



Universidade de Brasília
CET – Centro de Excelência em Turismo

Pós-graduação Lato Sensu

Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos

**“ANÁLISE DE NMP DE COLIFORMES EM ÁGUAS MINERAIS
COMERCIALIZADAS NO DISTRITO FEDERAL”**

DANIELE SMIDT FRISCHKNECHT

Brasília – DF
Março / 2006

**Universidade de Brasília
CET – Centro de Excelência em Turismo**

Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos

**“ANÁLISE DE NMP DE COLIFORMES EM ÁGUAS MINERAIS
COMERCIALIZADAS NO DISTRITO FEDERAL”**

DANIELE SMIDT FRISCHKNECHT

Wilma Araújo
Doutora
Professor Coordenador

Ângela Patrícia Santana
Doutora
Professor Orientador

Wilma Araújo
Doutora
Professor Examinador

“Trabalho apresentado em cumprimento às exigências acadêmicas parciais do curso de pós-graduação lato sensu em Qualidade em Alimentos para a obtenção do grau de Especialista”

Brasília – DF
Março / 2006

Frischknecht, Daniele Smidt

Análise de NMP de coliformes em águas minerais
comercializadas no Distrito Federal / Daniele Smidt
Frischknecht.

Monografia – Curso de Qualidade em Alimentos
Brasília – DF, março de 2006.

Área de Concentração: Microbiologia de Alimentos

Orientador: Ângela Patrícia Santana

1. Coliformes 2. Água mineral 3. Microbiologia

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida: minha filha Giovanna, meu marido Willy e aos meus pais queridos.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos às professoras Ângela Patrícia, Rita Akutsu e Wilma Araújo, pela incansável orientação durante esta pesquisa.

À toda a equipe do Núcleo do Laboratório de Microbiologia, da Gerência de Tecnologia de Alimentos, da Secretaria de Agricultura do DF, pela colaboração durante a realização das análises deste estudo.

Aos meus pais, Lúcia e Geraldo, por todo apoio e confiança nos meus esforços.

À minha irmã, Kátia, pelo seu carinho.

À minha filha, Giovanna, por sua presença encantadora, que me incentiva a ser cada vez melhor.

À minha querida avó Elcina, que esteve sempre à disposição para me ajudar no que fosse necessário.

À minha sogra, Rosa, por sua sabedoria.

Aos meus amigos, por estarem sempre presentes.

E, por último, mas não menos importante, ao meu marido, Willy, por compartilhar dos meus sonhos e me ajudar a torná-los realidade.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi observar a ocorrência de coliformes totais, coliformes a 45°C (termotolerantes) e *Escherichia coli* em 20 amostras de águas minerais de diferentes marcas e tipos de embalagem, comercializadas no Distrito Federal. Considerando que o Brasil é o quarto maior mercado mundial de água mineral, com produção de 11,5 bilhões de litros em 2004, torna-se fundamental que essa água seja analisada periodicamente, com o compromisso de assegurar que o produto disponibilizado no mercado esteja de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente, não oferecendo risco à saúde do consumidor. Para a análise, foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, da *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* da *American Public Health Association*, método que permite determinar o número mais provável (MPN) dos microrganismos pesquisados. Em nenhuma das amostras foi detectada contaminação por coliformes a 45°C e *Escherichia coli*. A presença de coliformes totais, detectada em uma das amostras analisadas, sugere falhas higiênicas ao longo do processo. Tal amostra apresenta-se em desacordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira. Tendo em vista que tratamentos não podem ser utilizados para a eliminação ou a redução da contaminação microbiológica, práticas higiênico-sanitárias rigorosas devem ser adotadas para assegurar a qualidade da água na fonte, durante o envase e após seu transporte e distribuição.

1. Coliformes

2. Água mineral

3. Microbiologia

ABSTRACT

The aim of this study was to observe the occurrence of total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli* in 20 mineral water samples of different marks and types of packing, commercialized in the Distrito Federal, Brazil. Considering that Brazil is the fourth biggest world-wide mineral water market, with production of 11,5 billion liters in 2004, it becomes highly necessary that this water be analyzed periodically, with the commitment to assure that the product available in the market is in accordance with the parameters established for the current law, not offering risk to the consumer health. For the analysis, the technique of the multiple tubes was used (*Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater - American Public Health Association*), method that allows to determine the most probable number (NMP) of the searched bacterias. In none of the samples contamination was detected fecal coliforms and *Escherichia coli*. The presence of total coliforms, detected in one of the analyzed samples, suggests poor hygiene along the process. Such sample is in disaccordance with the microbiological standards established by the Brazilian legislation. In view of that treatments cannot be used for the elimination or the reduction of the microbiological contamination, practical hygienical-sanitary rigorous must be adopted to assure the quality of the water in the source, during packing and after its transport and distribution.

1. Coliforms
2. Bottled mineral water
3. Microbiology

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Características das águas minerais.....	3
2.2 A contaminação da água	4
2.3 As doenças veiculadas pela água contaminada.....	6
2.4 O mercado nacional de água mineral	7
Tabela 1. Distribuição regional da quantidade de água mineral consumida em 2004 (DNPM, 2005).....	8
Tabela 2. Distribuição setorial da quantidade de água mineral consumida em 2004 (DNPM, 2005).....	8
2.5 Legislação vigente para o produto.....	9
3. METODOLOGIA	10
3.1 Delineamento da pesquisa	10
3.2 População e amostra.....	10
3.3 Plano e instrumentos de coleta de dados.....	11
3.4 Descrição dos procedimentos e técnicas	11
3.4.1 Preparo da amostra.....	12
3.4.2 Teste presuntivo	12
3.4.3 Teste confirmativo de coliformes a 35°C (totais)	13
3.4.4 Teste confirmativo de coliformes a 45°C (fecais).....	13
3.4.5 Confirmação bioquímica de <i>Escherichia coli</i>	14
4. APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS	15
4.1 Parâmetros utilizados	15

4.2 Agrupamento, ordenação e descrição dos dados coletados	15
Tabela 3. Ocorrência de coliformes totais, coliformes a 45°C e <i>Escherichia coli</i> em amostras de água mineral comercializadas no Distrito Federal	16
4.3 Análise descritiva dos dados	17
Tabela 4. Percentagem de fontes que apresentavam diferentes fatores de proteção nas 30 propriedades rurais situadas na região nordeste do estado de São Paulo, Brasil, 2001 (AMARAL, <i>et al.</i> , 2003)	18
5. CONCLUSÃO	21
6. REFERÊNCIAS	23
7. ANEXOS	26
Anexo A – Tabela de NMP para 10 tubos com 10 ml de inoculo (BAM, 2003) .	26
Anexo B – Resolução RDC nº 54 de 15 de junho de 2000, ANVISA, MS (BRASIL, 2000)	27

SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ABINAM	Associação Brasileira das Indústrias de Água Mineral
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	American Public Health Association
AWWA	American Water Works Association
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
DNPM	Departamento Nacional de Produção Mineral
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
MME	Ministério de Minas e Energia
MS	Ministério da Saúde
PVC	Poli (Cloreto de Vinila)
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
WEF	Water Environment Federation
WHO	World Health Organization

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, o ser humano dedica-se à obtenção de água de qualidade para o seu próprio consumo, sendo uma de suas primeiras preocupações a distribuição adequada da água que ficava centralizada em fontes (PONTIUS, 1990).

Do mesmo modo, a cultura das águas minerais data da era dos romanos, onde se introduziu o comércio das águas medicinais. No século XVII, na França, o comércio das mesmas foi regulamentado por Henri IV, em maio de 1605. No entanto, foi ao longo do século XIX que realmente nasceu a indústria de envasamento de água mineral, em função das suas propriedades de cura (www.rs-imprensa.com.br apud MACEDO, 2001).

