

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, CONCENTRAÇÃO DE
NITRATOS EM ÁGUAS DE CONSUMO
ALTERNATIVO (MINERAIS E DE POÇOS)
DA CIDADE DE JABOTICABAL -SP**

Laudicéia Giacometti
Química

Jaboticabal - São Paulo - Brasil
2001

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, CONCENTRAÇÃO DE
NITRATOS EM ÁGUAS DE CONSUMO
ALTERNATIVO (MINERAIS E DE POÇOS)
DA CIDADE DE JABOTICABAL - SP**

Laudicéia Giacometti

**Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton
Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias, UNESP, Câmpus de
Jaboticabal, para obtenção do
Título de Mestre em Microbiologia
– Área de Concentração em
Microbiologia

Jaboticabal - SP
Dezembro – 2001

G429q Giacometti, Laudicéia
Qualidade microbiológica, concentração de nitratos em águas de consumo alternativo (minerais e de poços) da cidade de Jaboticabal - SP / Laudicéia Giacometti. -- Jaboticabal, 2001
xiv, 64 f. ;28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2001

Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton

Banca examinadora: Ângela Cleusa F. B. de Carvalho, Bernardo Arantes do Nascimento Teixeira

Bibliografia

1. Água de poço. 2. Água mineral engarrafada. 3. Contaminação.
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 628.16

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LAUDICÉIA GIACOMETTI - filha de Maria Cleide Zuquette Giacometti e Adão Sebastião Giacometti, nasceu em Jaboticabal, São Paulo, no dia 27 de fevereiro de 1976. cursou o primeiro grau em Jaboticabal, SP. Em dezembro de 1993, concluiu o curso de Técnico em Alimentos na Escola Técnica Estadual Dr Adail Nunes da Silva em Taquaritinga, SP. Em janeiro de 1994, ingressou na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo (USP) onde obteve o título de bacharel em Química em dezembro de 1997. Em dezembro de 1999, também pela USP concluiu o curso de bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas. Em julho de 1998 iniciou o curso de mestrado em Microbiologia, área de concentração Microbiologia, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Em janeiro de 1999, ingressou por meio de concurso público no Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Jaboticabal, junto a Estação de Tratamento de Água (Laboratório de Controle Físico-Químico de Qualidade).

A ÁGUA

A água é o sangue da terra,

Insubstituível.

Nada é mais suave e, no entanto,

Nada a ela resiste.

Aquele que conhece seus princípios

Pode agir corretamente

Tomando-a como chave e exemplo.

Quando a água é pura,

O coração do povo é forte,

Quando a água é suficiente,

O coração do povo é tranqüilo.

Aos meus pais: *Adão Sebastião Giacometti e Maria Cleide Zuquette Giacometti*

A minha irmã: *Flávia Giacometti*

Dedico

A Afonso Lopes

Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton e ao Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral, pela dedicação, orientação e exemplo a ser seguido na condução de um trabalho científico.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realizar um curso de Pós-Graduação, em especial ao Prof. Dr. Ely Nahas, coordenador do programa de pós-graduação em Microbiologia.

À FAPESP, pelo apoio financeiro, sem o qual não seria possível a realização desta pesquisa.

À Claudine Campanhol Milinsky pelo incentivo e auxílio na fase de coleta e processamento das amostras; à Ludmila, pelos ensinamentos práticos e aos técnicos do laboratório de Microbiologia de Águas e Alimentos de Origem Animal “Diba” e “Lila” pelo apoio e prontidão nas horas difíceis.

Ao Prof. Dr. Gener Tadeu Pereira, do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP, pelas orientações na análise estatística dos resultados.

Aos proprietários de poços utilizados nesta pesquisa e aos fornecedores de água mineral que se empenharam para conseguir as diferentes amostras em curto espaço de tempo.

Ao Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Jaboticabal, pelo trabalho com “qualidade e quantidade de água”, em especial ao engenheiro Wilson Luís Italiano, DD. Presidente na Gestão 2001–2004, pelas oportunidades concedidas.

Aos amigos que fiz durante o curso de mestrado, em especial à Cristiane Rêgo Oliveira Pinto.

Ao Instituto Adolfo Lutz, em especial à Dilma Gelli e Sérgio Naccache, pela oportunidade de aprendizado das mais avançadas técnicas de análise microbiológica de águas.

A Deus que me presenteou com a vida, a saúde, o trabalho e a minha família.

