

ANÁLISE DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL NATURAL

ANALYSIS INDICATORS OF MICROBIOLOGY IN SAMPLES OF NATURAL MINERAL WATER

INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM ÁGUA MINERAL

Artigo Original

Renata de Carvalho Albano¹
Lisiane Lange da Silva²
Fábio Branco Godinho de Castro³

RESUMO

A água mineral natural envasada é amplamente consumida pela população e deve ser colocada no mercado após a garantia da sua qualidade. No Brasil a qualidade microbiológica para água mineral natural é estabelecido pela RDC nº. 275, de 22 de setembro de 2005, que estabelece análise de indicadores como Coliformes totais e *Escherichia coli*. Sabe-se que devido à dificuldade em analisar e avaliar a presença de todos os microrganismos na água, a técnica utilizada é a de verificar a presença de organismos indicadores de contaminação. O objetivo do artigo foi avaliar a qualidade microbiológica através dos indicadores Coliformes totais e *Escherichia coli* em 3 diferentes marcas de água mineral natural comercializadas em Curitiba-PR. Foram analisadas 15 amostras de água mineral natural sem gás, em embalagens poliméricas de 510 mL, distribuídas em 3 marcas distintas, comercializadas em Curitiba-PR.

As amostras foram selecionadas durante o período de Julho de 2012. A técnica utilizada foi a membrana filtrante através da quantificação dos indicadores por unidades formadoras de colônias (UFC) em 100 mL de amostra filtrada. Nos resultados obtidos, uma amostra apresentou resultado insatisfatório com contagem superior a 1,0 UFC/100 mL de Coliformes totais, apresentando desacordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira. . A presença de Coliformes totais na amostra indica deficiência nas condições higiênicas, portanto percebe-se que ocorrem falhas de higienização durante o processamento dos produtos, necessitando de uma educação continuada com os funcionários e uma maior atenção na fiscalização.

ABSTRACT

The bottled natural mineral water is widely consumed by the population and should be placed on the market after ensuring their quality. In Brazil for microbiological quality natural mineral water is established by RDC. 275 of 22 September 2005 establishing analysis indicators such as total coliforms and *Escherichia coli*. It is known that due to the difficulty in analyzing and assessing the presence of all microorganisms in the water, the technique is to verify the presence of indicator organisms contamination. The objective was to evaluate the microbiological quality indicators through Total coliforms and *Escherichia coli* in 3 different brands of natural mineral water marketed in Curitiba-PR. We analyzed 15 samples of natural mineral water without gas in polymeric packaging of 510 ml, divided into 3 distinct brands, marketed in Curitiba-PR. The samples were selected during the period July 2012. The technique used was a filter membrane through the quantification of the indicators by colony forming units (CFU) in 100 mL of filtered sample. In the results obtained, a sample count showed unsatisfactory results with greater than 1.0 cfu/100 ml of Coliform bacteria, showing disagreement with the microbiological standards established by Brazilian legislation. . The presence of Coliform bacteria in the sample indicates deficiency in hygienic conditions, so it is clear that failures occur during processing of cleaning products, requiring continuing education for employees and greater attention in the audit.

DESCRITORES: água mineral; indicadores microbiológicos; Coliformes totais; *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

A qualidade da água é fundamental para o bem estar da população. Uma água de má qualidade quando ingerida pode provocar o surgimento de algumas enfermidades ^(1,2). Segundo dados publicados em 2011, na Confederação Nacional dos Municípios, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que pelo menos 2 milhões de pessoas, principalmente crianças, morrem por ano, devido à doenças causadas pela água contaminada⁽³⁾.

O tratamento da água tornou-se uma das principais preocupações da sociedade moderna e possibilitou a evolução de sistemas de tratamento, análise e controle que atendam as condições mínimas de qualidade para garantir as necessidades de uma boa saúde ⁽⁴⁾.

A água utilizada para consumo humano é a água potável destinada a ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal ⁽⁵⁾. A água mais utilizada para ingestão é a do tipo mineral que é caracterizada pelo conteúdo definido e constante de sais minerais e pela presença de oligoelementos e outros constituintes ⁽⁶⁾.

A água mineral natural envasada é amplamente consumida pela população brasileira e deve ser colocada no mercado após a garantia da sua qualidade, pois ela favorece o crescimento microbiano e se não estiver em conformidade com as condições higiênicas sanitárias e boas práticas de fabricação, pode apresentar risco à saúde do consumidor ⁽⁷⁾.