Na Europa e certamente em outros países, muitos consumidores acreditam que a ingestão de água mineral repercute em benefícios para o organismo (WHO, 2000).

Paralelamente às expectativas de cura e saúde, proporcionadas pela ingestão de água mineral, surgem, no início dos anos 60, as embalagens plásticas, dando um novo impulso à sua comercialização. Desse momento em diante, foram sendo criadas novas embalagens e o comércio de águas minerais aumentou surpreendentemente (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

Quando o assunto é embalagem plástica, a diversidade dentro desse segmento é grande, sendo que as mais utilizadas são as de polietileno, polipropileno, policarbonato e PVC. Estas embalagens apresentam baixo custo, evitam ferrugens, são leves, fáceis de manusear, recicláveis e práticas (MACEDO, 2001). Esses fatores são de suma importância para a prevenção de contaminações, pois a qualidade microbiológica do produto é o que mais se preza. A embalagem não pode permitir que elementos externos interajam com a água ou que haja vazamentos, mas deve, também, apresentar uma boa imagem do produto (BUZETTI, 1998 apud MACEDO, 2001). No Brasil, 70% da água é

envasada em PVC, mas a embalagem PET (polietileno tereftalato) já tem sido usada (MACEDO, 2001).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Água Mineral, ABINAM, o mercado mundial de águas envasadas cresceu, em média, 6,5% em 2004 e o consumo mundial desse produto foi estimado, no mesmo ano, em aproximadamente 155 bilhões de litros.

Nesse universo, o Brasil assume o quarto maior mercado mundial de água mineral, com produção de 11,5 bilhões de litros em 2004 (ABINAM, 2005). Um aumento de cerca de 70% se comparado à produção do ano 2000 (SANT'ANA, *et al.*, 2003). Desses 11,5 bilhões de litros, pouco mais de 4 bilhões foram engarrafados ou utilizados na indústria alimentícia (DNPM, 2005).

No entanto, essa água é retirada da fonte e envasada sem nenhum tipo de tratamento. Com base nessa perspectiva, é fundamental que ela seja analisada periodicamente, com o compromisso de assegurar que o produto disponibilizado no mercado esteja de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente, não oferecendo, assim, risco à saúde do consumidor.

Neste trabalho, serão utilizados, como indicadores da qualidade microbiológica da água, a contagem por NMP de coliformes a 35°C (totais) e coliformes a 45°C (fecais) e a presença de *Escherichia coli*, devido à presença de coliformes em água mineral indicar uma possível contaminação da fonte ou um envase inadequado do produto.

Portanto, o objetivo geral deste estudo é observar a ocorrência de coliformes nas águas minerais comercializadas no Distrito Federal. Tal estudo tem ainda, como objetivos específicos, coletar amostras de água mineral comercializadas no DF, realizar análises microbiológicas quantitativas de coliformes a 35°C (totais) e coliformes a 45°C (fecais) e, em caso de presença de coliformes, realizar o teste de presença ou ausência de *E.coli*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características das águas minerais

A água é constituída, conforme mostrado por Cavendish em 1784, pela combinação de dois volumes de hidrogênio e um volume de oxigênio. Possui densidade 1, ponto de fusão 0°C e ponto de ebulição 100°C, à nível do mar. A água é considerada o solvente universal, constituindo-se num dos mais importantes agentes mineralógicos da gênese das jazidas naturais (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

Grande parte das águas subterrâneas é proveniente da infiltração de chuvas as quais percolam através da crosta terrestre, nas várias regiões do planeta. Simulações e cálculos matemáticos permitem estimar que em sua movimentação subterrânea, as águas possam demorar décadas para percolar algumas centenas de metros (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

A lenta infiltração da água, sua interação com as rochas e minerais e o intemperismo – um conjunto de alterações de ordem física (desagregação) e química (decomposição) – são mais prolongados em grandes profundidades, onde as condições de pressão e de temperatura elevadas são diferentes das existentes na superfície (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

Durante a infiltração, as águas se movimentam lentamente pelas formações geológicas, desde a área de recarga por onde penetram as precipitações pluviométricas, até seu afloramento na superfície em áreas de descarga obedecendo ao ciclo hidrológico. E dependendo do tipo de solos e formações geológicas das rochas com as quais interagem, as águas sofrem em maior ou menor escala, modificações de suas

características físico-químicas por incorporação de espécies químicas de diferentes naturezas.

A mineralização é um processo de transferência de espécies químicas inorgânicas constituintes das rochas e minerais, diferentes das moléculas de água, para as águas infiltradas que adquirem, também, radioatividade natural.

Nas rochas cristalinas a mineralização das águas subterrâneas é mais lenta daquela que ocorre nas rochas sedimentares. O fato decorre da movimentação hídrica nas rochas cristalinas ocorrer através de fendas com fraturamentos e fissuras características que possuem menor superfície de contato água/rocha do que a apresentada pelas rochas sedimentares (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, água mineral natural é a água obtida diretamente de fontes naturais ou artificialmente captada, de origem subterrânea, caracterizada pelo conteúdo definido e constante de sais minerais (composição iônica) e pela presença de oligoelementos e outros constituintes (BRASIL, 2000).

2.2 A contaminação da água

A água é o habitat de variada quantidade de microrganismos não patogênicos, que dela extraem os elementos indispensáveis à sua sobrevivência. As bactérias nativas existentes nas águas, num processo competitivo, atuam com vantagem sobre as bactérias patogênicas (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

No entanto, poços mal construídos, em solos muito permeáveis e sem proteção vegetal, podem permitir a infiltração de águas com cargas poluidoras de natureza

mineral, orgânica ou microbiológica elevadas, capazes de contaminar os reservatórios (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

Do mesmo modo, as águas superficiais ao atravessarem regiões agrícolas e as densamente habitadas são, muitas vezes, contaminadas pelo próprio homem por dejetos poluentes químicos e até radioativos, prejudicando a capacidade de autodepuração dos cursos d'água. Pode-se dizer que muitas das doenças atribuídas à água e o elevado índice de internações hospitalares poderiam ser diminuídos com saneamento básico e conscientização da população em relação à preservação das florestas, das águas superficiais e subterrâneas, de forma a disponibilizar a água com qualidade para o consumo e outros usos (MACEDO, 2001).

No caso das empresas que envasam água subterrânea para o consumo, exige-se além da higiene pessoal dos funcionários, a sanitização adequada dos garrafões, instalações, máquinas e equipamentos para evitar que bactérias patogênicas afetem a qualidade da água produzida e a saúde do homem (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005).

Para se avaliar a presença de microrganismos patogênicos na água, é determinada a presença ou ausência de um organismo indicador, ou seja, um microrganismo que esteja na água, sempre que organismos patogênicos estejam. O isolamento e a identificação de cada microrganismo exige uma metodologia diferente e a ausência ou presença de um patógeno não exclui a presença de outros. O uso de uma metodologia simples e um indicador não patogênico facilitam o procedimento do trabalho (MACEDO, 2001).

Em vista da dificuldade de pesquisar microrganismos patogênicos de maneira direta, devido sua sensibilidade quando em baixo número, a necessidade de procedimentos complexos e onerosos, a avaliação microbiológica da água é realizada com o emprego de bactérias coliformes (CETESB, 1991).

O grupo de coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, em 24 horas a 48 horas a 35°C. Este grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias oriundas do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo (SILVA, *et al.*, 1997; 2004).

A definição de coliformes a 45°C, ou fecais, é a mesma de coliformes totais, restringindo-se, porém, aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas, a 44,5°C – 45,5°C. Esta definição objetivou, em princípio, selecionar apenas os coliformes oriundos do trato gastrointestinal. Entretanto, atualmente, sabe-se que o grupo dos coliformes fecais inclui pelo menos três gêneros - *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella* - dos quais dois (*Enterobacter* e *Klebsiella*) incluem cepas de origem não fecal (SILVA, *et al.*, 1997; 2004).