Aos meus pais, Adão Sebastião Giacometti e Maria Cleide Zuquette Giacometti, e a minha irmã, Flávia Giacometti, pelo apoio incondicional durante toda minha vida.

A Afonso Lopes que multiplicou minha perseverança e meus braços neste período.

A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho pudesse se concretizar: meus profundos e sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT	xiv
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	2
II.1 Doenças de Veiculação Hídrica	2
II.2 Microrganismos Indicadores de Contaminação.....	3
II.3 Normas de Potabilidade e Classificação de Águas	4
II.4 População Autóctona	6
II.5 População Alóctona e Fontes de Contaminação.....	7
II.6 Contaminação Química das Águas de Consumo Alternativo: Teor de Nitratos	14
III. MATERIAL E MÉTODOS	16
III.1 Material.....	16
III.1.1 Água.....	16
III.1.1.1 Águas Minerais.....	16
III.1.1.2 Águas de Poços	17
III.2 Métodos.....	18
III.2.1 Amostragem	18
III.2.2 Análises Microbiológicas	19
III.2.2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
III.2.2.2 Clostrídios Sulfito Redutores	20
III.2.2.3 Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i>	20
III.2.2.4 Enterococos	21
III.2.3 Análise Química	21
III.2.3.1 Nitrato.....	21
III.2.4 Análise Estatística	21

	Página
III.2.4.1 Água Mineral	21
III.2.4.2 Águas de Poço	22
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
IV.1 Águas Minerais	23
IV.1.1 Parâmetros Microbiológicos	25
IV.1.1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
IV.1.1.2 Clostrídios Sulfito Redutores	28
IV.1.1.3 Coliforme Total	31
IV.1.1.4 <i>Escherichia coli</i>	32
IV.1.1.5 Enterococos	33
IV.1.2 Parâmetro Químico	35
IV.1.2.1 Nitrato	35
IV.2 Águas de Poços	37
IV.2.1. Parâmetros Microbiológicos	38
IV.2.1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
IV.2.1.2 Clostrídios Sulfito Redutores	39
IV.2.1.3 Coliformes Totais	40
IV.2.1.4. <i>Escherichia coli</i>	41
IV.2.1.5 Enterococos	42
IV.2.2 Parâmetro Químico	44
IV.2.2.1 Nitrato	44
V. CONCLUSÕES	45
V.1 Águas Minerais	45
V.2 Águas de Poço	45
VI. REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE	55

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Porcentagem (%) de amostras contendo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> por marca em A, por volume em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D	27
2. Porcentagem (%) de amostras contendo Clostrídios sulfito redutores por marca em A, por volume em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D	29
3. Porcentagem (%) de amostras contendo coliformes totais por marca em A, por volume em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D	32
4. Porcentagem (%) de amostras contendo enterococos por marca em A, por volume em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D	33
5. Porcentagem (%) de amostras contendo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> por poço em A e por período de chuva e seca em B	39
6. Porcentagem (%) de amostras contendo coliformes totais por poço em A e por período de chuva e seca em B	40
7. Porcentagem (%) de amostras contendo <i>Escherichia coli</i> por poço em A e por período de chuva e seca em B	42
8. Porcentagem (%) de amostras contendo enterococos por poço em A e por período de chuva e seca em B.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Características microbiológicas das águas minerais.....	5
2. Características físico-químicas das águas minerais A, B e C.	16
3. Características complementares das águas minerais A, B e C.....	17
4. Características dos poços analisados	18
5. Análise de variância e teste de médias para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , clostrídios sulfito redutores e coliforme total nas amostras de águas minerais. (Jaboticabal, SP-2001).....	24
6. Análise de variância e teste de médias para <i>Escherichia coli</i> , enterococos e nitrato nas amostras de águas minerais. (Jaboticabal, SP-2001)	25
7. Interação entre os fatores marca e lote para a variável <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [UFC (100 mL ⁻¹)]	27
8. Interação entre os fatores marca e volume para a variável clostrídios sulfito redutores [UFC (100 mL ⁻¹)].....	29
9. Interação entre os fatores marca e lote para a variável clostrídios sulfito redutores [UFC (100 mL ⁻¹)].....	30
10. Interação entre os fatores volume e lote para a variável clostrídios sulfito redutores [UFC (100 mL ⁻¹)].....	30
11. Interação entre os fatores marca e volume para a variável enterococos [NMP (100 mL ⁻¹)].	34
12. Interação entre os fatores marca e volume para a variável nitrato (mg N-NO ₃ L ⁻¹).	35
13. Interação entre os fatores marca e lote para a variável nitrato (mg N-NO ₃ L ⁻¹).	36

