



Avaliação da qualidade de "água mineral natural" e a relevância da análise de bactérias heterotróficas

Quality assessment of "natural mineral water" and the relevance of analysis of heterotrophic bacteria



Artigo

Submetido em 04.09.15 | Aceito em 28.04.16 | Disponível on-line em 20.09.17

Yslanverson Cassiano Melo*, Alejandro Martin Montes

Universidade Federal Rural de Pernambuco | *yscassiano@hotmail.com

Eduardo José Alécio de Oliveira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco – Campus Recife

RESUMO

Água envasada é bebida funcional, que em países emergentes é usada para solucionar problemas de falta d'água potável. Bactérias heterotróficas podem estar presentes nestas águas e atuar como deteriorantes da sua qualidade ou, ainda, dificultando a detecção de coliformes. A contagem de bactérias heterotróficas não é adotada no Brasil no controle de águas envasadas, mas tem sido considerada indicadora de risco à saúde. O objetivo deste trabalho foi o de verificar a densidade de bactérias heterotróficas e a presença de coliformes totais e *E. coli* em águas minerais. Foram avaliadas 25 amostras de diferentes embalagens, de quatro marcas comercializadas em Recife – PE. A pesquisa de heterotróficas foi realizada em meio R2A e a presença/ausência de coliformes totais e *E. coli* em meio ONPG/MUG. A concentração de Bactérias heterotróficas variou de < 1 a 7×10^4 , sendo verificado um aumento da contagem bacteriana com o aumento do volume das embalagens. Garrafas retornáveis de 20 litros mostraram os piores resultados, com elevadas contagens de bactérias heterotróficas e presença de coliformes totais em todas as amostras. Tais resultados demonstram a necessidade de inclusão da contagem de bactérias heterotróficas na legislação brasileira de controle de águas envasadas em garrafas retornáveis.

Palavras-chaves: águas envasadas, bactérias heterotróficas, coliformes totais, contaminação.

ABSTRACT

Bottled water is a functional beverage that in emerging countries is used to solve problems of drinking water lack. Heterotrophic bacteria may be present and act as deteriorating of quality or even hindering the detection of coliforms. Currently the count of heterotrophic bacteria is not adopted in Brazil in control of bottled water, but has been considered an indicator of health risk. The objective of this study was to determine the density of heterotrophic bacteria and the presence of total coliforms and *E. coli* in mineral waters. Twenty five samples of different packages of four brands sold in Recife - PE were evaluated. The heterotrophic count was conducted in R2A media and the presence/absence of total coliforms and *E. coli* in the ONPG/MUG media. The concentration of heterotrophic bacteria ranges from < 1 to 7×10^4 , being observed an increase in bacterial count with the increase of the volume of packaging. Twenty liters returnable bottles showed the worst results, with high counts of heterotrophic bacteria and the presence of coliforms in all samples. These results demonstrate the need for inclusion of heterotrophic bacteria enumeration in the Brazilian legislation for bottled mineral water control on the returnable packages.

Keywords: bottled water, contamination, heterotrophic bacteria, total coliforms.

1.Introdução

Água é fonte de vida no planeta Terra onde todos os seres vivos, indistintamente, dependem dela para viver. Levantamentos geoambientais indicam que cerca de 70% da superfície do planeta são constituídos por água,

porém apenas 3% são de água doce e, destas, cerca de 98% são encontradas no subsolo (Gomes, 2011). Assim, menos de 0,01% desta água doce encontrada é própria ou está acessível para consumo humano (World Resources Institute, 2014).

Segundo Endo et. al.(2009) a busca por uma melhor qualidade de vida se estende aos cuidados com a alimentação, e isto tem levado a uma crescente demanda por produtos saudáveis e com características nutricionais e sensoriais próximas a dos alimentos *in natura*, sendo este um dos motivos para o aumento do consumo de água industrializada.