Cerca de 95% dos coliformes existentes nas fezes humanas e de outros animais são de *E. coli* e, dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, dentro do grupo dos coliformes fecais, *E. coli* é a mais conhecida e a mais facilmente identificada. Por isso, a enumeração direta de *Escherichia coli* tem se tornado muito útil. (SILVA, *et al.*, 2004; CETESB, 1997).

2.3 As doenças veiculadas pela água contaminada

Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de 80% de todas as doenças que afetam os países em desenvolvimento provém da água de má qualidade. Desta forma, o tratamento da água é importantíssimo para a prevenção de doenças (MACEDO, 2001).

Além disso, o responsável pelo envase da água deve estar consciente da importância da adoção de medidas para a preservação das fontes e o tratamento das contaminadas, pois a utilização de água não potável é um dos fatores determinantes das enfermidades transmitidas por alimentos, como relata Cardoso (apud OPAS/ INPPAZ/ OMS, 2001).

Nesse contexto, a determinação da concentração de coliformes assume importância como parâmetro indicador da possibilidade da existência de microrganismos patogênicos e que transmitem doenças tais como: febre tifóide, disenteria bacilar e cólera (CETESB, 1997).

2.4 O mercado nacional de água mineral

De acordo com dados do Anuário Mineral Brasileiro do Departamento Nacional de Produção Mineral, DNPM, de 2005, somente no Distrito Federal foram comercializados 93.788×10^3 litros de água mineral engarrafada em 2004, assegurando a movimentação de 10.489.567,00 de reais.

Como é possível evidenciar na Tabela 1, os maiores consumidores de água mineral do país são os estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio de Janeiro e Pernambuco. O Distrito Federal fica em décimo sexto lugar, com um consumo de 1,48% da água consumida no Brasil.

Tabela 1. Distribuição regional da quantidade de água mineral consumida em 2004 (DNPM, 2005).

Estado	Consumo (%)	Estado	Consumo (%)
SP	27,35	PB	1,50
SC	12,61	DF	1,48
RJ	8,45	GO	1,38
PE	5,37	ES	1,24
MG	5,05	AL	1,23
PR	4,76	PI	0,54
RS	4,02	RO	0,38
BA	3,21	MA	0,31
PA	2,41	MS	0,26
CE	2,38	AC	0,26
AM	2,02	AP	0,25
RN	1,78	TO	0,12
MT	1,64	Não informado	8,48
SE	1,52		

Cabe destacar ainda que, segundo o presidente da ABINAM (ABINAM, 2005), o Brasil, por ser detentor da maior reserva de água mineral do mundo (cerca de 30%), já é visto internacionalmente como o maior mercado potencial de água potável, com capacidade para abastecimento global.

Os dados do Anuário Mineral Brasileiro do Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM, 2005) permitem concluir que mais de 80% da água mineral consumida no Brasil é engarrafada, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição setorial da quantidade de água mineral consumida em 2004 (DNPM, 2005).

Setores de Consumo/ Uso	Quantidade (%)
Engarrafamento	81,69
Composição de produtos industrializados	15,99
Ingestão na fonte	2,30
Não informado	0,02

2.5 Legislação vigente para o produto

Até o ano de 2000, a legislação que estabelecia parâmetros para água era a CNNPA nº 25/76. Em 15 de junho de 2000, ela foi revogada pela Resolução RDC nº 54, da ANVISA, que dispõe sobre o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de água mineral natural e água natural. No entanto, apesar do aspecto microbiológico a ser avaliado ter sido aumentado, ainda é insuficiente se comparado às legislações americana e européia (ALVES, *et al.*, 2002).

Com o intuito de uniformizar procedimentos de fiscalização, vários dispositivos legais foram estabelecidos por meio de decretos, portarias e resoluções, consolidando-se as rotinas operacionais na Portaria Interministerial nº 805, de 12/06/78, na qual se definem as incumbências do DNPM, do Ministério da Saúde e das Secretarias Estaduais de Saúde.

Em consequência, uma série de portarias e instruções normativas foram editadas, visando disciplinar padrões de coleta, amostragem, rotulagem e outros aspectos técnicos, sendo a mais recente a RDC nº 54, de 15/06/2000, citada anteriormente.

Outros dispositivos legais alteraram ou disciplinaram as matérias tratadas nas demais determinações do Código de Águas Minerais, referentes ao comércio, classificação das águas e das fontes, sendo conveniente destacar a alteração do parágrafo único do artigo 27, introduzida pela lei nº 6.726, de 21/11/79, estabelecendo a obrigatoriedade de análises bacteriológicas trimestrais (UNIVERSIDADE DA ÁGUA, 2006).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou o “*Guidelines for drinking water quality*”, um guia que muitos países utilizam para criarem seus próprios padrões (WHO, 2000).

3. METODOLOGIA

3.1 Delineamento da pesquisa

O presente trabalho é um estudo transversal prospectivo, que tem por objetivo descrever a ocorrência de coliformes em 20 amostras de água mineral comercializadas no DF.

É um estudo quantitativo e a amostragem foi estabelecida por conveniência.

3.2 População e amostra

O Distrito Federal possui, atualmente, 28 regiões administrativas. São elas: Plano Piloto, Gama, Taguatinga, Brazlândia, Sobradinho, Planaltina, Paranoá, Núcleo Bandeirante, Ceilândia, Guará, Cruzeiro, Samambaia, Santa Maria, São Sebastião, Recanto das Emas, Lago Sul, Riacho Fundo, Lago Norte, Candangolândia, Águas Claras, Riacho Fundo II, Park Way, Varjão, Setor Complementar de Indústria e Abastecimento, Sudoeste / Octogonal, Sobradinho II, Jardim Botânico e Itapuã. (AREAL, 2006 apud CODEPLAN/ IBGE/ IDHAB – DF).

A partir desse universo, foram sorteadas 5 regiões para a coleta das amostras: Cruzeiro, Plano Piloto, Lago Sul, Taguatinga e Núcleo Bandeirante.

Em cada região foram escolhidos, aleatoriamente, pontos de venda de águas minerais (supermercados ou padarias) onde foram adquiridas 4 amostras.

As coletas ocorreram durante os meses de novembro a janeiro. Foi verificado, durante a coleta, se as amostras apresentavam-se acondicionadas em embalagem

original e sem sinal de violação. As amostras foram transportadas e manipuladas de modo a não oferecer risco de contaminação externa.

Foram analisadas 20 amostras de água mineral assim distribuídas: 5 garrafões de 20 L, 5 garrafas de 1,5 L, 5 garrafas de 500 ml e 5 copos de 200 ml. As marcas foram escolhidas de acordo com a sua disponibilidade nos estabelecimentos de coleta.

3.3 Plano e instrumentos de coleta de dados

As análises foram realizadas no Núcleo do Laboratório de Microbiologia da Gerência de Tecnologia de Alimentos da Secretaria de Estado de Agricultura do DF.

Foram utilizados recursos, financeiros e humanos, próprios.

3.4 Descrição dos procedimentos e técnicas

Antes de abrir as embalagens, a área externa das mesmas foi desinfetada com álcool 70%, de acordo com metodologia padrão descrita por Silva, *et al.*, 1997. Dessa forma, foram removidos os eventuais contaminantes presentes.

Para a análise, foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, da *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19. ed. APHA, AWWA, WEF, 1995 (SILVA, *et al.*, 2004), método de análise quantitativo que permite determinar o número mais provável (NMP) dos microrganismos pesquisados, através da distribuição de alíquotas em uma série de tubos contendo um meio de cultura diferencial para o crescimento dos mesmos.