Tabela	Página
14. Análise de variância e teste de médias para as variáveis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , clostridio sulfito redutor e coliforme total em águas de poço. (Jaboticabal, SP-2001).....	37
15. Análise de variância e teste de médias para as variáveis <i>Escherichia coli</i> , enterococos e nitrato em águas de poço. (Jaboticabal, SP-2001)	38
16. Interação entre os fatores poço e período para a variável coliforme total [NMP (100 mL ⁻¹)].	41
17. Interação entre os fatores poço e período para a variável enterococos [NMP (100 mL ⁻¹)].	43

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, CONCENTRAÇÃO DE NITRATOS EM ÁGUAS DE CONSUMO ALTERNATIVO (MINERAIS E DE POÇOS) DA CIDADE DE JABOTICABAL - SP

RESUMO - Fatores como o gosto e o odor associados à população pela desinfecção com cloro realizada em águas de abastecimento público têm estimulado um maior consumo de águas minerais e águas de poços particulares, situação que desperta o interesse pela qualidade desse tipo de abastecimento que tem sido denominado como consumo alternativo. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo verificar a qualidade higiênico-sanitária e a concentração de nitratos em águas engarrafadas e de poços particulares utilizadas pela população de Jaboticabal, SP. Para as águas engarrafadas foram estudadas três marcas, três volumes de embalagens (20 L; 1,5 L; 0,2 L) e 5 lotes. As águas de poços foram analisadas em períodos de seca e chuva. As variáveis analisadas nos dois casos foram: *Pseudomonas aeruginosa*, clostrídios sulfito-redutores, coliformes totais, *Escherichia coli*, enterococos e teores de nitrato. Os resultados evidenciaram que não existe uniformidade de qualidade das águas condicionadas em galões de 20 L para os diferentes lotes e para as três marcas, o que se deve à deficiência do preparo das embalagens para reutilização. Dentre 225 amostras analisadas, 37% apresentaram-se fora do padrão de potabilidade. Dentre os sete poços acompanhados verificou-se que o poço 6 tem a qualidade microbiológica de sua água influenciada por precipitações pluviométricas. Os poços 5 e 7 apresentaram elevado teor de nitrato. Estes resultados totalizam 2,8% das águas de poço fora dos padrões de potabilidade.

Palavras-Chave: água de poço, água mineral engarrafada, águas para abastecimento, contaminação, microbiologia de águas, teor de nitrato

**MICROBIOLOGICAL QUALITY, NITRATE VALUES IN WATERS UTILIZED FROM
ALTERNATIVE MEANS (MINERAL AND WELL WATER) IN THE CITY OF
JABOTICABAL - SP, BRAZIL**

ABSTRACT - Points like taste and odor associate for population to chlorine disinfection applied in public water supply stimulated a greater utilization of mineral water and from wells, acts that arise the interest about the quality of this kind of supply, which has been designated as alternative means. Consequently, the present work aimed the verification of the hygienic-sanitary quality, and the concentration of nitrates in bottled water and from private wells used by the population of Jaboticabal, SP, Brazil. For bottled water, three brand marks, three size bottles (20 L, 1.5 L, 0.2 L) and 5 batches were analyzed. Waters from wells were analyzed in dry and rainy periods. The varieties analyzed in both cases were: *Pseudomonas aeruginosa*, sulfide reducers clostridium, whole coliforms, *Escherichia coli*, enterococcus and nitrate. The results indicated there's no uniformity in the quality of waters bottled in 20 L containers for the different batches and for the three brand marks, due to deficiency in their preparation for reuse. From 225 analyzed samples, 37% presented themselves as out of standard of potability. From the seven wells analyzed there has been verified that the well no. 6 has the microbiological quality of its water influenced by pluvial precipitations. The wells 5 and 7 presented high level of nitrate. These results totalized 2.8% of water from wells out of standard of potability.

Keywords: water from well, mineral water in bottles, water for supply, contamination, water microbiology, level of nitrate

I. INTRODUÇÃO

Na natureza, 97,5% da água presente é salgada; o restante, 2,5% dividem-se da seguinte forma: 68,9% em calotas polares e geleiras; 29,9% em águas subterrâneas; 0,3% rios e lagos e 0,9% outros reservatórios (GORBACHEV, 2000).

