este quadro é designado por metehemoglobinemia ou “doença do bebe azul ” (Gaur, 2008).

## **Oxidabilidade**

A oxidabilidade é um dos parâmetros de avaliação da qualidade química da água. Consiste na quantidade de matéria orgânica quimicamente oxidável nomeadamente proteínas, gorduras, açúcares, bem como outros compostos de interesse biológico pouco difundidos sob o ponto de vista quantitativo, como é o caso das vitaminas.

Segundo Mendes & Oliveira (2004), a presença de matéria oxidável na água destinada ao consumo humano, não tem efeito direto para a saúde.

Santos (2011) refere que a matéria orgânica presente na água pode estar relacionada com o metabolismo dos organismos vivos incluindo plantas, animais e microrganismos bem como da lixiviação resultante da acumulação de substâncias originadas por ações antropogénicas.

A oxidabilidade pelo permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ), precursor da oxidação do oxigénio, permite avaliar a presença de matéria orgânica na água. De acordo com a

Directiva 98/83/CE e o Decreto-Lei nº 306/2007, o valor paramétrico máximo para a oxidabilidade da água para o consumo humano é 5mg/L.



## **3. Material e Métodos**

### **3.1. Parte experimental**

O presente estudo teve como objetivo, avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da água para o consumo humano da cidade do Huambo-- Angola. Para o efeito colheram-se amostras provenientes do sistema de abastecimento público (água da torneira) e águas subterrâneas (poços profundos).

#### **3.1.1. Amostragem**

Foram colhidas amostras em 2 pontos da cidade em estudo, onde duas foram acondicionadas a temperatura ambiente e outra em condições de refrigeração. As amostras foram colhidas da rede de sistema de abastecimento público (torneiras) e outra em poços profundos. A colheita ocorreu entre os meses de Setembro de 2013 a Janeiro de 2014, de acordo com o Decreto-Lei 236/98.

As amostras de água foram colhidas em frascos de vidro de 500 mL estéreis (amostras para análise microbiológica) e frascos plásticos de 1500 mL para análise dos parâmetros físico-químicos. As análises iniciaram após a chegada das amostras ao laboratório. Na colheita das amostras teve-se a precaução que estas fossem homogêneas, ou seja representativas do local amostrado. Foram determinados parâmetros físico-químicos como: alcalinidade, acidez, pH, dureza, oxigénio dissolvido, fosfatos, sulfatos, condutividade, cloretos, CBO<sub>5</sub>, nitratos, nitritos, cálcio, magnésio, oxidabilidade e parâmetros microbiológicos (número de colónias a 22° e 37°C, coliformes totais e *E. coli*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacteriaceae*.).

### **3.2. Análises microbiológicas**

Foi efetuada a análise microbiológica a todas as amostras de água (torneira e poço).

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as Normas internacionais e Portuguesas e por Kits (Métodos Oficiais da AOAC).

O material usado foi o comum no laboratório de microbiologia e todo ele foi lavado, passado por água destilada 20 minutos, seco em estufa e esterilizado pelo calor seco/estufa a 180° C durante 3 horas.

### **3.2.1. Colheita, acondicionamento e transporte das amostras**

Para o procedimento das análises microbiológicas foram recolhidas amostras de água provenientes de diversas origens. A colheita foi efetuada de acordo com a NP – 1828 (1982), em condições de assepsia. Para a colheita das águas do poço usou-se frascos de mergulho devidamente esterilizados com a capacidade de 500 mL. A recolha foi feita com a máxima precaução evitando que os mesmos roçassem nas paredes e arrastassem alguns resíduos. De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, para a colheita de águas da torneira devem-se ter em conta o seguinte:

1. Flamejar o algodão em álcool e desinfetar a torneira;
2. Deixar correr água durante 5 minutos para eliminar qualquer vestígio de matéria orgânica existentes na tubagem;
3. Recolher para um tubo estéril em condições de assepsia e identificar a amostra.

Após a colheita as amostras de água foram transportadas para o laboratório de microbiologia onde permaneceram no frigorífico a temperatura controlada até ao momento da análise.

A preparação das amostras foi efetuada de acordo com a NP – 1829 (1982), os frascos foram identificados durante todas as fases da análise, a fim de se evitar qualquer hipótese de confusão. A manipulação das amostras foi feita em condições de assepsia.

### **3.2.2. Meios de cultura**

Os meios de cultura fornecem aos microrganismos os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento e multiplicação. Cada grupo de microrganismos tem necessidades nutricionais específicas, como tal, os meios são escolhidos de modo a satisfazer essas necessidades. A incubação dos meios de cultura, após a inoculação da amostra de água,

permite o desenvolvimento dos microrganismos resultando na formação de colónias típicas (no caso de meios sólidos) o que facilita a sua identificação.

Neste trabalho os meios de cultura utilizados para a pesquisa e quantificação dos microrganismos pesquisados, foram escolhidos de acordo com as normas em vigor e estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1. Meios de cultura usados na pesquisa e enumeração dos microrganismos estudados**

Coliformes Totais e <i>E.coli</i>	Kit SimPlate
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar Cetrimide
Esporos de <i>Clostridium</i> sulfito - redutores	Reinforced Clostridial Agar (RCA)
<i>Enterobacteriaceae</i>	Kit SimPlate
Número de colónias a 22 e 37°C	<i>Plate Count Agar</i> (PCA)

### 3.2.1.1. Contagem de microrganismos total a 22 e 37°C

A contagem de microrganismos aeróbios foi realizada de acordo com a ISO 6222 (1999). Semeou-se por incorporação 1mL (para os mesófilos a 37°C), de cada uma das diluições decimais seriadas  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em placas de Petri contendo meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) e por espalhamento para os mesófilos a 22°C adaptados ao frio (0,1 mL), as quais foram incubadas a temperaturas diferentes, 22 e 37°C durante 48 horas. Após o período de incubação procedeu-se a contagem das colónias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colónias por mL de água analisada (UFC/mL). Para realização dos cálculos utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\sum c}{[V \times (n1 + 0,1n2) \times d]}$$

Onde:

$\sum c$  - somatório das colónias em todas as placas contadas;

V - volume de inóculo semeada em cada placa;

n1 - número de placas da primeira diluição;

n2 - número de placas da segunda diluição;

d - diluição a partir da qual se obtiveram as primeiras contagens.