A determinação do número de microrganismos é baseada no princípio de que, numa amostra líquida, as bactérias podem ser separadas por agitação, resultando numa

suspensão em que as células estejam uniformemente distribuídas. A combinação de tubos com crescimento positivo ou negativo, após incubação, permite estimar, por cálculo de probabilidade, a densidade original dos microrganismos na amostra (SILVA, *et al.*, 2004).

O seguimento das análises ocorreu como o descrito a seguir.

3.4.1 Preparo da amostra

A amostra foi homogeneizada por agitação, invertendo o frasco 25 vezes em ângulo de 45°.

3.4.2 Teste presuntivo

Com uma pipeta de 10 ml, foram adicionadas 10 porções de 10 ml em 10 tubos contendo 10 ml de Caldo Lauril Sulfato Triptose com Púrpura de Bromocresol (LST–BCP) com tubos de Durhan.

Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas. Após esse período, foi observado se houve crescimento com produção de gás (nos tubos de Durhan) e viragem ácida do indicador de púrpura para amarelo. Em caso negativo, os tubos foram reincubados até completar 48 horas e, após esse período, foi realizada nova leitura. A não ocorrência de produção de gás ou ácido em 48 horas de incubação indicou ausência de coliformes (totais, fecais ou *E.coli*) nos 100 ml da amostra.

3.4.3 Teste confirmativo de coliformes a 35°C (totais)

Apenas uma amostra foi submetida ao teste confirmativo de coliformes a 35°C, tendo em vista que as demais não apresentaram crescimento e produção de gás nos tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose com Púrpura de Bromocresol (LST–BCP).

Dessa forma, os 4 tubos dessa amostra, que apresentaram crescimento, produção de gás e viragem ácida do indicador no LST–BCP em até 48 horas, passaram pelo teste de confirmação.

Para tanto, a partir de cada tubo, foi transferida uma alçada bem carregada da cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile (VB). Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas a 48 horas. Após esse período, foi verificado se houve crescimento com produção de gás, confirmativo de coliformes totais. Foi anotado o número de tubos de VB com gás para a determinação do NMP em tabela específica (Anexo A).

3.4.4 Teste confirmativo de coliformes a 45°C (fecais)

A partir de cada tubo de Caldo Verde Brilhante Bile que confirmou coliformes totais, foi transferida uma alçada carregada de cada cultura para tubos de Caldo *E. Coli* (EC). Os tubos foram incubados a 44,5°C por 24 horas e, após esse período, observou-se se houve crescimento com produção de gás, confirmativo de coliformes fecais. A não ocorrência de produção de gás após 24 horas indicou ausência de coliformes fecais na amostra.

3.4.5 Confirmação bioquímica de *Escherichia coli*

Nenhuma amostra foi submetida à confirmação bioquímica de *Escherichia coli*, devido a não confirmação de coliformes a 45°C nos tubos de EC.

4. APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 Parâmetros utilizados

Para a análise dos resultados foi utilizada a tabela de Número Mais Provável, da *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19. ed. APHA, AWWA, WEF, 1995 (BAM, 2003; Silva, *et al.*, 2004) – anexo A - e os parâmetros estabelecidos na Resolução RDC nº 54, de 15 de junho de 2000, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2000) – anexo B.

Segundo a legislação citada anteriormente, as amostras devem ser condenadas no caso de presença de coliformes a 45°C ou *Escherichia coli* em 100 ml de água ou quando o número de coliformes a 35°C for maior que 1,1 NMP em 100 ml (BRASIL, 2000).

É importante ressaltar que, segundo o INMETRO (2006), este tipo de informação é pontual, podendo ficar desatualizada após pouco tempo (cerca de 90 dias). Em vista disso, tanto um produto analisado e julgado adequado para consumo pode tornar-se impróprio, como o inverso, desde que o fabricante tenha ou não tomado medidas imediatas de melhoria da qualidade. Portanto, esses resultados devem servir como uma observação da qualidade microbiológica das águas minerais do DF e o acompanhamento desses produtos deve ser contínuo, visando a obtenção de dados que reflitam a situação atual dos mesmos.

4.2 Agrupamento, ordenação e descrição dos dados coletados

Das vinte amostras de água mineral envasadas, de diferentes marcas, que foram examinadas quanto à contaminação por coliformes totais, coliformes a 45°C e *E.coli*, 01

amostra envasada em galão de 20 litros, oriunda do Núcleo Bandeirante, apresentou coliformes totais. Nessa amostra, a quantidade de coliformes totais (5,1 NMP/100 ml) ultrapassou o limite estabelecido pela legislação vigente, RDC 54/00 do Ministério da Saúde.

Em relação ao total de amostras analisadas, 01 amostra contaminada corresponde a uma ocorrência de 5% enquanto perfaz uma ocorrência de 20% em relação às amostras de mesmo tipo de embalagem (galão de 20 litros).

Tabela 3. Ocorrência de coliformes totais, coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em amostras de água mineral comercializadas no Distrito Federal.

LOCAL DA COLETA	Nº da amostra	Embalagem	RESULTADOS		
			Coliformes totais	Coliformes a 45°C	E. coli
CRUZEIRO	1	COPO 200 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
CRUZEIRO	2	GARRAFA 500 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
CRUZEIRO	3	GARRAFA 1,5 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
CRUZEIRO	4	GALÃO 20 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
TAGUATINGA	5	COPO 200 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
TAGUATINGA	6	GARRAFA 500 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
TAGUATINGA	7	GARRAFA 1,5 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
TAGUATINGA	8	GALÃO 20 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
PLANO PILOTO	9	COPO 200 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
PLANO PILOTO	10	GARRAFA 500 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
PLANO PILOTO	11	GARRAFA 1,5 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
PLANO PILOTO	12	GALÃO 20 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
LAGO SUL	13	COPO 200 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
LAGO SUL	14	GARRAFA 500 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
LAGO SUL	15	GARRAFA 1,5 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
LAGO SUL	16	GALÃO 20 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
NÚCLEO BAND.	17	COPO 200 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
NÚCLEO BAND.	18	GARRAFA 500 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
NÚCLEO BAND.	19	GARRAFA 1,5 L	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml
NÚCLEO BAND.	20	GALÃO 20 L	5,1 NMP/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml	AUSÊNCIA/ 100 ml

Cabe ressaltar que todas as amostras de galões de 20 litros apresentaram vazamento de água pela tampa, demonstrando que não há uma vedação eficiente da embalagem.

4.3 Análise descritiva dos dados

Contaminações da água por dejetos provenientes do homem e de animais, além de solo e vegetais, representam a principal fonte de contaminação da água. Daí desenvolvem-se microrganismos patogênicos que podem transmitir doenças que atingem principalmente o trato gastrintestinal, levando a sintomas que vão desde a uma simples dor de cabeça à tão temida febre tifóide (RICHTER, 1991).

Em estudo realizado em Marília, SP, por Alves *et al.* (2002), verificou-se que a qualidade microbiológica da água mineral daquele estado encontrava-se de acordo com a legislação vigente. Apenas 1 amostra, das 18 analisadas, apresentou coliformes totais (ainda assim dentro dos valores aceitáveis) e nenhuma apresentou contaminação por coliformes a 45°C.

Por outro lado, Amaral *et al.* (2003) em estudos feitos na região nordeste de São Paulo, em fontes de água para consumo, reservatórios e pontos de consumo de 30 propriedades rurais, mostraram contaminação severa em todos os casos. 90% das amostras de águas de fonte, 90% dos reservatórios e 96,7% de água de consumo humano estavam fora dos padrões microbiológicos de potabilidade para água de consumo humano, sendo estas consideradas fatores de risco à saúde dos indivíduos que as utilizam.