Em países desenvolvidos a água envasada é considerada pela população uma bebida funcional, no entanto, em países emergentes a população faz uso desta água para tentar solucionar o problema da falta de água potável (Brasil, 2014).

Considerando dados apurados dos Relatórios Anuais de Lavra - RAL do Departamento Nacional de Produção Mineral - DNPM, valores declarados pelas empresas detentoras de concessão de lavras, o consumo brasileiro de água mineral em 2011 foi de 6,2 bilhões de litros. Este valor é considerado ser menos da metade do que tem sido estimado por consultorias internacionais para o mercado brasileiro. No entanto, há uma tendência de crescimento devido, em algumas condições, ser a água engarrafada considerada artigo de primeira necessidade, sendo as embalagens de 10 e 20 litros as mais consumidas devido à qualidade não satisfatória da água de abastecimento público (Brasil, 2012).

Água mineral Natural e Água natural, obtidas diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas, são produtos que não possuem conservantes, e são caracterizadas pelo conteúdo constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes (Brasil, 2005). É considerada no Codex Alimentarius um produto microbiologicamente saudável e não deve estar sujeito a nenhum tratamento além da separação de constituintes instáveis e a eliminação, introdução ou reintrodução de dióxido de carbono (Falcone-

Dias & Farache Filho, 2008). Embora as águas minerais brasileiras encontrem-se, em sua maioria, confinadas em aquíferos rasos e apresentem baixo percentual de mineralização, estas possuem qualidade internacional (Oliveira, 2011). Os ambientes das águas minerais naturais não são estéreis e possuem um ecossistema complexo com elevada diversidade fenotípica e genética de bactérias autóctones, bactérias estas que permanecem em baixo número populacional no seu ambiente natural, mas que após engarrafamento começam a se multiplicar rapidamente. Com um longo tempo de estocagem esta população microbiana sofre uma variação na população bacteriana a qual pode indicar mudanças na qualidade, associado ao fato que membros de algumas espécies que podem fazer parte desta microbiota também podem causar doenças, principalmente em indivíduos vulneráveis, tais como os muito jovens, os velhos, as gestantes e a população imunossuprimida (Falcone-Dias & Farache Filho, 2013).

Além das características ambientais, as águas minerais têm uma facilidade de contaminação resultante das negativas ações humanas ainda no meio ambiente onde é captada (Oliveira, 2011), associado à precária cadeia logística utilizada no Brasil. Dependendo de como a água é envasada, transportada ou até instalada no bebedouro, pode ser contaminada por agentes externos, alterando a composição química da água, originalmente mineral (Liesenberg, 2014).

Bactérias heterotróficas são aquelas que usam nutrientes orgânicos para o crescimento e estão universalmente presentes em todos os tipos de água, alimentos, solos, vegetação e ar. Sob esta nomenclatura se incluem bactérias patogênicas primárias e secundárias, tais como as dos gêneros *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*,

Pseudomonas e *Serratia*. *Aeromonas*, *Klebsiella* e *Pseudomonas* também são consideradas patogênicas oportunistas (Allen et. al., 2004). Agravante também é o fato que alguns micro-organismos oportunistas podem dificultar a detecção de coliformes durante as análises (Cabrini et. al., 2001).

Estabelecer um limite para bactérias heterotróficas em água mineral tem sido motivo de discussão desde a década de setenta e em muitas situações considerado desnecessário. Em 1993 o FDA – Food and Drug Administration - destacou que normalmente não haveria risco para a saúde a ingestão de águas envasadas que contivessem a presença de bactérias heterotróficas cuja microbiota faz parte daquele tipo de água, desde que estivessem livres de micro-organismos de significância clínica (indicada pela ausência de coliformes), e que fossem engarrafadas sob condições sanitárias de acordo com as boas práticas de fabricação - BPF (Allen et. al., 2004). Porém, ainda de acordo com Allen et. al. (2004) em 1984 a agência ambiental americana - EPA publicou documento que considera a contagem de bactérias heterotróficas um indicador de risco aumentado à saúde.