No Brasil, a classificação e a destinação de água é regulamentada pela Resolução CONAMA nº 20/86. Essa Resolução menciona nove classes, sendo uma delas classificada como especial, que pode ser destinada ao abastecimento doméstico após simples desinfecção. A classe um, para esse fim, deve receber tratamento simplificado; as classes dois e três necessitam de tratamento convencional (REALI, 1996).

Dessa forma, as águas são potabilizadas por meio de tratamento realizado por companhias estaduais ou municipais e distribuídas; no entanto, atribui-se ao sabor e odores causados pela adição de flúor e cloro nas águas de abastecimento público, o aumento de consumo de água de fontes alternativas como minas, poços particulares e principalmente engarrafadas.

De acordo com LANCIA (1999), no ano de 1998 o brasileiro consumiu 2,49 bilhões de litros contra 2,11 bilhões de litros em 1997. No estado de São Paulo, principal mercado, houve um crescimento de 22% no consumo em 1998, sendo esse atribuído à embalagem de 20 litros, produto de forte penetração em empresas, escritórios e residências.

Tal aumento de procura por fontes alternativas de água para consumo primário tem despertado interesse acerca da qualidade dessas. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de 5 marcas de águas minerais, em 3 volumes diferentes e 5 lotes, assim como de 7 poços em períodos de chuva e de seca, utilizados para consumo pela população de Jaboticabal, SP. Para tanto, utilizaram-se os indicadores coliformes totais, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, clostrídios sulfito redutores e enterococos. Determinaram-se, também, as concentrações de nitrato dessas águas.

II. REVISÃO DE LITERATURA

II.1 Doenças de veiculação hídrica

De acordo com OLIVEIRA (1978), a água é um importante veículo na transmissão de doenças que são causadas por bactérias, no caso da febre tifóide, febre paratifóide, desintéria bacilar e cólera; por protozoários, desintéria amebiana; por vermes e larvas, como a esquistossomose e por vírus, como a hepatite infecciosa e a poliomielite.

BERGEISEN et al. (1985) relataram um surto em Meade County, Kentucky, contendo 73 casos de hepatite A, sendo 68 confirmados, com o mais importante fator de risco consistindo no reservatório de água não tratada provinda de uma única fonte. Essa conclusão se deu pela adição de 25 mL de corante fluoresceína a um tanque séptico localizado na bacia hidrográfica em questão, tendo sido recuperado posteriormente na fonte de água utilizada para consumo pelas pessoas atingidas durante o surto duas semanas depois.

Um surto de cólera ocorrido no ano de 1974, em Portugal, levou a 2.467 internações e 48 mortes (BLAKE et al., 1977a). Desses, 82 pacientes se alimentaram de água mineral engarrafada e 36 casos tinham visitado um “spa” abastecido pela mesma fonte de água engarrafada, sugerindo que o lençol freático estava contaminado com *Vibrio cholera* (BLAKE et al., 1977b).

Os dados epidemiológicos dos Estados Unidos (LIPPY & WALTRIP, 1984) fornecem um importante diagnóstico: em 34 anos, no período de 1946 a 1980, ocorreram 672 surtos de doenças veiculadas por água, com 150.000 pessoas atingidas. Os agentes eram: parasitas (7,1%); agentes químicos (7,3%); vírus (11,8%); bactérias (21,7%), permanecendo o restante não identificado. As principais fontes de contaminação foram águas subterrâneas não tratadas utilizadas para abastecimento.

No período entre 1992 e 1995 houve 26 surtos de doenças intestinais infecciosas de veiculação hídrica na Inglaterra e País de Gales, das quais 9 foram atribuídas a

fontes particulares, sendo *Campylobacter* o principal responsável nesse caso (FURTADO et al., 1998).

II.2 Microrganismos indicadores de contaminação

O monitoramento de patógenos específicos é impraticável e por esse motivo supõe-se que indicadores fecais como coliformes fecais, streptococos fecais e clostrídios sulfito redutores podem estar presentes em maior número e sobreviver tanto quanto microrganismos patogênicos (BURGE & HUNTER, 1990). Segundo os autores, *Pseudomonas aeruginosa* tem tempo de sobrevivência em águas minerais engarrafadas próximo a *Aeromonas hydrophila* e *Salmonella typhimurium* que por sua vez sobrevivem mais tempo do que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Campylobacter jejuni*.