Neste mesmo estudo, revelou-se que nenhuma fonte visitada apresentou 100% dos fatores preconizados para a proteção da qualidade da água, conforme pode ser visto na tabela a seguir.

Tabela 4. Percentagens de fontes que apresentavam diferentes fatores de proteção nas 30 propriedades rurais situadas na região nordeste do Estado de São Paulo, Brasil, 2001 (AMARAL, *et al.*, 2003)

Fator de Proteção	%
Calçada ao redor da fonte	70,0
Tampa	83,3
Parede externa acima do solo	80,0
Revestimento interno	83,3
Localização no ponto mais alto do terreno	53,3
Fossa com distância > 30 m	92,8

Esses dados colocam em dúvida a qualidade da água mineral, tendo em vista que a mesma é envasada sem nenhum tipo de tratamento prévio.

Complementando, Sant'Ana *et al.*, (2003), realizaram análises microbiológicas em diferentes marcas de água mineral envasadas, comercializadas em Vassouras – RJ. “A contaminação por coliformes totais e *E. coli*, detectada em 25% e 20,4% das amostras, sugere falhas higiênicas ao longo do processo e contaminação fecal recente”. Ainda nesse estudo, evidenciaram a necessidade da adoção de práticas higiênicas rigorosas em todo o processamento, com o objetivo de obter-se produtos seguros, já que tratamentos não podem ser utilizados visando a redução ou a eliminação da contaminação.

Além disso, Macedo (2001) enfatiza que a presença de coliformes totais em água mineral indica possível contaminação por patógenos.

A presença de coliformes totais não indica necessariamente contaminação de origem fecal, sendo, contudo, um poderoso indicador das condições higiênico-sanitárias do processo. As principais vantagens dos coliformes como indicadores são o fato de se encontrarem normalmente no intestino do homem e animais e serem eliminados em grande quantidade nas fezes (cerca de $3,0 \times 10^8/\text{g}$). Além disso, em função da sua prevalência nos esgotos, podem ser quantificados na água contaminada através de métodos simples (SILVA *et al.*, 2004).

A enumeração de coliformes totais em água é menos representativa como indicação de contaminação fecal do que a enumeração de coliformes fecais ou *E. coli*. Porém, sua enumeração é muito utilizada em indústrias alimentícias, indicando contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos (SILVA, *et al.*, 2004).

Cabrini & Gallo (2001), avaliando a qualidade microbiológica de fontes de águas minerais, observaram que, de 30 amostras coletadas diretamente do aquífero, somente em duas foram detectados coliformes totais, enquanto que de 30 amostras coletadas após o engarrafamento (galões de 10 litros), oito estavam contaminadas por coliformes totais. Tal fato indica falhas nas boas práticas de fabricação e da planta de processamento, no que concerne aos procedimentos de limpeza e sanificação, captação e embalagem. Segundo Cabrini & Gallo (2001), os galões retornáveis são possíveis fontes de contaminação do produto quando a sua inspeção, limpeza e desinfecção são negligenciados. Dessa forma, alguns controles devem ser adotados visando reduzir a possibilidade de contaminação da água pelos galões, como a avaliação individual das embalagens retornáveis, rejeição daquelas com defeitos que possam comprometer a qualidade ou segurança do produto (cabendo aqui as embalagens com tampas que

permitem vazamentos), a desinfecção das embalagens e tampas e o cuidado com o transporte e armazenamento das embalagens.

Uma das alternativas para a desinfecção de galões de 20 litros de água mineral é a utilização do ozônio (4mg/L). Cardoso *et al.* (2003), em estudo realizado em Campinas, SP, demonstraram que os galões sem tratamento apresentaram 192,53 NMP/ 100 ml de coliformes totais, enquanto os galões analisados após a sanificação utilizando-se ozônio não apresentaram coliformes. Além disso, foi evidenciada uma diminuição bastante significativa no número de aeróbios mesófilos e a negatização das ocorrências de *Escherichia coli*.

Todavia, os microrganismos presentes na água engarrafada podem fazer parte da microbiota inicial antes de sua captação (VARNAM & SUTHERLAND, 1994). Tais microrganismos podem não só causar problemas do ponto de vista de saúde pública, como também deteriorar o produto, alterando sua cor e sabor (SANT'ANA *et al.*, 2003). Porém, a contaminação microbiológica da água mineral pode ser específica de uma dada fonte (BISCHOFBERGER *et al.*, 1990).

5. CONCLUSÃO

A água mineral deve apresentar qualidade que garanta ausência de riscos à saúde do consumidor, devendo ser processada e envasada obedecendo as condições higiênico-sanitárias e as boas práticas de fabricação. Nenhuma fase do processo deve alterar sua composição original.

A partir desse conceito, o presente estudo teve caráter exploratório e observacional, atingindo o objetivo proposto. O estudo transversal não permite cálculo de risco nem inferência causal. Porém, é rápido, de menor custo e possibilita a verificação da ocorrência do evento (TOLEDO, 2006). Nesse caso, foi possível a obtenção de um resultado indicativo de contaminação por coliformes totais em 01 das amostras, confirmando a expectativa do uso de condições higiênicas insatisfatórias durante o processo das águas minerais, especialmente as envasadas em galões de 20 litros.

Tendo em vista que esse tipo de galão é o recipiente mais utilizado no envase das águas minerais e que são mais sujeitos à contaminação devido à sua reutilização, é necessário que passem por inspeção visual e posteriormente por sanificação.

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que 5% das amostras apresentaram contaminação por coliformes totais, estando em desacordo com os padrões microbiológicos legais e sugerindo condições higiênico-sanitárias deficientes; e que todas as amostras apresentaram qualidade satisfatória no que se refere à contaminação por coliformes a 45°C e *Escherichia coli*;

Sugere-se que, para estudos futuros, seja realizada uma amostragem representativa específica de águas minerais envasadas em galões de 20 litros.

As principais limitações da utilização dos coliformes como indicadores são o fato de os métodos de detecção serem sujeitos a falsos resultados negativos por interferência de

Pseudomonas e falsos positivos por ação sinérgica de outras bactérias (SILVA *et al.*, 2004).

Tendo em vista que nenhum indicador é perfeito e aqueles destinados a determinar a contaminação fecal certamente não funcionam adequadamente como indicadores de poluição de outras origens, os coliformes e outros indicadores fecais devem ser suplementados com indicadores adicionais que compensem a ineficiência destes no monitoramento da poluição diversificada. Portanto, outra sugestão é a utilização de microrganismos indicadores de condições higiênicas insatisfatórias, tais como bactérias heterotróficas, vírus, leveduras, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, como suplemento às análises, pois estes têm se demonstrado eficientes para tal fim (MACEDO, 2001).

Os resultados obtidos indicaram a necessidade de se conduzir a extração, o processamento, a embalagem e a estocagem da água mineral sob rigorosas práticas higiênicas (boas práticas de fabricação), de forma a prevenir ou minimizar quaisquer fontes potenciais de contaminação microbiológica do produto, já que os tratamentos visando a redução ou a eliminação da contaminação microbiológica não são permitidos.

Além disso, julga-se necessária a adoção do sistema APPCC, como maneira de obter-se águas minerais seguras para o consumo humano, com a qualidade e estabilidade desejadas, a partir do controle de cada fase do processo e não apenas o controle através de inspeção do produto final.