### **3.2.1.3. Contagem de bactérias coliformes totais e *Escherichia coli***

A contagem de coliformes totais e *E. coli* foi realizado utilizando o SimPlate® da Bio Control (método oficial AOAC 2005.03) e procedeu-se de acordo com as recomendações do fabricante. O meio de cultura fornecido foi hidratado em 100mL de água estéril. Em todos os tubos de ensaio foram colocados 9 mL de meio de cultura previamente hidratado e 1mL da amostra, homogeneizou-se com auxílio do vortex. Seguidamente, verteu-se o conteúdo dos tubos para uma placa contendo 84 poços e espalhou-se uniforme e cuidadosamente o líquido com movimentos circulares para que os poços ficassem totalmente cobertos e sem bolhas de ar. Por último, o excesso foi removido. As placas foram incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas. Após o período de incubação, procedeu-se a enumeração dos coliformes totais através da contagem do número de poços em que ocorreu a mudança de cor do meio de cultura. Enquanto, para a identificação e enumeração da *E.coli*, procedeu-se à contagem do número de poços em que se observou a fluorescência após exposição da placa a uma lâmpada de UV a 365nm.

Com base numa tabela fornecida pelo fabricante, calculou-se o número de coliformes e *Escherichia coli* presentes na amostra e os resultados foram expressos em UFC/mL.

### **3.2.1.4. *Enterobacteriaceae***

A contagem de *Enterobacteriaceae* foi realizada utilizando o Kit SimPlate® da Bio Control (método oficial AOAC 2005.03). O procedimento analítico foi idêntico ao referido anteriormente.

### **3.2.1.5. Contagem de esporos de *Clostridium* sulfito-redutores**

A quantificação de esporos de *Clostridium* sulfito-redutores foi realizada aquecendo-se previamente a amostra a uma temperatura de 80°C para inactivar as formas vegetativas das bactérias. Após esse processo a amostra foi incubada em meio de cultura seletivo e diferencial *Reinforced Clostridial Agar* (RCA) (em condições de anaerobiose), seguida

de sementeira direta ou filtração por membrana. Assim em tubos de ensaio esterilizados e com a máxima assepsia, colocaram-se 1ml e 5ml da amostra e foi aquecida em banho-maria a 80°C durante 10 minutos. Após este período, as amostras foram retiradas do banho, e arrefecidas rapidamente em água fria. Seguidamente as amostras foram transferidas para placas de Petri contendo o meio RCA, as quais foram envolvidas em parafilme. Incubou-se a 37 °C durante 48 horas. Após incubação, contaram-se as colónias negras.

#### **3.2.1.6. Contagem de *Pseudomonas aeruginosa***

A quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* foi feita de acordo com o referencial ISO 16266 (2008). Num frasco de poliestireno estéril de capacidade de 200 mL, hidratou-se o meio de cultura Agar Cetrimida como recomendado pelo fabricante. O método utilizado baseou-se na sementeira por incorporação das diluições de  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  das amostras. As placas foram incubadas a 37°C durante 48 horas.

### **3.3. Análise físico-química**

#### **3.3.1. Procedimento técnico**

A amostragem de água para análise físico-química foi realizada tal como nas análises microbiológicas.

##### **3.3.1.1. Material**

Neste tipo de análises foi usado material comum de um laboratório de química. Todo o material foi lavado, passado por água destilado e seco em estufa.

##### **3.3.1.2. Determinação da acidez**

A acidez das águas pode ser causada pela presença de CO<sub>2</sub>, ácidos minerais e sais de ácidos fortes e bases fracas. A determinação da acidez baseou-se na titulação da amostra de água com uma solução padronizada de uma base na presença de um indicador.

Procedimento:

1. Medir 100 mL da amostra a analisar;
2. Adicionar 10 gotas do indicador alcoólico de fenolftaleína;
3. Efetuar a titulação com o NaOH 0,02N até à coloração rósea.

### **3.3.1.3. Determinação da alcalinidade**

Este procedimento destina-se à determinação da alcalinidade das águas para o consumo. A alcalinidade de uma água mede a sua capacidade quantitativa para neutralizar um ácido forte. Resulta da presença de bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos em água.

Procedimento

1. Colocar 100 mL da amostra a analisar em um Erlenmeyer;
2. Adicionar 4 gotas do indicador de alaranjado de metilo - 0,05% e titular com o ácido sulfúrico 0,1N, até se observar a viragem de cor de amarelo para laranja;
3. Anotar o volume gasto.

As normas em vigor não delimitam o valor máximo para este parâmetro, apenas fazem referência ao valor mínimo exigido no caso de águas em processo de eliminação de dureza ou desmineralização (25 mg/L CaCO<sub>3</sub>).

### **3.3.1.4. Determinação do valor do pH**

De acordo com Mendes & Oliveira (2004), o pH da água representa uma medida de acidez, ou alcalinidade e constitui a forma de expressar a atividade do ião hidrogénio. O pH em água normalmente é influenciado pela sua proveniência e pela natureza das rochas que lhe deram origem.

Para a quantificação do pH deve-se proceder da seguinte forma:

1. Proceder à calibração do aparelho segundo as instruções do fabricante;
2. Colocar a solução padrão num goblé e proceder à leitura (este funcionará como branco);
3. Mergulhar o eletrodo na amostra de água a analisar e registar o valor.

O princípio baseia-se na determinação da atividade dos iões de hidrogénio por medição potenciométrica usando um eletrodo padrão de hidrogénio e um eletrodo de referência.

Em termos legais, de acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, a água para consumo humano deve apresentar um pH entre 6,5 e 9,0. Os valores do pH são afetados pela temperatura e pela salinidade.

### **3.3.1.5. Determinação do valor da Condutividade**

É a capacidade que a água possui de conduzir a corrente elétrica. Pode ser medida diretamente através da inserção de uma sonda, para tal deve-se ter em conta o seguinte:

1. Calibrar o aparelho com base nas instruções do fabricante;
2. Ler o branco;
3. Proceder á leitura da amostra e ao registo.

O Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, fixa valores paramétricos em  $2500 \mu\text{S cm}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ , com a recomendação de que a água não deve ser agressiva.

### **3.3.1.6. Determinação da concentração de Nitratos**

Este procedimento tem como objetivo a determinação de nitratos em amostras de água de acordo com a ISO 7890 (1986).