Os gêneros *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*, pertencentes ao grupo conhecido como coliforme total, apresentam frequência similar em águas tratadas e não tratadas, sendo detectados individualmente com a mesma frequência que microrganismos do gênero *Aeromonas* (CLARCK & PAGEL, 1977; CLARCK et al., 1982).

McFETERS et al. (1974) também estudaram sobrevivência de bactérias indicadoras e de patógenos entéricos em águas de poços, observando que o grupo coliforme morre mais rapidamente que o grupo enterococos.

De acordo com MERINO (1976), *Clostridium perfringens* são indicadores de contaminações remotas porque seus esporos possuem resistência considerável em águas minerais naturais. Segundo o mesmo, a presença de *Pseudomonas aeruginosa* supõe deficiência na lavagem das garrafas, instalações para engarrafamento com condições sanitárias duvidosas ou a presença de manipuladores da água portadores de *P. aeruginosa*.

PAYMENT & FRANCO (1993) estudaram a correlação entre cistos de *Giardia lamblia*, oocistos de *Criptosporidium*, vírus entéricos humanos e potenciais indicadores como colifagos e *Clostridium perfringens* em amostras de várias etapas de tratamento e

C. Perfringens apresentou-se como o melhor indicador da eficiência do tratamento para remoção e inativação desses patógenos. FUJIOKA & SHIZUMURA (1985) encontraram *C. perfringens* como excelente indicador de contaminação também em águas recreacionais.

Dessa forma, pode-se perceber que a determinação de coliformes totais e *E. coli* em água indicam contaminação recente, informação que pode ser complementada com a análise de enterococos e *C. Perfringens*, cuja presença sugere contaminação remota, e de *P. aeruginosa* que confirma a ocorrência de práticas inadequadas de higiene.

II.3 Normas de potabilidade e classificação de águas

No Brasil, as águas engarrafadas podem ser minerais ou não-minerais. As minerais têm origem no Decreto Lei nº 7.841 de 8 de agosto de 1945, conhecido amplamente como Código de Águas Minerais. O artigo primeiro desse código define: “águas minerais são aquelas provenientes de fontes naturais ou de fontes artificialmente captadas que possuem composição química ou propriedades físicas ou físico-químicas distintas das águas comuns que lhe confirmam uma ação medicamentosa” (TOMAZ, 1999). Segundo esse autor, devido à obediência ao conceito latino, o Código das Águas Minerais classifica de acordo com a composição química, quanto aos gases existentes nas mesmas e quanto à temperatura da água na fonte. Para a composição química, o artigo 35 estabelece limites mínimos; dessa forma, têm-se as seguintes classes: águas oligominerais (quando apesar de não atingirem os limites mínimos estabelecidos são consideradas minerais), águas radíferas (que contém rádio), águas alcalino-bicarbonatadas (mínimo de 200 mg L⁻¹ de bicarbonato de sódio), águas alcalino-terrosas (mínimo de 120 mg L⁻¹ de carbonato de cálcio), sulfatadas, sulfurosas, nitradas, cloretadas, ferruginosas, radioativas, toriativas (contendo tório) e carbogaseosas. O artigo 36 do referido Código, além do critério químico, classifica quanto aos gases em fontes radioativas (fracamente radioativas ou radioativas), fontes toriativas e fontes sulfurosas. O mesmo artigo dispõe, finalmente, sobre a classificação

quanto à temperatura da fonte: fria (menor que 25 °C), hipotermiais (entre 25 e 33 °C), mesotermiais (entre 33 e 36 °C), hipertermiais (acima de 38 °C).

As águas minerais, objeto do Código de Águas Minerais, têm regulamentação dos padrões de potabilidade por meio da Resolução RDC-54, de 15 de junho de 2000 (BRASIL, 2000) que dispõe sobre o Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral Natural e Água Natural, segundo a qual na fonte, poço e na sua comercialização essas não devem apresentar risco a saúde do consumidor (ausência de microrganismos patogênicos) e estar em conformidade com as características microbiológicas descritas abaixo.

Tabela 1. Características microbiológicas das águas minerais.

Microrganismo	Amostra Indicativa Limites	Amostra Representativa			
		n	c	m	M
<i>E. coli</i> ou coliformes (fecais) Termotolerantes/100 mL	Ausência	5	0	-	Ausência
Coliformes totais/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/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
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> /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 <i>C. perfringens</i> /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: número de unidades de amostra a serem coletadas e analisadas individualmente.

c: número de unidades que pode apresentar resultado entre os valores m e M. Quando o valor de c for igual a 0 (zero), existe apenas um valor de tolerância.

m: limite inferior (mínimo) aceitável.