6. REFERÊNCIAS

1. ABINAM. Associação Brasileira das Indústrias de Água Mineral. 2002. Disponível em <<http://www.abinam.com.br>>. Acesso em: 20 de out. 2005.
2. ALVES, N. C.; ODORIZZI, A. C., GOULART, F. C. **Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP.** Rev. Saúde Pública 2002; 36 (6): 749-51.
3. AMARAL, L. A.; NADER, A.; ROSSI, O. D.; FERREIRA, F. L. A., BARROS, L. S. S. **Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais.** Rev. Saúde Pública 2003; 37 (4); 510-4.
4. AREAL, A. C. B. **Brasília: regiões administrativas.** 2006. Disponível em <<http://www.geocities.com/TheTropics/3416/regioes.htm>>. Acesso em 13 de jan. 2006.
5. BAM, Bacteriological analytical manual. 2003. Appendix 2: **Most probable number determination for serial dilutions.** 8 th edn. Disponível em <<http://www.cfsan.fda.gov>> Acesso em 26 de fev. 2006.
6. BISCHOFBERGER, T. CHA, S. K.; SCHMITT, R.; KONIG, B.; SCHMIDT-LORENZ, W. **The bacterial flora of non-carbonated, natural mineral water from the springs to reservoir and glass and plastic bottles.** Journal of Food Microbiology, 1990, v. 11, p. 51-72.
7. BRASIL. Ministério da Saúde, ANVISA. **Resolução RDC nº 54, de 15 de junho de 2000.**
8. BUZETTI, A. R. **Água mineral tem diversidade de embalagens.** Revista O engarrafador moderno, p. 38, Jan/Fev, 1998 apud MACEDO, J. A. B. **Águas e águas.** São Paulo: Livraria Varela, 2001.
9. CABRINI, K. T.; GALLO, C. R. Microbiological quality of spring mineral water and bottled mineral water. Congresso Brasileiro de Microbiologia, 11, Foz do Iguaçu, 2001, p. 412.
10. CARDOSO, C. C.; VEIGA S. M.; NASCIMENTO L. C.; FIORINI, J. E.; AMARAL, L. A. **Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com utilização do ozônio.** Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2003; 23 (1).

11. CARDOSO, L. **Qualidade dos alimentos comercializados no Distrito Federal**. 2002. 79 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade de Brasília, Brasília, 2002 apud OPAS/ INPPAZ/ OMS. **Guia de Sistemas de Vigilância das Enfermidades Transmitidas por Alimentos (VETA) e a Investigação de Surtos**. Argentina, p. 185-189, 2001.
12. CETESB (Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Ambiental). **Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais**. São Paulo: 1997.
13. CETESB (Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Ambiental). **Exame microbiológico da água: processos simplificados**. São Paulo: 1991. 98 p.
14. DNPM. Departamento Nacional de Produção Mineral. **Anuário Mineral Brasileiro**. 2005. Disponível em <<http://www.dnpm.gov.br>>. Acesso em 12 de jan. 2006.
15. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. 2006. Disponível em <<http://www.inmetro.gov.br>>. Acesso em 24 de fev. 2006.
16. MACEDO, J. A. B. **Águas e águas**. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
17. PONTIUS, F. W. **Water quality and treatment: a handbook of community water supplies**. American Water Association. 4 th ed. United States: 1990.
18. RICHTER, C. A.; NETO , J. M. A. Tratamento de água – tecnologia atualizada. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 1991.
19. RS-IMPrensa, **Qualidade nas águas minerais**. 1999. Disponível em: <<http://www.rs-imprensa.com.br>>. Acesso em 15 de out. 1999 apud MACEDO, J. A. B. **Águas e águas**. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
20. SANT´ANA, A. S.; SILVA, S.C. F. L.; FARANI, I. O.; AMARAL, C. H. R.; MACEDO, V. F. **Qualidade microbiológica de águas minerais**. Rev. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 23 (supl): 190-194, dez. 2003.
21. SILVA, N.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

22. SILVA, N.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de água**. Campinas: ITAL/ Núcleo de Microbiologia, 2004.
23. TOLEDO, A. **Estudos epidemiológicos**. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina – Unifenas – Centro de Pós Graduação. Disponível em <<http://www.feluma.org.br/cpgfcm/bioetica/02.ppt>>. Acesso em: 13 de jan. 2006.
24. UNIVERSIDADE DA ÁGUA. **Água mineral**. 2006. Disponível em <<http://www.uniagua.org.br>> Acesso em: 16 de jan. 2006.
25. VAITSMAN, D. S.; VAITSMAN, M. S. **Água mineral**. Rio de Janeiro: Interciência, 2005.
26. VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas: tecnologia, química y microbiología** (série alimentos básicos 2). Acribia. Zaragoza, 1994.
27. WHO. World health organization. 2000. Disponível em <<http://www.who.int/>> Acesso em: 14 de dez. 2005.

7. ANEXOS

Anexo A - Tabela de NMP para 10 tubos com 10 ml de inoculo (BAM, 2003).

Table 5. For 10 tubes at 10 ml inocula, the MPN per 100 ml and 95 percent confidence intervals.

Pos. tubes	MPN/100ml	Conf. lim.	
		Low	High
0	<1.1	-	3.3
1	1.1	.05	5.9
2	2.2	.37	8.1
3	3.6	.91	9.7
4	5.1	1.6	13
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.9	33
9	23	8.1	53
10	>23	12	-

Anexo B - RESOLUÇÃO - RDC Nº. 54, DE 15 DE JUNHO DE 2000 – ANVISA - MS

Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral Natural e Água Natural.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVS aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 abril de 1999, c/c o § 1º do Art. 95 do Regimento Interno aprovado pela Resolução nº1, de 26 de abril de 1999, em reunião realizada em 14 de junho de 2000, adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação.

Art. 1º Aprovar o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água mineral natural e água natural, constante do anexo desta Resolução.

Art. 2º As empresas têm o prazo de 180(cento e oitenta) dias, a contar da data da publicação desta Resolução, para se adequarem ao mesmo.

Art. 3º O descumprimento desta Resolução constitui infração sanitária sujeitando os infratores às penalidades da Lei nº. 6.437, de 20 de agosto de 1977 e demais disposições aplicáveis.

Art. 4º Esta Resolução de Diretoria Colegiada entrará em vigor na data de sua publicação.

Art. 5º Fica revogada a Resolução nº. 310-ANVS, de 16 de julho de 1999 - Água Mineral Natural e Água Natural.

GONZALO VECINA NETO

ANEXO

REGULAMENTO TÉCNICO PARA FIXAÇÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE ÁGUA MINERAL NATURAL E ÁGUA NATURAL

1. ALCANCE

1.1. Objetivo: fixar a identidade e as características mínimas de qualidade a que devem obedecer as águas minerais naturais e as águas naturais.

1.2. Âmbito de aplicação: aplica-se às águas minerais naturais e águas naturais envasadas, conforme definidas no item 2.1.

2. DESCRIÇÃO

2.1. Definições

2.1.1. Água mineral natural: água obtida diretamente de fontes naturais ou artificialmente captadas, de origem subterrânea, caracterizada pelo conteúdo definido e constante de sais minerais (composição iônica) e pela presença de oligoelementos e outros constituintes.

2.1.2. Água natural: água obtida diretamente de fontes naturais ou artificialmente captadas, de origem subterrânea, caracterizada pelo conteúdo definido e constante de sais minerais (composição iônica), e pela presença de oligoelementos e outros constituintes, mas em níveis inferiores aos mínimos estabelecidos para água mineral natural.

2.2. Classificação

2.2.1. Quanto à composição química: devem obedecer à classificação estabelecida em legislação específica.

2.2.2 Quanto à adição de dióxido de carbono:

2.2.2.1. Água sem gás: água mineral natural ou água natural à qual não foi adicionada de dióxido de carbono.

2.2.2.2. Água gaseificada artificialmente: água mineral natural ou água natural à qual foi adicionada de dióxido de carbono.