Questiona-se, então, se não é prudente a inclusão na legislação brasileira a verificação do número de bactérias heterotróficas em águas envasadas. Em 2010 uma pesquisa em água engarrafada realizada em Montreal – Canadá, mostrou que 70% das amostras verificadas excederam o limite de 500 UFCmL⁻¹, valor limite adotado pela farmacopeia americana para água potável (Biotec Week, 2010). Este valor também é usado no Brasil no controle dos sistemas de distribuição de água tratada, reservatórios e redes (Brasil, 2011).

O presente trabalho teve como objetivo verificar a densidade de bactérias heterotróficas e a presença de coliformes totais e *E. coli* em

diferentes embalagens de água mineral natural, comercializadas na cidade de Recife – PE.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco – IFPE, *Campus* Recife, no período de 26/02 a 12/06/2013. Para tanto, foram adquiridas amostras de água mineral natural no comércio da cidade de Recife-PE, em embalagens de polietilenotereftalato - PET de 0,5 L e 1,5 L, embalagens de polipropileno - PP de 10 L e embalagens de PET e PP de 20 L, totalizando 25 amostras. As diferentes marcas foram identificadas como A, B, C e D, sendo esta última constituída unicamente de garrações de 20 L de PET e PP. As marcas foram escolhidas de acordo com a disponibilidade no mercado e adquiridas em quintuplicatas do mesmo lote, formando amostras representativas, em conformidade com a Resolução nº 275/2005 da ANVISA. As cinco unidades de cada marca foram identificadas como Amostras 1, 2, 3, 4 e 5.

2.1. Contagem de bactérias heterotróficas

Para a contagem de bactérias heterotróficas foi utilizado o método de inoculação em profundidade (pour plate), usando meio de cultura Ágar R2A (Scharlau®) em placa descartável estéril de 90 mm de diâmetro, de acordo com os parâmetros estabelecidos no método nº 9215 - Heterotrophic Plate Count, do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005).

Antes da coleta, todas as embalagens de água mineral receberam prévia higienização externa com água e detergente seguida da desinfecção com álcool 70% (m/m). A

manipulação das amostras ocorreu em cabine de fluxo laminar horizontal (Pachane 200) previamente desinfetada com álcool 70% (m/m). Todas as amostras foram submetidas à agitação antes da retirada das alíquotas.

As amostras foram analisadas em sua concentração original, que recebeu a identificação de 10^0 , bem como em três diluições decimais (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). As placas foram identificadas e inoculadas em duplicata para cada diluição.

Com o auxílio de pipeta graduada estéril retirou-se alíquotas de 1 mL da amostra original para placa de Petri, identificada como 10^0 , e 1 mL para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada estéril (diluição 10^{-1}), realizando diluição seriada sucessiva até 10^{-3} . Todas as diluições foram homogeneizadas em agitador vórtex (Phoenix P-56) seguido da distribuição de 1 mL, em duplicata, em placas de Petri de 90 x 15 mm descartável estéril. Em seguida, foi distribuído em cada placa cerca de 20 mL de ágar R2A esterilizado em autoclave (Eletrolab® 503/3) a 121 °C por 15 minutos e mantido em banho aquecido (Solab SL-150/10) à temperatura de 50 ± 1 °C. Como controle de esterilidade do meio e do procedimento, foram preparadas, durante cada ensaio, placas contendo apenas o meio R2A e placas contendo 1 mL de água destilada estéril.

Após solidificação do meio de cultura as placas foram embaladas em filme PVC e incubadas em estufa microbiológica (Quimis® Q316M4) a 35 °C \pm 0,5 °C por 48 horas. Decorrido o período de incubação, as placas foram observadas e o número de unidades formadoras de colônia – UFC determinado, utilizando contador de colônias manual (Phoenix CP 608). Foram consideradas placas válidas, aquelas com contagens entre 30 e 300 UFC.