M: limite superior (máximo) aceitável.

NMP: número mais provável.

UFC: unidades formadoras de colônias.

As fontes de consumo alternativo como minas, poços e drenos são normalizadas pela Portaria do Ministério da Saúde nº 1.469, de 10 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Entre os diversos aspectos abordados nessa Portaria têm relevância:

- Artigo 12, Parágrafo 8º - ressalta que em amostras individuais de poços, fontes, nascentes e outras formas de abastecimento sem distribuição canalizada é tolerável a

presença de coliformes totais, na ausência de *Escherichia coli* e, ou coliformes fecais termotolerantes; nesta situação deve ser investigada a origem da ocorrência, tomadas as providências imediatas de caráter corretivo e preventivo, sendo realizada nova análise de coliformes;

- Artigo 4º, Inciso IX - exige a contagem de bactérias heterotróficas, no entanto, não há o estabelecimento de um patamar acima do qual teria havido comprometimento sanitário da fonte.

Um grande passo foi dado pelo Ministério da Saúde em janeiro de 2001, pois a partir dessa data, segundo o Artigo 10, Portaria 1.469, os responsáveis por soluções alternativas de abastecimento precisam de autorização para atuar, obtida mediante apresentação de laudo analítico contendo todos os parâmetros previstos nessa norma, junto à Vigilância Sanitária do município. Necessitam, ainda, seguir as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT para operação do sistema, manter um controle de qualidade dessa água e mandar periodicamente relatórios informando sobre a qualidade da água para a autoridade de saúde local.

II.4 População autóctona

Na microflora da água mineral engarrafada coexistem dois grupos de microrganismos diferentes em origem e propriedades: autóctona, ou microflora própria do substrato e alóctona, microflora contaminante.

A ocorrência natural de bactérias em águas (população autóctona) é conhecida desde o início das atividades da civilização moderna. Elas são organismos saprófitas, algumas das quais pertencentes aos gêneros *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Acinetobacter* e *Alcaligenes* (GELDREICH, 1998).

Devido ao baixo conteúdo nutricional, a presença do gênero *Pseudomonas* na população microbiana de águas naturais é predominante pela conhecida capacidade que suas espécies possuem de degradar compostos orgânicos complexos e utilizá-los como fonte de energia (PELCZAR JÚNIOR et al., 1996).

A peculiaridade metabólica desse grupo pode ser notada por meio das altas velocidades de crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* em águas destiladas hospitalares (FAVERO et al., 1971) e comprovada pelo estudo de KOOIJ et al. (1982), no qual foram testados 45 compostos de baixo peso molecular como fonte de carbono e energia em água de torneira com concentração de $1\mu\text{g L}^{-1}$, sendo observado o consumo de 28 desses.

Em estudo de JAYASEKARA et al. (1998), a população de *Pseudomonas* em águas minerais não carbonatadas australianas esteve presente entre 10 a 10^6 UFC mL^{-1} , sendo *Brevundimonas vesicularis*, *Methylobacterium mesophilicum* e *P. aeruginosa* isolados de 12, 14 e 3 amostras, respectivamente.

O número de microrganismos viáveis em águas engarrafadas inglesas apresentou-se acima de 10^4 UFC mL^{-1} , onde a população novamente foi identificada como sendo constituída de espécies de *Pseudomonas*, predominantemente *P. fluorescens* e *P. vesicularis*, permanecendo poucas diferenças quantitativas e qualitativas depois de seis meses de estocagem (ARMAS & SUTHERLAND, 1999).

MANAIA et al. (1990) realizaram contagem de microrganismos heterotróficos em placas de 15 marcas de águas minerais e obtiveram variação de acordo com a marca e o lote examinado entre 10 a $5,4 \times 10^4$ UFC mL^{-1} a 37°C . Segundo os autores, altos números de bactérias heterotróficas em águas minerais não carbonatadas são considerados como resultado do processo biológico natural da multiplicação dessas bactérias presentes em baixo número na água na fonte, embora em alguns casos ocorra contaminação na linha de engarrafamento.