2.3. Designação

produto é designado de "Água Mineral Natural" ou "Água Natural", conforme item 2.1., podendo ser acrescida de sua classificação química.

3. REFERÊNCIAS

3.1. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th .ed. Baltimore, Maryland, USA, APHA, AWWA, WEF, 1995.

- 3.2. BRASIL. Decreto-Lei nº 7.841 de 8 de Agosto de 1945. Código de Águas Minerais. Diário Oficial da União, Rio de Janeiro, 20 Ago. 1945. Seção 1, pt. 1.
- 3.3. BRASIL. Portaria no 805 de junho de 1978. Aprova rotinas operacionais pertinentes ao controle e fiscalização sanitária das águas minerais. Diário Oficial da União, Brasília, 12 de junho de 1978. Seção 1, pt. 1.
- 3.4. BRASIL. Portaria nº. 231, de 31 de julho de 1998. Estabelece metodologia de estudos necessários à definição de áreas de proteção de fontes, balneários e estâncias de águas minerais e potáveis de mesa. Diário Oficial da União, Brasília, n. 150, 7 ago. 1998. Seção 1, pt. 1, p. 103.
- 3.5. BRASIL. Portaria nº. 36 de 19 de janeiro de 1990. Aprova normas e padrão de potabilidade de água destinada ao consumo humano. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de janeiro de 1990. Seção 1, pt.1.
- 3.6. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. Portaria nº. 1628, de 4 de dezembro 1984. Institui as características básicas dos rótulos nas embalagens de águas minerais e potáveis de mesa. Diário Oficial da União, Brasília, 5 dez. 1984. Seção 1, pt.1, p. 18083.
- 3.7. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. Portaria nº. 159, de 1 de Abril de 1996. Estabelece a documentação necessária para importação e comercialização da água mineral de procedência estrangeira. Diário Oficial da União, 10 abr. 1996.
- 3.8. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. Portaria nº. 222, de 28 de julho de 1997. Estabelece especificações técnicas para o aproveitamento das águas minerais e potáveis de mesa. Diário Oficial da União, Brasília, n. 151, 8 ago. 1997. Seção 1, pt. 1, p. 17095.
- 3.9. MINISTRY OF ENVIRONMENT AND ENERGY. Ontario Drinking Water Objectives. Revised, 1994. Ontario, Queen`s Printer for Ontario, 1994.v+68p.
- 3.10. World Health Organization. Guidelines for drinking water quality - Health criteria and other information. 2. Ed. Geneva: WHO, 1996. vol. 2, p. 973.
- 3.11. World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations. Codex Alimentarius Commission. Draft Revised Standard for Mineral Water at Step 8 - ALINORM 97/20 Appendix II Geneva, June, 1997. 24 p.
- 3.12. World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations. Proposed draft international code of hygienic practice for packaged (bottled) drinking water. Alinorm 99/13. Appendix V.p. 65-72.
- 3.13. World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations Norma del Codex para las aguas minerales naturales. Codex Stan 108-1981. 5p.
4. COMPOSIÇÃO E REQUISITOS
- 4.1. Composição
- 4.1.1. Ingredientes obrigatórios: água mineral natural ou água natural
- 4.1.2. Ingrediente opcional: dióxido de carbono
- 4.2. Requisitos
- 4.2.1. Características sensoriais, físicas, químicas e físico-químicas
- 4.2.1.1. Aspecto: límpido
- 4.2.1.2. Cor: máximo 5 uH (unidade de escala de Hazen)
- 4.2.1.3. Turbidez: máximo 3,0 uT (unidade Jackson ou nefelométrica de turbidez)
- 4.2.1.4. Odor: característico
- 4.2.1.5. Sabor: característico
- 4.2.1.6. A água mineral natural ou água natural deve ser coletada sob condições que garantam a manutenção das características originais da água emergente da fonte ou poço. Essas características devem permanecer estáveis dentro dos limites naturais de flutuação, não devendo apresentar influência direta de águas superficiais..
- 4.2.1.7. Quando envasadas, devem apresentar composição química equivalente à da água emergente da fonte ou poço, tal como definidas nos exames químicos e físico-químicos efetuados por autoridade competente

4.2.1.8. As operações autorizadas que venham a ser submetidas, tais como: captação, decantação, adução (canalização), elevação mecânica, armazenamento, filtração, envase, adição de dióxido de carbono, não devem alterar os elementos de sua composição original.

4.2.2. Acondicionamento

A água mineral natural e a água natural devem ser envasadas dentro da área autorizada pela autoridade competente, de acordo com a legislação específica.

5. ADITIVOS E COADJUVANTES DE TECNOLOGIA DE ELABORAÇÃO

Não é permitida a utilização de aditivos intencionais e coadjuvantes de tecnologia.

6. CONTAMINANTES

6.1. Não devem conter concentrações acima dos limites máximos permitidos das substâncias relacionadas a seguir:

Antimônio	0,005 mg/L (Sb)
Arsênio	0,05 mg/L, calculado como arsênio (As) total
Bário	1 mg/L (Ba)
Borato	5 mg/L, calculado como boro (B)
Cádmio	0,003 mg/L (Cd)
Cromo	0,05 mg/L, calculado como cromo (Cr) total
Cobre	1mg/L (Cu)
Cianeto	0,07 mg/L (CN)
Chumbo	0,01 mg/L (Pb)
Manganês	2 mg/L (Mn)
Mercúrio	0,001 mg/L (Hg)
Níquel	0,02 mg/L (Ni)
Nitrato	50 mg/L, calculado como nitrato
Nitrito	0,02 mg/L, calculado como nitrito
Selênio	0,05 mg/L (Se)

6.2. Outros contaminantes: a análise de outros contaminantes poderá ser solicitada a critério da autoridade competente.

7. HIGIENE

7.1. Considerações gerais

As águas minerais naturais e águas naturais devem ser captadas, processadas e envasadas obedecendo as condições higiênico-sanitárias e Boas Práticas de Fabricação fixadas em legislação específica, além disso:

- as embalagens a serem utilizadas, novas ou retornadas para um novo ciclo de uso, devem ser submetidas à avaliação individual. As embalagens com amassamentos, rachaduras, ranhuras, remendos, deformações do gargalo e ou com alterações de odor e cor devem ser rejeitadas. Caso a alteração indicar possível risco à saúde, a embalagem deve ser destruída;
- na circulação de embalagens, da lavagem até o fechamento, não é permitido o transporte manual;
- as saídas das máquinas lavadoras de embalagens devem estar posicionadas o mais próximo possível da sala de envase, para evitar que embalagens já lavadas circulem em ambiente aberto;
- para efeito de desinfecção nas lavadoras de recipientes, após o enxágüe com desinfetante de comprovada eficácia, enxaguar com a água a ser envasada. Deve ser comprovada a eficiência do processo de lavagem;

- e) o envase e o fechamento das embalagens devem ser efetuados por máquinas automáticas, sendo proibido o processo manual;
- f) as tampas das embalagens devem ser previamente desinfetadas;
- g) todas as máquinas, equipamentos e utensílios que entrem em contato com a água devem ser submetidos a higienização e manutenção periódica; e
- h) a rotulagem das embalagens deve ser feita fora da área de envase.

7.2. Características microbiológicas

Na fonte, poço ou local de surgência e na sua comercialização, a água mineral natural e a água natural não devem apresentar risco à saúde do consumidor (ausência de microrganismos patogênicos) e estar em conformidade com as características microbiológicas descritas abaixo:

Microrganismo	Amostra indicativa limites	Amostra representativa			
		n	c	m	M
E. coli ou coliforme (fecais) termotolerantes, em 100 mL	Ausência	5	0	-.-	Ausência
Coliformes totais, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP
Enterococos, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP
Pseudomonas aeruginosa, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP
Clostrídios sulfito redutores ou C. perfringens, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP

n: é o número de unidades da amostra representativa a serem coletadas e analisadas individualmente.

c: é o número aceitável de unidades da amostra representativa que pode apresentar resultado entre os valores "m" e "M".

m: é o limite inferior (mínimo) aceitável. É o valor que separa uma qualidade satisfatória de uma qualidade marginal. Valores abaixo do limite "m" são desejáveis.