Os números de UFC mL⁻¹ dos diferentes produtos foram comparados utilizando o teste “t” de student do programa Excel® da Microsoft®.

2.2. Determinação de presença de coliformes totais - CT e *Escherichia coli*

Em paralelo à contagem de bactérias heterotróficas, 100 mL de cada amostra de água mineral foram coletados em saco plástico estéril (Nasco Whirl-Pak®) e analisados quanto à presença/ausência de CT e *E. coli* pela adição do conteúdo de um sachê de meio cromogênico/fluorogênico à base de ONPG/MUG (Colilert®). Os sacos foram fechados, o conteúdo homogeneizado e em seguida incubados em estufa a 35 °C \pm 0,5 °C por 24-28 horas. Findo o período de incubação, os sacos foram analisados visualmente para a presença de coliformes totais (cor amarela do meio mais intensa do que a do comparador de cor) e *E. coli* (fluorescência azul intensa sob luz UV 366 nm).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Controle de esterilidade do meio de cultura

Nenhuma das placas utilizadas como controle de esterilidade do meio e dos procedimentos apresentaram contaminação microbiana após o período de incubação.

3.2. Densidade de bactérias heterotróficas

Mesmo tratando-se de um produto sem tratamento convencional ou adição de conservantes, a contagem de bactérias heterotróficas não é contemplada entre os parâmetros de qualidade estabelecidos pela Resolução nº 275/2005 da ANVISA, que regulamenta as características microbiológicas

para água mineral natural e água natural. Assim, tomou-se por referência o limite de 500 UFCmL⁻¹ preconizado pela Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde que dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (Brasil, 2011).

Das 25 amostras analisadas, dezesseis (64%) apresentaram densidade bacteriana acima do limite estabelecido para água potável. Apenas nove amostras (36%) apresentaram densidade ≤ 500 UFCmL⁻¹, mesmo assim, cinco das embalagens (20%) pertenciam a uma única marca (Marca A) e tipo material de embalagem, ou seja, embalagem PET descartável de 0,5 L (Tabela 1).

A contagem de bactérias heterotróficas apresentou uma densidade crescente associada ao volume das embalagens, destacando-se na pior condição as embalagens de PP retornáveis (Tabela 1).

A contagem média de bactérias entre as Marcas B e C e entre as Marcas D (20 L) garrafão PET e Marca C (10 L) garrafão de PP não mostraram diferença significativa ao nível de 5% ($p = 0,28$ e $p = 0,29$, respectivamente), enquanto a Marca D (20 L) garrafão PP e D (20 L) garrafão PET foram significativamente diferentes pelo teste “t” de student ($p = 0,009$).

Tabela 1 – Densidade de bactérias heterotróficas presentes em amostras de água mineral natural de quatro marcas comercializadas em Recife/PE.

	Número de UFC.mL (média de duas placas)				
	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	AMOSTRA 4	AMOSTRA 5
Marca A (0,5L)¹	<1	<1	2,0	1,0	<1
Marca B (1,5L)¹	5×10^2	5×10^2	7×10^2	6×10^2	$1,5 \times 10^2$
Marca C (10L)²	6×10^3	2×10^3	6×10^4	9×10^2	1×10^3
Marca D (20L)³	2×10^2	1×10^3	2×10^3	7×10^2	1×10^3
Marca D (20L)²	4×10^4	4×10^4	2×10^4	1×10^4	7×10^4

Embalagens: ¹Polietilenotereftalato - PET descartável, ²Polipropileno - PP retornável,

³Polietilenotereftalato - PET retornável.