Procedimentos:

1. Medir 10ml de amostra para a cápsula, adicionar NaOH 0,1N e evaporar em banho-maria;
2. Tomar o resíduo e misturar com 2ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  puro;
3. Adicionar 15ml de  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada, mais 15ml da solução de hidróxido de sódio e potássio e deixar arrefecer.

Efetuar a leitura no espectrofotómetro a 435 nm.

Segundo Mendes & Oliveira (2004), os nitratos em solução sulfúrica e fosfórica, formam com o 2,6-dimetifenol um composto rosa-alaranjado, 4-nitro-2,6-dimetifenol, o qual é determinado por espectrofotometria.

### **3.3.1.7. Determinação da concentração de nitritos**

Este procedimento tem como objetivo a determinação do teor de nitritos em águas destinada ao consumo humano. São produtos resultantes da oxidação a amónia ou da redução dos nitratos.

Os nitratos presentes nas amostras reagem com ácidos originando ácido 4-diazobenzenosulfónico. Este condensa-se e em seguida adiciona-se 1-naftilamina, originando uma cor amarelada.

1. Medir 50 mL da amostra para uma cápsula;
2. Adicionar 2 mL do reagente Zambelli e agitar para homogeneizar a mistura;
3. Deixar repousar a solução durante 10 minutos;
4. Medir a concentração no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 525 nm.

A legislação vigente fixa o valor paramétrico em 0,5 mg/L (Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto).

### **3.3.1.8. Determinação dos Cloretos**

Este procedimento tem como objetivo a determinação do teor total em cloretos em águas de consumo.

De acordo com Ohlweiler (1968) citado por Jeffery *et al* (1992), o anião cloreto pode ser determinado por vários métodos:

- Gravimétrico;
- Colorimetria;
- Potenciometria e volumetria.

Os métodos volumétricos, especificamente o método de Mohr (determinação directa) e Volhar (determinação indirecta) são os mais indicados na análise de cloretos.

O procedimento consiste em titular o nitrato de prata (argentometria), usando uma solução de cromato de potássio como indicador. A passagem da coloração amarela para

vermelha indica o fim da reação, visto que todo ião cloreto já foi precipitado e o ião prata começa a precipitar com o cromato (método Mohr).

A Directiva nº 98/83/CE e o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, apresentam para este parâmetro o Valor Máximo Admissível de 250mg/L. O Decreto-Lei nº 236/98 fixa valores de 25mg/L como limite a partir do qual podem ocorrer efeitos prejudiciais.

### **3.3.1.9. Determinação da Dureza**

A dureza das águas deve-se principalmente aos iões de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  presentes na amostra.

Este procedimento tem como objetivo a determinação da dureza total em água para o consumo humano. A determinação é feita por volumetria de complexação com EDTA.

Deve proceder-se do seguinte modo:

1. Medir 50 mL da água a analisar;
2. Adicionar 3 mL de NaOH normal;
3. Adicionar 1mL da solução tampão de etano lamina (Mg e EDTA) e 6 gotas do indicador negro de eriocromo -T;
4. Titular com a solução padrão de EDTA 0,01M até mudança de cor de vermelho para azul.

O Decreto-lei nº 236/98 fixou Valores Máximos Admissíveis (VMA) de 500mg/L de  $\text{CaCO}_3$  para dureza da água, enquanto o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, que diz respeito à qualidade da água para consumo humano, não define valores para este parâmetro.

### **3.3.1.10. Determinação da oxidabilidade**

Este parâmetro dá-nos a indicação de presença de matérias orgânica na água analisada (Mendes & Oliveira, 2004).

O procedimento consiste em:

1. Num Erlenmeyer, colocar 100 mL de água e levar à ebulição;

2. Adicionar 10mL de ácido sulfúrico, 50mL de permanganato de potássio e introduzir esferas de vidro;
3. Ferver durante 10 minutos;
4. Arrefecer rapidamente e descorar fracamente com a solução de sulfato de ferro e amónio;
5. Titular em seguida com o permanganato de potássio.

O princípio básico deste método consiste na oxidação de compostos orgânicos presentes na água pelo permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) em meio controlado (meio ácido 10 minutos em ebulição).

O valor da oxidabilidade é determinado pelo método volumétrico, onde o valor paramétrico indicado pela Directiva 98/83 e Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, é de 5mg/L.

#### **3.3.1.11. Determinação do Oxigénio Dissolvido**

O oxigénio dissolvido é um parâmetro importante que indica a qualidade da água. Segundo Mendes & Oliveira (2004), a concentração do oxigénio dissolvido está diretamente ligada a temperatura e à pressão atmosférica.

O procedimento adotado foi:

1. Medir 250 mL da amostra de água analisar e colocar num frascos de incubação (frascos de vidro de incubação, para impedimento da penetração da luz),
2. Adicionar 2 mL da solução de sulfato manganoso e 2 mL de solução de iodeto alcalina com azida de sódio;
3. Rolhar cuidadosamente o frasco e agitar por inversão deixando o sobrenadante límpido de flocos de hidróxido de manganoso;
4. Adicionar 2 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, agitar até a dissolução total do precipitado;
5. Retirar 203 mL da amostra original para uma proveta graduada;
6. Titular com a solução de tiosulfato de sódio 0,025N até obter uma coloração amarelo palha;

7. Juntar 2 mL de solução de amido e prosseguir com a titulação até o desaparecimento da cor azul.

O oxigénio dissolvido pode ser determinado por utilização de sonda (eléctrodo) ou por titulação (método volumétrico Winkler). O método utilizado neste estudo foi o método de Winkler, que consiste na fixação do oxigénio por meio de vários reagentes que ao formar um composto ácido, causa alteração de cor da solução. A reação termina com a mudança de cor que é equivalente ao teor de oxigénio dissolvido na amostra.

### **3.3.1.12. Determinação da concentração de Sulfatos**

O sulfato representa um constituinte fundamental das águas naturais sendo essencial à vida.

De acordo com Mendes & Oliveira (2004), a concentração de sulfatos em águas naturais é muito variável, por razões geológicas e outras. Contudo, como já foi referido, teores elevados de sulfatos (superiores a 1000mg/L) em águas potáveis podem provocar complicações como diarreias em crianças e feixes laxativos em adultos.