No Brasil a qualidade microbiológica para água mineral natural envasada é estabelecido pela Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº. 275, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na qual estabelece análise de indicadores como Coliformes totais e *Escherichia coli* ⁽⁸⁾. Sabe-se que devido à dificuldade em analisar e avaliar a presença de todos os microrganismos na água, a técnica utilizada é a de verificar a presença de organismos indicadores de contaminação, pois sua presença, apontaria o contato com matéria de origem fecal (humana ou animal), e portanto o risco potencial da presença de patógenos ⁽⁹⁾.

A detecção de bactérias em amostras de água é extremamente difícil, em razão de suas baixas concentrações ⁽¹⁰⁾. Para atender a necessidade das análises, existem técnicas disponíveis que permitem o isolamento e identificação dos microrganismos. A técnica mais comumente utilizada é a dos tubos múltiplos (TM) ou método da diluição, que o resultado é obtido em número mais provável (NMP) de organismos em 100 mL de amostras, portanto é uma técnica que enfatiza a estimativa, baseada em certa probabilidade estatística ^(11,12). A técnica mais moderna atualmente é a membrana filtrante (MF), que o resultado é obtido em unidades formadoras de colônias (UFC), é altamente reprodutível e pode ser usada para testar grandes volumes de amostras produzindo resultados mais rápidos se comparado ao processo dos tubos múltiplos. A técnica de MF é extremamente útil no controle de água potável e uma variedade de águas naturais ⁽¹³⁾.

A presença de Coliformes totais na água indica deterioração da sua qualidade, além de evidenciar risco potencial da existência de organismos patogênicos. Contrariamente, a partir da ausência deste grupo de microrganismos pode considerar a água bacteriologicamente potável ⁽¹⁴⁾. Bactérias do grupo dos Coliformes totais em geral são anaeróbios facultativos, bastonetes gram-negativos e não formadores de esporos ⁽¹⁵⁾. Além disso, no meio de cultura ENDO Agar desenvolvem colônias vermelhas com reflexo metálico (verde metalizado) após 24 horas de incubação ($35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) ⁽¹³⁾. No entanto algumas colônias atípicas deste grupo podem ser encontradas, caracterizadas por colônias nucleadas sem brilho metálico, mucóide e com coloração vermelho escuro ⁽¹³⁾.

A espécie *Escherichia coli* pertencem ao grupo de Coliformes fecais que estão no grupo dos Coliformes totais, apresentando semelhantes características morfológicas, porém capazes de fermentar a lactose com produção de gás, após incubação em meio enriquecido com lactose (24 horas a $44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) sendo identificada pela coloração azul, em meio m-FC Agar, na técnica utilizada ^(13,15). Atualmente sabe-se, entretanto, que o grupo de Coliformes fecais inclui 3 gêneros, sendo eles *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos incluem cepas de origem não fecal, portanto sem interesse em ser analisado como indicador microbiológico ⁽¹⁴⁾.

Observa-se que hoje por motivo de desconfiança na procedência da água fornecida pela rede pública e pela falta de tempo das pessoas, o antigo filtro cerâmico vem sendo substituído por outras embalagens plásticas, em ambientes como escolas, residências, empresas e escritórios^(16,17). Portanto a água deve ser colocada no mercado após a garantia da sua qualidade, pois ela oferece risco à saúde do consumidor⁽¹⁸⁾.

O presente artigo tem por objetivo avaliar a qualidade microbiológica através de indicadores como Coliformes totais e *Escherichia coli* em três diferentes marcas de água mineral comercializadas em Curitiba-PR.

METODOLOGIA

Foram selecionadas 15 amostras de água mineral natural sem gás, envasadas em embalagens poliméricas de 510 mL, de 3 marcas comerciais diferentes denominadas A, B e C e com lotes distintos denominados de 1 a 5. As amostras foram adquiridas de forma aleatória nos supermercados da cidade de Curitiba-PR, no mês de julho de 2012.

Todas as análises foram realizadas no LATAM Laboratório de Análises Toxicológicas e Ambientais em parceria com as Faculdades Integradas do Brasil (UNIBRASIL).

Primeiramente, foram observadas as características como validade, lacre e integridade da embalagem. Posteriormente o ensaio microbiológico foi realizado utilizando a técnica da membrana filtrante, que é recomendada pelo Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater, 21 ed (2005).