A observação de uma relação diretamente proporcional entre o volume das embalagens e o número de UFCmL⁻¹, além do fato das maiores densidades de bactérias heterotróficas encontradas terem ocorridos nas embalagens retornáveis de 10 L e 20 L (marcas C e D), que passam por processo de higienização

para reuso, coloca sob suspeita as Boas Práticas de Fabricação - BPF. A desinfecção dos garrafões é uma etapa de risco no processo e pode não ocorrer de maneira eficaz, o que contribui para um aumento da população microbiana, o que pode ser verificado pelo aumento das contagens totais (Jeena et. al., 2006, Cabrini; Gallo, 2001).

Coelho et al. (2010), ao analisarem amostras de 10 marcas de águas minerais também comercializadas na cidade de Recife – PE, observaram que os resultados de heterotróficas variaram de 10^1 a 10^4 UFCmL⁻¹ e que 65% das amostras excederam o limite de 500 UFCmL⁻¹. Apesar dos autores terem avaliado apenas águas contidas em garrações de 20 L, a percentagem de amostras com densidade de heterotróficas superior a 500 UFCmL⁻¹ foi semelhante à encontrada na presente pesquisa (64%). Concordante com o relatado neste trabalho, Cabrini e Gallo (2001) ao analisar amostras de água mineral em embalagens de 0,5 L, 1,5 L e 10 L, também verificaram contaminação com maior densidade de heterotróficas apenas nos garrações de 10 L, únicas embalagens do tipo retornáveis pesquisadas. Reis et al. (2006) analisaram 20 amostras de água mineral de diferentes marcas comercializadas na cidade de São José do Rio Preto – SP, das quais quatro apresentaram contagem de heterotróficas superior a 500 UFCmL⁻¹, demonstrando que não se trata de achados isolados.

O fato das amostras, de água mineral, analisadas neste trabalho terem apresentado alta densidade de bactérias heterotróficas, não está necessariamente ligado a uma elevada contaminação na fonte de água, mas que pode ser oriunda de qualquer etapa do processo de industrialização. Mesmo após o envase, se há uma população de bactérias nesta água associada a condições ideais para crescimento, ainda que mínima, ocorrerá a multiplicação desses micro-organismos dentro da embalagem (Leclerc; Moreau, 2002). Ainda segundo Leclerc e Moreau (2002), o número de micro-organismos viáveis na água após envase pode aumentar rapidamente, atingindo de 10^4 - 10^5 UFCmL⁻¹. Em outras palavras, o que se afirma é que a água pode ser oriunda de uma fonte de boa qualidade

microbiológica, porém, ao passar pelo processo de industrialização, ser submetida a condições que propiciam o crescimento microbiano.

Para um mesmo fabricante (D), os resultados obtidos com a embalagem de tereftalato de polietileno – PET revelaram diferenças em relação às amostras contidas em embalagens de polipropileno – PP (Tabela 1). A densidade de bactérias heterotróficas em embalagens de PP foi superior à densidade encontrada em embalagens PET. É importante ressaltar que essas amostras foram retiradas de vasilhames retornáveis de mesmo volume e provenientes de mesma fonte natural e de mesmo lote. Apesar dos resultados indicarem uma relação de menor densidade bacteriana em embalagem PET verso PP, não se pode afirmar categoricamente que isso ocorre via de regra, considerando que as amostras foram resultantes de datas de envase diferentes. Contudo não se deve descartar a possibilidade dessa relação de fato ocorrer, visto que embalagens PP são mais propensas à manutenção microbiana durante os processos de desinfecção, principalmente por serem processadas em temperaturas inferiores às de outras embalagens devido a sua menor resistência térmica (CMB, 2001).

Ainda que a maioria das bactérias heterotróficas presentes na microbiota natural da água mineral não seja considerada patogênica, é de fundamental importância manter sua densidade controlada, pois, algumas dessas bactérias podem atuar como patógenos oportunistas deteriorantes da qualidade da água. Quando presentes em números elevados essas bactérias podem também atuar como inibidores da detecção de coliformes (Cabrini; Gallo, 2001).