O teor de sulfatos está limitado a 250 mgSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L (VMA) segundo o Decreto-Lei nº 243/2001 de 5 de Setembro para água destinada ao consumo humano (Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de Agosto).

Adotou-se o seguinte procedimento:

1. Medir com uma pipeta volumétrica 50 mL de branco (amostra sem adição de reagentes), padrões de controlo (25 mgSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L) e amostras para balões redondos de fundo plano;
2. Adicionar 10 mL da solução condicionante (Sulfatos);
3. Colocar um agitador magnético em cada balão;
4. Colocar todos os balões na placa de agitação durante 1 min;
5. Aguardar 5 min (tempo da reação);
6. Após o tempo de reação, proceder à leitura do branco, padrões e amostras.

### **3.3.1.13. Determinação do Magnésio**

O magnésio é um constituinte mais abundante da crosta terrestre e comum nas águas naturais. O magnésio, pode ser determinado via complexometria, com EDTA ou por espectrofotometria de absorção atômica.

O procedimento consistiu em:

1. Pipetar 50 mL da amostra a analisar para um Erlenmeyer de 125 mL, adicionar 3mL de hidróxido de sódio (NaOH - 1N) e o indicador de negro de eriocromo (4 gotas), homogeneizar;
2. Titular com solução EDTA até mudança de cor de vermelho para azul;
3. Ajustar a reação com solução tampão de HCL (etanolamina) + 1 gota de magno de eriocromo (Ca+Mg) e continuar a titular até ao ponto de viragem.

Do ponto de vista sanitário, a presença de magnésio nas águas não representa perigo para saúde humana. No entanto, águas que contenham concentrações de Mg acima de 250 mg/L têm sabor amargo (Tolgyessy, 1993).

O Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto não apresenta um valor definido para o magnésio.

### **3.3.1.14. Determinação do Cálcio**

O cálcio é o catião predominante nas águas de consumo, fundamentalmente (no solo) sob a forma de bicarbonatos, mas também como sulfatos, cloretos e outros sais.

O cálcio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica e a titulação foi efetuada com o etileno di-amino tetra-acético (EDTA).

Procedimentos:

1. Num Erlenmeyer de 125 mL colocar 50 mL da amostra a analisar, 3 mL de hidróxido de sódio (NaOH - 1N) e 4 gotas do indicador de azul de eriocromo;
2. Titular com EDTA até a mudança de cor para azul.

A legislação em vigor não apresenta um VMA definido para o cálcio, no entanto é recomendado que não exceda 100 mg/L, isto por razões ligadas à saúde pública (Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto).

### **3.3.1.15. CBO<sub>5</sub>**

A Carência Bioquímica de Oxigénio corresponde á quantidade de oxigénio dissolvido, consumido na degradação da matéria orgânica contida na amostra, após incubação a 20°C em ambiente escuro durante 5 dias (CBO<sub>5</sub>).

#### Procedimentos

1. Medir 250 mL da amostra de água analisar e colocar em frascos de incubação (frascos de vidro de incubação, para impedimento da penetração da luz);
2. Adicionar 2 mL da solução de sulfato manganoso e 2 mL de solução de iodeto alcalina com azida de sódio;
3. Rolhar cuidadosamente o frasco e agitar por inversão deixando o sobrenadante límpido de flocos de hidróxido de manganoso;
4. Adicionar 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, agitar até a dissolução total do precipitado;
5. Retirar 203 mL da amostra original para uma proveta graduada;
6. Titular com a solução de tiosulfato de sódio 0,025N até obter uma coloração amarelo palha;
7. Juntar 2 mL de solução de amido e prosseguir com a titulação até o desaparecimento da cor azul.

### **3.3.1.16. Determinação da concentração dos fosfatos**

Os fosfatos estão presentes em fertilizantes e em muitos detergentes. Estes podem ser arrastados tanto para águas subterrâneas como para superficiais como consequência dos sistemas de saneamento básico, resíduos indústrias ou escoamento superficial aquando das tempestades (Bartram & Ballance, 1996).

O procedimento adotado consistiu em:

1. Em balões de 25 mL, colocar 20 mL da amostra de água a analisar (incluindo a testemunha);
2. Adicionar 1mL de ácido ascórbico e 4 mL da solução de desenvolvimento de cor;
3. Em seguida guardar no escuro durante 30 minutos;
4. Proceder à leitura no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 800 nm.

De acordo com a legislação portuguesa, o valor paramétrico para o teor de fosfatos em água para o consumo humano é de 250 mg/L.



## 4. Resultados e Discussão

O controlo dos vários parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água destinada ao consumo humano, representa um dos fatores determinantes nas normas de qualidade, de forma a controlar a qualidade dos vários sistemas de abastecimento de água à população em geral.

### 4.1. Análises Microbiológicas

Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica de águas provenientes de poço e torneira da cidade do Huambo, sediada no centro sul de Angola, fomos quantificar microrganismos totais (UFC/mL) a 22<sup>o</sup>C e a 37<sup>o</sup>C, Coliformes totais e *E.coli*, *Enterobacteriaceae*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores, *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de águas recolhidas de Setembro de 2013 a Janeiro de 2014. Na tabela 2 e 3 apresentam-se os resultados obtidos.

No que diz respeito as amostras de águas da torneira podemos verificar que quer os microrganismos crescidos a 22°C como a 37°C apresentaram valores superiores ao legislado (Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto) , o qual recomenda que o número de colónias a 22°C e a 37°C da água destinada ao consumo humano não ultrapasse o valor de 100 UFC/mL e 20 UFC/mL respectivamente. Isto significa que as águas do presente trabalho são impróprias para o consumo humano.

No que diz respeito aos coliformes totais, verificaram-se valores superiores ao legislado em todas amostras analisadas. De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de Agosto, os valores paramétricos para água destinada ao consumo humano são <10 UFC/mL. Convém salientar que a contaminação das águas por coliformes totais pode ter outra origem (contaminação ambiental, manipuladores, transporte) que não apenas por fezes.

O facto de não se encontrar *E. coli* (indicador de contaminação fecal), em nenhuma das amostras analisadas pode estar relacionado com as condições de transporte e manuseamento da água. De facto, trata-se de microrganismos muito sensíveis as condições de stress (WHO, 2002).