Com o auxílio de uma bomba à vácuo foram filtrados 100 mL das amostras através de membranas de acetato de celulose estéreis de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade. A membrana foi removida de forma asséptica do equipamento de filtração e disposta sobre os dois meios de cultura, o Ágar m-Endo e o Ágar m-FC. Cada lote de água mineral foi filtrada duas vezes para obter duas membranas para serem inseridas sobre dois diferentes meios de cultura. Para pesquisa de Coliformes totais, a membrana foi inserida sobre placa de Petri contendo o meio de cultura m-Endo, e incubadas a 35°C por 24 horas em estufa

microbiológica. Para pesquisa de *Escherichia coli* a membrana foi inserida sobre um segundo meio de cultura contendo ágar m-FC e incubada a 44,5°C por 24 horas em estufa microbiológica⁽¹³⁾.

Após o período de incubação foi realizada a contagem visual das colônias de bactérias (típicas e atípicas de Coliformes). Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) em 100 mL de amostra analisada⁽¹³⁾.

A validação do método foi realizado com o controle negativo, realizando a incubação das placas preparadas com os meios de cultura Ágar m-Endo e o Ágar m-FC, nas mesmas condições de temperatura das amostras, porém sem inoculação das mesmas.

Os resultados foram analisados e confrontados com a legislação vigente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados na tabela 1, considerando as letras A, B e C referente às três diferentes marcas de água mineral natural e os números 1, 2, 3, 4 e 5 aos 5 lotes distintos de cada marca, totalizando assim 15 amostras analisadas, que foram representadas como A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, B4, B5 e C1, C2, C3, C4 e C5. Os parâmetros utilizados para análise foram os indicadores microbiológicos, Coliformes totais e *Escherichia coli*, expressos em unidades formadoras de colônias em 100 mililitros (UFC/100mL) de amostra analisada.

Tabela 1: Resultados obtidos da análise microbiológica da água mineral natural

Amostras	Coliformes totais (UFC/100mL)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/100mL)
A1	< 1,0	Ausência
A2	< 1,0	Ausência
A3	< 1,0	Ausência
A4	< 1,0	Ausência

Cadernos da Escola de Saúde

A5	< 1,0	Ausência
B1	< 1,0	Ausência
B2	< 1,0	Ausência
B3	< 1,0	Ausência
B4	< 1,0	Ausência
B5	< 1,0	Ausência
C1	178	Ausência
C2	< 1,0	Ausência
C3	< 1,0	Ausência
C4	< 1,0	Ausência
C5	< 1,0	Ausência

Fonte: Autora

Conforme os dados disponíveis na tabela 1, das 15 amostras analisadas, apenas uma amostra denominada como C1 (marca C referente ao lote 1) apresentou contaminação por Coliformes totais típicos. As colônias apresentaram coloração vermelha com reflexo metálico, que recobriu toda a superfície das colônias.

De acordo com a RDC nº. 275 (2005), a amostra C1 é classificada como inadequada para consumo humano, pois amostras de água mineral natural com presença de Coliformes totais apresentando contagem de colônias superior 1,0 UFC/100 mL, coloca em risco a saúde do consumidor. Tal resultado não significa que as demais amostras com lotes distintos (C2, C3, C4 e C5) referentes à mesma marca estejam contaminadas.

A presença de Coliformes totais nas águas envasadas, não significa que existe contaminação fecal na água, mas evidencia que houve uma contaminação de origem externa, possivelmente relacionado às condições de higiene durante alguma fase do processo de fabricação envolvendo o envase, transporte ou armazenamento^(18,19).

O processo de fabricação da água deve seguir a RDC nº. 173, de 13 de setembro de 2006, que dispõe sobre o regulamento técnico de boas práticas para industrialização e comercialização de água mineral natural que tem o objetivo de estabelecer procedimentos que

devem ser adotados pelos estabelecimentos industriais e comerciais a fim de garantir qualidade higiênica sanitária para que não ocorra a contaminação de origem externa ⁽⁶⁾. Esta resolução propõe a implantação de sistemas que estabelecem pontos de monitoramento em toda a produção, formulando Procedimentos Operacionais Padrões (POP's), sistemas de controle como Boas Práticas de Fabricação (BPF's) e Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC), no qual garantem a qualidade e permitem que as propriedades da água mineral natural sejam mantidas ^(6,20).

Conforme os indicadores utilizados para avaliação microbiológica de águas minerais, as amostras avaliadas neste estudo mostraram que 6.6% das amostras estavam contaminadas por Coliformes totais, sendo que 93.4% estavam aptas para consumo humano.