3.3. Presença/ausência de coliformes totais e *E. coli*

Das quatro marcas de água mineral natural analisadas, três delas (A, B e D PET) não

apresentaram contaminação por coliformes totais nas quintuplicatas analisadas, enquanto que para a marca D em garrações de PP de 20 L todas as amostras do lote ($n = 5$) apresentaram-se contaminadas, bem como uma das embalagens

de 10 L de PP da marca C (Tabela 2). Considerando o critério da RDC nº 275 da ANVISA, o lote das embalagens de PP de 20 L estaria interditado, no entanto foram adquiridos no mercado para consumo.

Tabela 2 – Presença/Ausência de coliformes totais em 100 mL de amostra de água mineral natural de quatro marcas comercializadas em Recife/PE.

Presença/Ausência de Coliformes Totais					
	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	AMOSTRA 4	AMOSTRA 5
Marca A (0,5L)¹	-	-	-	-	-
Marca B (1,5L)¹	-	-	-	-	-
Marca C (10L)²	-	+	-	-	-
Marca D (20L)³	-	-	-	-	-
Marca D (20L)²	+	+	+	+	+

Embalagens: + Presença; - Ausência; ¹PET descartável, ²PP retornável, ³PET retornável.

A contaminação de água mineral com coliformes totais é de frequente constatação no mercado brasileiro. Os resultados obtidos por Coelho et al. (2010) ao analisarem 120 amostras de águas minerais comercializadas na Cidade de Recife – PE, revelaram presença de coliformes totais em 46 delas (38%). Farrache Filho e Dias (2008) após analisar 84 amostras de águas, comercializadas nas cidades de Araraquara e Américo Brasiliense – SP, verificaram que 13 delas (16%) não atenderam aos parâmetros estabelecidos pela Resolução nº 275/2005 da ANVISA para coliformes totais. Wendpap et. al. (1999) avaliaram 180 amostras de águas minerais vendidas em embalagens de diversos volumes na região central de Cuiabá – MT, observando que 21 delas (12%) apresentaram coliformes totais. Nenhuma das amostras analisadas apresentou presença de *E. coli*.

4. CONCLUSÕES

Das amostras de águas minerais naturais analisadas, constatou-se que a densidade de bactérias heterotróficas teve um aumento relacionado com o volume das embalagens, alcançando contagens elevadas, da ordem de 10^3 a 10^4 UFCmL⁻¹, quando os garrações foram de polipropileno retornáveis. Elevados níveis de heterotróficas (> 500 UFCmL⁻¹) demonstrou a susceptibilidade dos vasilhames retornáveis. Esta baixa qualidade foi confirmada também pela contaminação por coliformes totais, indicativo de problemas no processo de higienização. As embalagens retornáveis de polipropileno de maior volume (20 L) mostraram qualidade higiênica insatisfatória em todas as amostras analisadas, com presença de coliformes totais e

as maiores contagens de heterotróficas. Embora a contagem de bactérias heterotróficas por si só não garanta a qualidade microbiológica destes produtos, a verificação de níveis elevados demonstrou a inadequação das Boas Práticas de Fabricação que resultaram em garrações com águas impróprias para o consumo humano.

A contagem de bactérias heterotróficas é uma ferramenta auxiliar de verificação da qualidade de água que deveria ser incluída na legislação de controle de qualidade de águas envasadas em embalagens retornáveis, permitindo um melhor acompanhamento das Boas Práticas de Fabricação e maior segurança para a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