Em relação aos esporos de *Clostridium* sulfito-redutores, verificou-se ausência de esporos em todas as amostras, sugerindo que não houve contaminação fecal remota. Também se observou que *Pseudomonas aeruginosa* estava ausente em todas as amostras estudadas.

Os valores obtidos para todos os parâmetros analisados, que apresentaram resultados positivos, foram superiores nas águas transportadas à temperatura ambiente, sugerindo a necessidade do transporte ser feito de forma adequada.

**Tabela 2. Média e desvio padrão dos resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos nas amostras de água provenientes do poço e torneira, transportadas à temperatura ambiente.**

		Poço	Torneira	Valor paramétrico
Número de colónias a 37°C (UFC)/mL (48h)	Média	8,273*10 <sup>3</sup>	4,405*10 <sup>3</sup>	20/mL
	S*	± 2,186*10 <sup>3</sup>	± 1,91*10 <sup>3</sup>	
Número de colónias a 22°C (UFC)/mL (48h)	Média	5,73*10 <sup>5</sup>	3,95*10 <sup>5</sup>	100/mL
	S*	± 4,00*10 <sup>5</sup>	± 2,57*10 <sup>5</sup>	
<i>Coliformes totais</i> (UFC)/100mL	Média	4,00*10 <sup>1</sup>	2,67*10 <sup>3</sup>	0/100mL
	S*	± 3,46*10 <sup>1</sup>	± 1,15*10 <sup>3</sup>	
<i>Escherichia coli</i> (UFC)/100mL	Média	<10	<10	0/100mL
<i>Enterobacteriaceae</i>	Média	2,67*10 <sup>1</sup>	2,00*10 <sup>1</sup>	—
	S*	± 1,15*10 <sup>1</sup>	± 0,00	
Esporos de <i>Clostridium</i> sulfito-redutores (UFC)/100mL	Média	<10	<10	0/100mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC)/mL	Média	<10	<10	0/250mL

**Tabela 3. Média, desvio padrão dos resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos nas amostras de água provenientes do poço e torneira, transportadas em condições de refrigeração.**

		Poço	Torneira	Valor Paramétrico
Número de colónias a 37°C (UFC)/mL (48h)	Média	$6,591 \cdot 10^4$	$2,495 \cdot 10^3$	20/mL
	S*	$\pm 1,221 \cdot 10^4$	$\pm 1,600 \cdot 10^3$	
Número de colónias a 22°C (UFC)/mL (48h)	Média	$5,85 \cdot 10^3$	$3,845 \cdot 10^3$	100/mL
	S*	$\pm 4,17 \cdot 10^2$	$\pm 1,582 \cdot 10^3$	
<i>Coliformes totais</i> (UFC)/100mL	Média	$6,6 \cdot 10^1$	$3,3 \cdot 10^1$	0/100mL
	S*	$\pm 2,3 \cdot 10^1$	$\pm 2,3 \cdot 10^1$	
<i>Escherichia coli</i> (UFC)/100mL	Média	<10	<10	0/100mL
<i>Enterobacteriaceae</i> (UFC)/100mL	Média	$4 \cdot 10^1$	$2,00 \cdot 10^1$	—
	S*	$\pm 2,0 \cdot 10^1$	$\pm 0,00$	
Esporos de <i>Clostridium</i> sulfito-redutores (UFC)/100mL	Média	<10	<10	0/100mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC)/mL	Média	<10	<10	0/250mL

## 4.2. Análises físico-químicas

De acordo com a origem da amostragem da água (poço e torneira), na tabela 4 apresentam-se os resultados médios dos seguintes parâmetros: alcalinidade, acidez, pH, cloretos, cálcio, magnésio, dureza total, oxidabilidade, oxigénio dissolvido, carência bioquímica de oxigénio, nitritos, nitratos e condutividade.

Relativamente aos parâmetros físico-químicos cloretos, acidez, oxidabilidade, CBO<sub>5</sub>, oxigénio dissolvido, sulfatos, fosfatos, cálcio, magnésio, nitritos, dureza total e

alcalinidade, em virtude de apresentarem uma dispersão muito pequena (<5%) será considerada a média dos valores dos resultados das análises.

Globalmente, o valor médio do pH das amostras de água analisadas oscilou entre 6,0 e 6,8. As amostras de água do poço apresentaram um valor médio mais baixo comparativamente com as águas da torneira.

Os valores obtidos para a água da torneira estão de acordo com o estabelecido no Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, que estabelece que o pH para as águas destinadas ao consumo humano devem situar-se entre 6,5 e 9,0. Embora este parâmetro não seja muito relevante a nível da saúde humana, verifica-se que o pH da água do poço foi ligeiramente inferior ao legislado.

Globalmente, os resultados dos valores médios pesquisados nos parâmetros físico-químicos, são inferiores ao estipulado pela legislação aplicada a água destinada ao consumo humano.

**Tabela 4. Resultados médios, desvio padrão, obtidos para os parâmetros físico-químicos na água (acondicionada à temperatura ambiente).**

<b>Parâmetros</b>		<b>Poço</b>	<b>Torneira</b>	<b>Valor Paramétrico</b>
pH (escala de Sørensen)	Média	6,04	6,8	6,5 - 9,0
	S*	0,65	0,0	
Cloretos (mg/L)	Média	4,97	3,9	250mg/L
	S*	0,00	0,0	
Acidez (mg/L de CaCO <sub>3</sub> )	Média	10	0,7	—————
	S*	0,0	0,0	
Alcalinidade (mg/L)	Média	0,04	0,15	25 mg/L CaCO <sub>3</sub>
	S*	0,00	0,00	
Nitritos (mg/L)	Média	0,00	0,00	0,5 mg/L
	S*	0,00	0,00	
Sulfatos (mg/L SO <sub>4</sub> )	Média	0,03	0,0	250 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /L
	S*	0,00	0,0	
Fosfatos (mg/L)	Média	3,39	0,0	250 mg/L
	S*	0,10	0,0	
Cálcio (mg/L)	Média	1,20	1,60	(não exceda 100 mg/L)
	S*	0,00	0,00	
Magnésio (mg/L)	Média	1,94	2,43	(não exceda 50 mg/L)
	S*	0,00	0,11	