CONCLUSÃO

Apenas uma amostra apresentou-se imprópria para consumo humano conforme os parâmetros analisados, Coliformes totais e *Escherichia coli*. A presença de Coliformes totais na amostra indica deficiência nas condições higiênicas.

Julga-se necessário a realização dos ensaios em triplicatas para garantir que realmente ocorreu contaminação do lote, porém como as amostras foram adquiridas de forma aleatória, o lote referente à amostra contaminada não estava disponível nos locais estabelecidos.

Este artigo mostra-se importante, pois relata que ocorrem falhas na higiene durante o processamento dos produtos, necessitando de uma educação continuada com os funcionários e uma maior atenção na fiscalização.

REFERÊNCIAS:

1. Alves NC, Odorizzi AC, Goulart FC. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. Rev. Saúde Pública. 2002; 36 (6): 749 – 51.

2. Barbosa DA, Lage MM, Badaró ACL. Qualidade microbiológica da água dos bebedouros de um campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. Rev. Digital de Nutrição. 2009; 3(5): 505-517.
3. Agência Confederação Nacional dos Municípios. Água contaminada mata dois milhões de pessoas por ano no mundo. Agência Confederação Nacional dos Municípios; 2011. [xxx Telas]. Disponível em: URL: http://www.cnm.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=14887&catid=27:saude&Itemid=116. Acessado em: 18 de Junho 2012.
4. Gobato EAAF, Lanças FM. Comparação entre injeção na coluna (“On-Columin) e heap space dinâmico na determinação de benzeno, tolueno e xilenos (BTX) em amostras de água. Rev. Quim Nova. 2001; 24 (2): 176-179.
5. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2011.
6. Ministério da Saúde (BR). Resolução nº173, de 13 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Industrialização e Comercialização de Água Mineral Natural e de Água Natural e a Lista de Verificação das Boas Práticas para Industrialização e Comercialização de Água Mineral Natural e de Água Natural. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2006.
7. Castro LRS, Carvalho JS, Vale VLC. Avaliação microbiológica de diferentes marca de água mineral. Rev. Baiana de Saúde Pública. 2010; 34 (4): 835-844.
8. Ministério da Saúde (BR). Resolução nº275, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural. Brasília (DF): Ministério d Saúde; 2005.
9. Ministério da Saúde (BR). Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2006.

10. Hespanhol KMH. Monitoramento e diagnóstico da qualidade da água do Ribeirão Morangueiro [dissertação]. Maringá (PR): Universidade Estadual de Maringá; 2009.
11. Cunha MA, Silva MR. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. Rev. Saúde e Ambiente. 2006; 01 (1): 09-13.
12. Marquezi MC. Comparação de Metodologias para estimativa do número mais provável (NMP) de Coliformes em amostras de água [dissertação]. Piracicaba (SP): Ciência e tecnologia de alimentos, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; 2010.
13. Eaton DA, Clesceri SL, Rice WE, Greenberg EA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 ed. Washington (USA): Centennial Edition; 2005. p. 9-59 – 9-71.
14. Dias GMF. Qualidade microbiológica da água da bacia do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG: análise epidemiológica, ambiental e espacial. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa; 2007.
15. Oliveira ACS, Terra APS. Avaliação microbiológica das águas dos bebedouros do Campus I da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à presença de Coliformes totais e fecais. Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2004; 37(3): 285-286.
16. Guerra CK, Nique WM. Influências no consumo de água mineral em Porto Alegre [monografia acadêmica]. Rio Grande do Sul (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.
17. Filho AF, Dias MFF. Qualidade microbiológica de águas minerais em galões de 20 litros. Rev. Alim. Nutri. 2008; 19(3): 243-248.
18. Santana AS, Silva SCFL, Farani IOJ, Amaral CHR, Macedo VF. Qualidade microbiológica de águas minerais. Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2003; 23 (Supl): 190-194.

Cadernos da Escola de Saúde

19. Machado JV, Santinon NR, Guimarães RCM. Avaliação dos parâmetros microbiológicos de três marcas de água comercializadas no município de Bebedouro-SP. Rev. EPeQ/Fafibe 2008; 01(1): 40-44.
20. Villela LC, Caldas VT, Gamba RC. Análise microbiológica em águas minerais envasadas em embalagens de 510 mL, comercializadas no município de Santos-SP. Rev. Cecília 2010; 2(1): 4-6.