- Allen, M. J.; Edberg, S. C. Virulence and risk from drinking water of heterotrophic plate count bacteria in human population groups. *International Journal of Food Microbiology*, p.255-263, 2004.
- APHA – American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of water and wastewater. 21st ed. Washington, DC, p.34-36, 2005.
- Brasil, Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM). Água Mineral, 2012. Disponível em: <https://sistemas.dnpm.gov.br/publicacao/mostra_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=7368>. Acesso em: 15 Mar. 2016.
- Brasil, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução Nº 275 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.
- Brasil, Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.914 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. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2011.
- Brasil, Serviço Geológico do Brasil (CPRM). Mão de Obra na Indústria de Água Mineral, 2014. Disponível em: <<http://www.cprm.gov.br/publique/Redes-Institucionais/Rede-de-Laboratorios-de-Analises-Minerais---Rede-LAMIN/Sobre/Mao-de-Obra-na-Industria-de-Agua-Mineral-1386.html>>. Acesso em: 20 Mar. 2016.
- Cabrini, K. T.; Gallo, C. R. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais envasadas. *Hig. Alim.*, v.15, n.90/91, p.83-92, 2001.
- CMB – Mineração e Meio Ambiente, publicado na Revista Engarrafador Moderno n. 90 de outubro de 2001. Disponível em: <<http://www.cmbconsultoria.com.br/embalagens-retornaveis-para-agua-mineral-problema-ou-solucao>>. Acesso em: 12 Jan. 2014.
- Coelho, M. I. S.; Mendes, E. S.; Cruz, M. C. S.; Bezerra, S. S.; Silva, R. P. P. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais consumidas na região metropolitana de Recife, Estado de Pernambuco. *Acta Scientiarum. Health Sciences*. Maringá, v. 32, n. 1, p. 1-8, 2010.
- Endo, É.; Bertoldi, M. C.; Pinheiro, N. M. S.; Arruda, A. C.; Minim, V. P. R. Caracterização do mercado consumidor de “água aromatizada”: hábitos e motivações para o consumo. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, SP, p.365-370, 2009.

Filho, A. F.; Dias, M. F. F. Microbiological quality of mineral water in gallon of 20 liters. *Alim. Nutr.*, Araraquara, SP, v.19, n.3, p.243-248, 2008.

Falcone-Dias, M. F.; Filho, A. F. Quantitative variations in heterotrophic plate count and in the presence of indicator microorganisms in bottled mineral water. *Food Control*. Araraquara, SP, v. 31, p. 90-96, 2013.

Gomes, M. A. F.. Água sem ela seremos o planeta Marte de amanhã. Março de 2011. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/down_hp/464.pdf>. Acesso em: 09 Set. 2013.

Jeena, M. I. et al. Risk assessment of heterotrophic bacteria from bottled drinking water sold in India markets. *Int. J. Environ. Health*, v.209, p.191-196, 2006.

Leclerc, H.; Moreau, A. Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS Microbiol. Rev.*, v.6, p.207-222, 2002.

Liesenberg, David Conrado (2014). Água mineral de garrafão pode oferecer riscos à saúde. Disponível em: <<http://www.uniara.com.br/ageuniara/artigos.asp?Artigo=3585>>. Acesso em: 23 Dez. 2014.

Oliveira, J. A. Águas (de) São Lourenço: Investigação sobre os impactos da exploração de água mineral no turismo sustentável, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Ouro Preto, 2011.

Reis, J. A.; Hoffmann, P; Hoffmann, F. L. Ocorrência de bactérias aeróbia mesófilas, coliformes totais, fecais e *Escherichia coli*, em

amostras de águas minerais envasadas, comercializadas no município de São José do Rio Preto, SP. *Hig. Alim.*, v.20, n.145, p.109-116, 2006.

Wendpap, L. L.; Dambros, C. S. K.; LOPES, V. L. D. Qualidade das águas minerais e potável de mesa, comercializadas em Cuiabá – MT. *Hig. Alim.*, v.13, n.64, p.40-44, 1999.

World Resources Institute (2014). Qual a porcentagem de água existente o planeta? Disponível em: <<http://meioambienteagua.pbworks.com/w/page/20725600/Porcentagem>>. Acesso em: 23 Dez. 2014.