Dureza total (mg/L)	Média S*	9,00 0,00	10 0,0	500mg/L CaCO <sub>3</sub>
OD (mg de O <sub>2</sub> /L)	Média S*	3,30 0,00	4,86 0,11	—————
Oxidabilidade (mg/L)	Média S*	0,00 0,00	0,00 0,00	5 mg/L
CBO <sub>5</sub> (mL)	Média S*	0,00 0,00	0,65 0,00	0,5 mg/L
Condutividade (μS/cm a 20°C)	Média S*	16,4 0,00	19,5 2,66	2500 μS cm <sup>-1</sup>
Nitratos (mg/L)	Média S*	0,41 0,00	0,11 0,00	50 mg/L NO <sub>3</sub>

### **4.2.1 Caracterização da água da torneira**

De acordo com a legislação atual, águas destinadas ao consumo humano são todas iguais diferenciando-se pelo conteúdo de minerais que apresentam podendo ser agrupadas em 4 tipos:

- Águas hipossalinas ou de baixa mineralização;
- Águas fracamente mineralizadas;
- Águas mesosalinas;
- Águas hipersalinas ou ricas em sais minerais.

A água da torneira pode ser considerada uma água de mineralização fraca e todos os parâmetros analisados foram inferiores aos VMA estipulados pela legislação.

Como o teor em aniões é muito pequeno, podemos considerar que é uma água lisa, de fraca condutividade e potável. Pode ainda dizer-se que não tem quaisquer vestígios de matéria orgânica.

### **4.2.2 Caracterização da água do poço**

A água do poço é uma água de menor mineralização em comparação com a água da torneira, com teores de iões muito baixos e também sem vestígios de matéria orgânica. Os valores obtidos para os parâmetros analisados foram muito menores que Valor Máximo Admissível (VMA), estipulados por lei.

## 5. Conclusão

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas e microbiológicas realizadas em amostras de águas provenientes do poço e da torneira da província do Planalto Central - Huambo sugerem as seguintes conclusões:

1. As águas da torneira e do poço são águas muito pouco mineralizadas, visto terem teores em aniões e em catiões muito baixos.
2. Os valores da dureza destas águas estão abaixo do VMA legalmente legislado, classificando-as no grupo da água lisa e de reação tenuemente ácida.
3. Os valores do pH da água do poço foram relativamente baixos comparativamente com os das águas da torneira, caracterizando-a como ácida.
4. O cloro, cálcio, magnésio, oxidabilidade, oxigénio dissolvido, CBO<sub>5</sub>, nitritos, alcalinidade, fosfatos, nitratos, condutividade, sulfatos, apresentaram valores inferiores ao limite legal estipulado.
5. *E. coli*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores e *Pseudomonas aeruginosa* estavam ausentes em todas as amostras analisadas. Estes resultados sobretudo da *E.coli* poderão estar relacionados com elevadas temperaturas durante o transporte.
6. Os valores obtidos para os coliformes totais, número de colónias a 22°C e 37°C e *Enterobacteriaceae*, foram superiores aos limites legalmente estipulados, sugerindo que as águas são impróprias para o consumo humano. O fator temperatura deve ter influenciado no aumento de crescimento bem como na morte de alguns microrganismos durante o transporte das amostras. As condições de acondicionamento e a manipulação das amostras podem estar na origem dos valores superiores nos parâmetros analisados.

Apesar de observarmos valores inferiores ao limite legalmente estipulados por lei para os parâmetros físico-químicos, podemos concluir os que dois sistemas de abastecimento das águas quer da torneira quer do poço são impróprias para o consumo humano, pois que as análises microbiológicas da água revelaram altos índices de contaminação

relativamente às *Enterobacteriaceae*, coliformes totais, número de colónias a 22°C e 37°C.

Para trabalhos futuros sugere-se que se reduza o período de tempo entre a colheita e análise microbiológica, que se assegure as condições adequadas de refrigeração e, ainda, que se proceda a recolha de um maior número de amostras em vários pontos de amostragem,

Com este trabalho pode adquirir conhecimentos com várias tecnologias para realização desta pesquisa, que num futuro próximo pretendemos dar continuidade com o projeto ora iniciado, com amostras representativas para uma melhor interpretação dos resultados.



## 6. Recomendações

Tendo em conta as conclusões apresentadas, recomendamos o seguinte:

### **Às famílias:**

- Nas instalações das fontes individuais, deve-se ter em conta as regras e medidas de proteção que incluem o declive do terreno, a distância em relação às habitações e às fossas e latrinas;
- As fontes devem estar cobertas e deverá manter-se permanente de uma boa higiene à volta da mesma;
- A água proveniente destas fontes não deve ser consumida sem o devido tratamento;
- A água proveniente das torneiras também deve ser tratada antes de ser consumida;
- Inculcar na população a necessidade de pagar a água da rede pública para que os serviços melhorem.

### **Ao governo:**

- Dentro daquilo que são as ações de desenvolvimento económico da província, dar prioridade à restauração da rede de condutas e canalização com vista à melhoria dos serviços de abastecimento de água às populações;
- As entidades sanitárias devem controlar e monitorizar a potabilidade da água destinada ao consumo humano antes da sua distribuição;
- Face ao elevado índice de contaminação, deve-se orientar e organizar a nível das zonas a constituição e formação de núcleos ou associações de água que, em conjunto com as entidades sanitárias, façam o controlo da qualidade da água das fontes individuais.



## Bibliografia

- Castanheira, D (2006) - Características mesológicas de Angola: Descrição e correlação dos aspectos fisiográficos dos solos e da vegetação das zonas agrícolas angolanas, 2ª Edição. ISBN: 977-8975-02-3.
- Adams, M. R, Moss, M.O (2000). *Food Microbiology*. 2ª ed. Royal Society of Chemistry. Londres, Reino Unido.
- APDA (2012a). Bactérias coliformes..
- APHA (2005). Eaton Andrew D. American Water Works Association Water Environment Federation - Standard methods for the Examination of Water and waster Water, Washington, D.C., APHA - AWWW - WEF.
- AOAC - official Method of Analsis, 15 th ed., AOAC, Washinton, Dc, (1990) aspects, chemistry, microbiology, tecnology. Utrecht: ECCEAMST. ISBN: 90-75319-04-5 pp 31-46.
- AGENCES DE L'EAU (1993) – Étude bibliographique des méthodes biologiques d'évaluation de la qualité des eaux de surface continentales. – Synthèse bibliographique. Etude Inter Agences n° 35. I.D.E. Environnement.
- Alves C. D. A (2007) Tratamento das águas residuais. Universidade de Aveiro.
- Bourgeois, C. M, Mescle J. F, Zuca J (1994). " Microbiologia alimentar " Vol. I, Editorial Aeribia, S.A, Zaragozs.
- Calisto, S (2004) – BOD<sub>5</sub> em Águas Residuais. Estudos de Validação de Métodos e de Controlo da Qualidade dos Resultados – Trabalho de Fim de Curso, Universidade de Évora.
- Cairncross, S, Feachem, R (2005). *Environmental health engineering in the tropics: an introductory text*. 2. ed. England: John Wiley & Sons Ltd, 306 p.
- Clesceri, L, Greenberg , A, Eaton A, (Eds) (1999). Standard Methods for Examination of water and Wastewater, 20th ed, American Public Health Association

(APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF), Washington, D. C, ISBN:978-0875532356.

Colle, G. J, Duguid, P. J, Fraser, G. A, Marmion, P. B (1993). " Microbiologia médica":  
Fundação Calouste Gulbenkian. 6ª Edição.

Cortes, R. Pinto, P. Ferreira, M.T. Moreira, I (2002) – Qualidade biológica dos  
ecossistemas fluviais.

Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de Agosto, Diário da república, N.º 164 - I Série-A -  
Estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano,  
revendo o Decreto - Lei n.º 243/2001, de Setembro, que transpõe para ordem  
jurídica interna a Directiva n.º 98/83/CE, do Conselho, de 3 de Novembro.

Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto, Diário da república, N.º 176 - I Série - A.  
Estabelece normas, critérios e objectivos de qualidade com a finalidade de  
proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus  
principais usos. Revoga o Decreto - Lei n.º 76/90, de 7 de Março (rectificação  
pela declaração de Rectificação n.º 22-C/98, de 30 de Novembro).

Decreto-Lei n.º 243/2001 de 5 de Setembro, diário da República, N.º 206 - I Série-A.  
Transpõe para o direito interno a Directiva n.º 98/83/CE, do Conselho, de 3 de  
Novembro, relativa á qualidade da água. Aprova normas relativas á qualidade  
da água destinada ao consumo humano.

Directiva 98/93/CE do Conselho de 3 de Novembro de 1998, jornal oficial das  
comunidades Europeias, L 330/32 - Relativa à qualidade da água destinada ao  
consumo humano.

Ferreira, W. F. C, Sousa J. C. F, Lima N (2010). Microbiologia - Lidel - 4ª Edições  
Técnicas, Lisboa.

Gaur, R ( 2008). Environmental Engineering Laboratory Manual, New Age  
International (P) Ltd., Publishers, ISBN: 978-81-224-2652-6.

Gray, N. F (2008). Drinking Water Quality, Problems and Solutions, Second Edition,  
Cambridg University Press, UK, ISBN: 978-0-511-39371-6.

- Gopal (2004). *Fundamentals of Water and Waste*, S.B. Nangia, A.P.H. Publishing corporation New Delhi, ISBN: 81-7648-553-5.
- Instituto Português de Qualidade (1999). *Qualidade da água distribuída por sistemas públicos de abastecimento*, 2ª Edição, IPQ - CNQ, Caparica.
- ICMSF (1996). *Microorganisms in foods. Microbiological specifications of food pathogens*. 1st Ed. Great Britain: International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Societies. ISBN: 0-412-47350X. 513p.
- ISO 3788 (2002) - *Microbiologia Alimentar - Regras gerais de contagem de microrganismos a 30 °C*. IPQ. Portugal.
- ISO 6461/2 - *Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (Clostridia)*.
- ISO 16266:2006 - *Water quality - Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa**.
- ISO 7890:1986 - *Water quality - Determination of nitrate - Parte 1:2,6 - Dimethylphenol spectrometric method*.
- Koch, P (2010). *Water Sources Principales and practices of water supply operations series*, American Water Works Association, EUA, ISBN: 1583217827.
- Lee, C. M. T.Y, Lin, C. C, Lin, G. A, Kohbodi, A, Bhatt, R. Lee and J. A, Jay (2006). *Persistence of fecal indicator bacteria in Santa Monica Bay beach sediments*. *Water Research* 40:2593-2602.
- Lopes, F, Ruão, T, Marinho, S, Araujo, R (2011). *"Jornalismo de Saúde e Fontes de Informação -uma análise dos Jornais portugueses entre 2008e 2010"*, nº 2, 100-120.
- Massoud, Z (1992) – *Terra Viva – Instituto Piaget - Tese de Mestrado - Biorremediação em águas residuais: remoção de fosfatos utilizando microalgas *Chlorella vulgaris* imobilizadas em meio de alginato de sódio*. Departamento

de Zoologia e Antropologia. Faculdade e Ciências da Universidade do Porto, 2007

- Maul, A, Vagost, D, Block J. C (1989). " Strategies d' echantillonnage pour analyse Microbiologique sur reseaux de distribution d'eua - Methodes et programms informatiques"; tehnique et documentccion - Lavoisier, Citado por Lúcia C.D. C (2004) - "Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contacto com água potável"
- Mendes, B, Oliveira J. F. S (2004). Qualidade da água par o consumo humano, Lidel-edições técnicas, Lda, ISBN:9789727572748.
- Mendes, B (2010). Microbiologia da água. in Ferreira, W.F.C, Sousa,J.C.F.& Lima, N (coords). Microbiologia. Lidel-Edições técnicas, Lda. Lisboa. 622 páginas. ISBN 978-972-757-515-<sup>2</sup>.
- Novais, R (2010). Microbiologia dos Alimentos. in Ferreira, W.F.C, Sousa,J.C.F.& Lima, N (coords). Microbiologia. Lidel-Edições técnicas, Lda. Lisboa. 537 páginas. ISBN 978-972-757-515-<sup>2</sup>.
- Norma Portuguesa 1829 (1982) - Microbiologia Alimentar - Preparação da amostra para análises microbiológicas. Instituto Português de Qualidade (IPQ), Portugal.
- Ohlweiler, O (1976). Química Analítica Quantitativa, Livros Técnicos e Científicos. Editora S.A., Rio de Janeiro.
- Penn, M, Pauer, J, Mihelcic, J (2004). Enveronmental and Ecological Chemistry-Vol. II-Biochemical Oxygen Demand, Encyclopedia if Life Support Systems (EOLSS), Eolss Publishers, Oxford, ISBN: 978-1-84826-206-5.
- Pesson, P (1976). La pollution des eux continentals. Incidence sur les biocénoses aquatiques. Bordas: Paris.
- Pina, S, Montserrat, P, Lucena, F, Jofre, J, Girones, R (1998). Viral Pollution in the environment and in Shellfish: Human Adenovirus detection by PCR as an Index of Human viruses. Applied and Environmental Microbiology, v. 64, p.3376-3382.