M: é o limite superior (máximo) aceitável. Valores acima de "M" não são aceitos.

NOTA

1. Sempre que se tratar de avaliação de lotes e ou partidas, deverá ser coletada a amostra representativa, em cumprimento aos dispositivos legais vigentes. Exceção para as atividades que requeiram amostragem para investigação (relacionada com suspeita ou com identificação de problemas no lote e ou partida, para sua respectiva confirmação ou verificação da sua natureza e sua extensão ou ainda para informações sobre as possíveis fontes de problema) ou que requeiram inspeções rígidas (planos estatísticos com maior poder de discriminação de falhas);

2. A análise das unidades da amostra representativa deve ser feita usando-se o mesmo volume recomendado para a amostra indicativa. Na caracterização microbiológica da água ou do lote examinado devem ser considerados os resultados da amostra representativa.

7.2.1. Em relação a amostra indicativa

7.2.1.1. A amostra é condenada (rejeitada) quando for constatada a presença de E. coli ou coliformes (fecais) termotolerantes ou quando o número de coliformes totais e ou enterococos e

ou *Pseudomonas aeruginosa* e ou clostrídios sulfito redutores ou *C. perfringens* for maior que o limite estabelecido para amostra indicativa.

7.2.1.2. Deve ser efetuada a análise da amostra representativa quando na amostra indicativa for detectada a presença de *E. coli* ou coliformes (fecais) termotolerantes e ou o número de coliformes totais e ou enterococos e ou *Pseudomonas aeruginosa* e ou clostrídios sulfito redutores e ou *C. perfringens* for maior que o limite estabelecido para amostra indicativa.

7.2.2. Em relação a amostra representativa

7.2.2.1. O lote e ou partida é aprovado quando houver ausência de *E. coli* ou coliformes (fecais) termotolerantes em todas as unidades da amostra representativa, nenhuma unidade da amostra representativa apresentar contagem de coliformes totais, enterococos, *Pseudomonas aeruginosa* e clostrídios sulfito redutores e ou *C. perfringens* maior que "M" e no máximo uma unidade da amostra representativa apresentar contagem de coliformes totais, enterococos, *Pseudomonas aeruginosa* e clostrídios sulfito redutores e ou *C. perfringens* entre os valores "m" e "M".

7.2.2.2. O lote e ou partida será rejeitado, quando:

a) for constatada a presença de *E. coli* ou coliformes (fecais) termotolerantes em qualquer das unidades da amostra representativa; ou

b) apresentar contagem de coliformes totais e ou enterococos e ou *Pseudomonas aeruginosa* e ou clostrídios sulfito redutores e ou *C. perfringens* em qualquer uma das unidades da amostra representativa, maior que "M"; ou

c) apresentar contagem de coliformes totais e ou enterococos e ou *Pseudomonas aeruginosa* e ou clostrídios sulfito redutores e ou *C. perfringens* em mais de uma unidade da amostra representativa, maior que "m".

8. PESOS E MEDIDAS

Devem obedecer à legislação específica.

9. ROTULAGEM

9.1. Devem obedecer ao Regulamento Técnico específico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados.

9.2. Devem, constar, obrigatoriamente, no rótulo, de forma clara, destacada e precisa, as seguintes declarações:

a) "Contém Fluoreto", quando o produto contiver mais que 1 mg/L de fluoreto;

b) "O produto não é adequado para lactentes ou crianças com até sete anos de idade", quando o produto contiver mais que 2 mg/L de fluoreto;

c) "Fluoreto acima de 2 mg/L, para consumo diário, não é recomendável", quando o produto contiver mais que 2 mg/L de fluoreto;

d) "Com gás" ou "gaseificada artificialmente" quando o produto for adicionado de dióxido de carbono.

e) "Contém sódio", quando o produto contiver mais de 200 mg/L de sódio;

9.3. Opcionalmente, pode ser utilizada a expressão "Sem gás", quando não for adicionado de dióxido de carbono.

10. MÉTODOS DE ANÁLISE

A avaliação da identidade e qualidade deverá ser realizada de acordo com os métodos de análise adotados e ou recomendados pela International Organization for Standardization (ISO), pela American Public Health Association (APHA), pelo Bacteriological Analytical Manual (BAM), pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) e pela comissão do Codex Alimentarius e seus comitês específicos, até que venham a ser aprovados métodos de análises pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

11. AMOSTRAGEM

11.1. Só serão aceitas para análise amostras acondicionadas em embalagem original, a menos que tenham sido coletadas diretamente da fonte ou poço ou nos diferentes pontos de amostragem instalados na linha de envasamento;

11.2. A amostra, para fins de análise microbiológica, é composta pelo número de unidades suficientes para constituir o volume mínimo estabelecido para análise;

11.3. Sempre que necessário, outras determinações analíticas podem ser realizadas para a elucidação ou prevenção de problemas de saúde pública;

11.4. A análise microbiológica deve ser precedida de inspeção visual e não será efetuada quando a água envasada estiver em embalagem inadequada ou apresentar sinais de violação ou vazamento;

11.5. Quando a amostra for coletada na fonte, deve constar a temperatura da água na surgência e ou captação, assim como hora e data da amostragem, além das demais informações pertinentes;

11.6. As amostras coletadas na fonte ou poço devem ser analisadas preferencialmente de imediato ou, no máximo, até 24 horas após a coleta. Nesse caso, as amostras destinadas à análise microbiológica devem ser mantidas sob refrigeração até o momento das análises;

11.7. O número mínimo de amostras e a frequência mínima de amostragem a ser efetuada pela indústria de água mineral natural ou água natural deve obedecer aos planos de amostragem descritos nas Tabela 1 e Tabela 2;

11.8. Os resultados das análises realizadas nas amostras coletadas segundo os itens 11.2 e 11.3 devem estar à disposição para avaliação das autoridades competentes.

Tabela 1. Número mínimo de amostras e frequência mínima de amostragem para determinação das características microbiológicas na fonte ou poço e no final da linha de produção, a ser efetuada, obrigatoriamente, pela empresa envasadora.

Local de coleta	Número mínimo de amostras a serem analisadas	Análises a serem realizadas
Fonte ou Poço	1 amostra por dia	E. coli ou coliformes (fecais) termotolerantes, Contagem de bactérias heterotróficas (contagem padrão em placas)
	1 amostra por trimestre	Coliformes totais, E. coli ou coliformes (fecais) termotolerantes, Enterococos, Pseudomonas aeruginosa e Clostrídios sulfito redutores ou C. perfringens
Final da Linha de Produção	2 amostras por dia	E coli ou coliformes (fecais) termotolerantes, Pseudomonas aeruginosa
	1 amostra por semana	Coliformes totais, E.coli ou coliformes (fecais) termotolerantes, Enterococos, Pseudomonas aeruginosa

Tabela 2. Número mínimo de amostras e frequência mínima de amostragem para determinação das características físico-químicas e químicas na fonte ou poço e no final da linha de produção a ser efetuada, obrigatoriamente, pela Empresa envasadora:

Local de coleta	Nº. mínimo de amostras a serem examinadas	Característica
Fonte ou Poço	1 por dia	Condutividade pH Temperatura
Final da Linha de Produção	2 por dia	Condutividade
	1 por ano	Características químicas, que definem a classificação da água e contaminantes