- Rodier, J, Legube, B, Merlet, N (2009). Meio Ambiente e Sustentabilidade, ISBN:978-10-054179-9.
- Santos, N (2011). Controlo de Qualidade em Laboratórios de Ensaios, Relatório de Estágio - Tese de Mestrado - Tecnologias Ambientais, Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior de Tecnologia e Gestão.
- Silveira, M. P (2004) - Aplicação do Biomonitoramento para Avaliação Qualidade da Água em Rios. Documentos ISSN 1516 – 4691, 36. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Jaguariúna, SP.
- Spellman, F, Drinan, J (2012). The Drinking Water Handbook, CRC Press, Taylor & Francis Group, EUA, ISBN:978-1-4398-6.
- Symons, J (2010). Plain Talk about Drinking Water: Question and Answer about the Water You Drink, American Water Works Association, ISBN: 1-58321-126-8.
- Tundisi, G. J. Água no século XXI: Enfrentando a escassez ( editora, RIMA, IIE. 248 p. 200).
- Tolgyessy (1993). Chemistry and Biology of Water, Air and Soil: Environmental Aspects, Elsevier Science Publishers, Amesterdão, ISBN:0-444-987998-3.
- Twort, A, Ratnayaha, D, Brandt, M (2000). Water Supply Fifth Edition, Binnie Black & Veatch, Elsvier Ltd. Great Brintain, ISBN:978-0-340-72018-9.
- Udeh, P (2004). A Guide to Healthy Drinking " All you Need to Know About The Water You Drink", iUniverse, Inc, EUA, ISBN:0-595-32287-5.
- WETZEL, R. G (1993). – Limnologia. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa.
- WHO (2008). World Helthh Organization, Guidelines for Drinking-Water Quality - Volume 1 Recomendations, WHO Livrary Cataloguing-in-Publication Data, Geneva..

WHO (2002). Guidelines for Drinking Quality Addendum: Microbiological agents. In Drinking Water, Geneva Second Edition, ISBN: 92-4-154535-6.

**Sites consultados:**

- W1 - <http://dfl.blogs.sapo.pt/1224.html> (14/06/2014)
- W2 - [www.smarth.eng.ufmg.br](http://www.smarth.eng.ufmg.br) (21/03/2014)
- W3 - [www.cpgls.ucg.br/arquivos\\_upload](http://www.cpgls.ucg.br/arquivos_upload) (18/03/2014)
- W4 - [www.ucn.br/uenf/centros/cct/qambiente/ag\\_tipoluicao.html](http://www.ucn.br/uenf/centros/cct/qambiente/ag_tipoluicao.html) (6/03/2014)
- W5 - [www.cefar.com.br](http://www.cefar.com.br) (8/04/2014)
- W6 - [www.infopedia.pt](http://www.infopedia.pt) (8/04/2014)
- W7 - [www.segurancaalimentar.org](http://www.segurancaalimentar.org) (4/04/2014)
- W8 - [www.writers-centre.org](http://www.writers-centre.org) (4/04/2014)
- W9 - [www.leb.esalq.usp.br](http://www.leb.esalq.usp.br) (27/08/2014)
- W10 - [www.Insa.pt](http://www.Insa.pt)



# Anexo I

## Procedimento Experimental Das Análises Microbiológicas

### 1. Meios de Cultura

1. **Plate Count Agar (PCA)** - Meio para pesquisa de microrganismos aeróbios, mesófilos a 22 e 37°C..

Triptona 5g

Extrato de levedura - 2,5g/L

Dextrose - 1,00g/L

Agar - 15,00g/L

Água - 1000mL

pH final (25°C) - 7,0±0,2

Dissolvem-se 23,5g de meio em 100 mL de água destilada. Ferve-se para uma completa diluição e esterilizou-se na autoclave a uma pressão de 15lbs a 121°C durante 15 minutos. Após arrefecer e agitar, verteu-se nas placas.

### 2. Meio para pesquisa de esporos de *Clostridium* sulfito redutores

Agar 18 g

Água 600 mL g

Solução de Sulfato de Sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) - 90 mL

Solução de Sulfato de Ferro 6 mL

Alumem de Ferro 2 gotas

pH 7.6 ±0,1

### 3. Meio para pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*

Pâncreas digestivo de gelatina 20,0 g

Cloreto de magnésio 1,4 g  
Sulfato de potássio 10 g  
Agar 13,6 g  
Glicerina 10,0 g  
N-N-N-trimetil cloreto de amônio brometo de N-cetil (Cetrimida) 0,3 g  
Água destilada (1000 mL)  
pH  $7,2 \pm 0,2$

Suspendeu-se 45,3g de meio em 1000 mL de água destilada. Seguidamente foram incorporados 10 mL de glicerina. Ferveu-se para dissolver completamente e esterilizou-se no autoclave com uma previsão de 15lbs a 121 °C durante 15 minutos. Deixou-se arrefecer até aos 50°C e assepticamente verteu-se o meio nas placas. Após o meio estar sólido, foram adicionados por espalhamento 0,1 mL da nossa amostra.

#### **4. Pesquisa de Coliformes totais e *E. coli***

A identificação de coliformes totais é feita pelo kit de SimPlate®. Em 100mL de água estéril adiciona-se o pó para pesquisa e agita-se. Com auxílio de uma pipeta graduada pipeta-se 1mL da amostra e verte-se nas placas de SimPlate®.

#### **5. Pesquisa de *Enterobacteriaceae***

A pesquisa de *Enterobacteriaceae* foi feita com base no Kit de SimPlate®. Em 100 mL de água estéril adiciona-se o pó e agita-se. Pipita-se 1mL da amostra e verte-se nas placas de SimPlate® .