II.5 População autóctona e fontes de contaminação

Os autóctones consistem em microrganismos que conseguem se fixar fracamente às paredes das garrafas e metabolizar com exoenzimas os compostos orgânicos lá adsorvidos. Segundo SCHMIDT-LORENZ (1976), *Pseudomonas aeruginosa*, *P. cepacia*, *P. fluorescens* são oligocarbotolecentes e constituem a contaminação permanente provindo de homens e animais que colonizam a linha de

engarraamento. Ainda segundo o autor, a presença de nitrato e fosfato potencializam o crescimento bacteriano.

A flora autóctona pode mudar quando a água é extraída da fonte e engarrafada porque biofilmes de bactérias gram positivas da planta de engarraamento podem colonizar a água. MORAIS et al. (1997) observou a ausência de microrganismos produtores de colônias similares a *P. aeruginosa* em amostras coletadas diretamente da fonte e o seu desaparecimento de amostras das etapas de engarraamento depois de um período de acompanhamento de cinco anos, concluindo que esses microrganismos são alóctonas.

MOSSO et al. (1985) encontraram em sua pesquisa com águas mineromedicinais das fontes Plaza e Alcalá, em Carabaña, maior número de cepas de *Pseudomonas* na água envasada, o mesmo tendo sido observado com espécies de *Xanthomonas*, comprovando que o processamento é um fator que adiciona novas populações.

Segundo TAYLOR (1976), as práticas higiênicas de coleta e engarraamento de águas minerais devem incluir o cuidado com a área de captação e recarga do aquífero, por meio da proteção da fonte e com o uso de óleos em bombas imersas que podem fornecer nutrientes para o desenvolvimento bacteriano. Os funcionários da empresa devem ser especialmente vestidos e periodicamente examinados quanto a doenças de veiculação hídrica. É de extrema importância também a higienização da fábrica com detergente neutro e hipoclorito.

BISCHOFBERGER et al. (1990) encontraram contagens de bactérias heterotróficas abaixo de 4 UFC mL⁻¹ na fonte, de 10 UFC mL⁻¹ no reservatório e logo após o processamento, e de 10⁴ a 10⁵ UFC mL⁻¹ após uma semana de estocagem a 20 °C, respectivamente em embalagens de vidro e plástico. Esses autores observaram que a flora gram negativa presente na fonte foi substituída em 30% no reservatório por espécies gram positivas, que por sua vez tiveram diferentes predominâncias após o acondicionamento.

A microflora de uma fonte francesa apresentou inicialmente contagem de bactérias inferior 10 bactérias mL⁻¹ que aumentou para 3 x 10⁵ UFC mL⁻¹ depois de 6

dias de estocagem. O crescimento máximo, que poderia ter atingido 10^7 UFC mL⁻¹, foi atribuído ao baixo conteúdo nutricional, à entrada das bactérias na forma viável não culturável para sobreviver ao estresse do engarrafamento e ao ambiente oligotrófico (DEFIVES et al., 1999).

A ausência de crescimento durante a estocagem de águas coletadas na fonte contrário ao desenvolvimento da população microbiana até o patamar de 10^3 UFC mL⁻¹ em amostras coletadas na fábrica, nível idêntico ao encontrado nas águas já engarrafadas à venda nos mercados, também leva a concluir que houve contaminação durante o envase (GONZÁLEZ et al. 1987).

A estocagem de água do mar também é acompanhada pelo aumento do número de bactérias e diminuição na quantidade de espécies, características que são acentuadas em recipientes de pequeno volume. Segundo ZOBELL & ANDERSON (1936), esse efeito ocorre em soluções bem diluídas porque a disponibilidade, para os microrganismos, de nutrientes adsorvidos na parede do recipiente é maior quando a relação área superficial:volume de líquido é alta.

FEWTRELL et al. (1997) amostraram 1082 unidades de 17 marcas de águas engarrafadas vendidas na Inglaterra e encontraram 4 contendo coliformes totais, 1 contendo clostrídios sulfito redutores e 13 contendo *P. aeruginosa* em amostras correspondendo a 11 marcas. Destas, 2% das amostras de águas minerais e 1,3% de outras águas engarrafadas estavam fora do padrão microbiológico estabelecido na Inglaterra pelo Natural Mineral Water Regulations e Drinking Waters in Containers Regulations. Esse fato foi atribuído à deficiência na extração e engarrafamento das águas.

OGAN (1992) não encontrou streptococos e coliformes fecais em noventa amostras de águas engarrafadas e apesar disso isolou *Pseudomonas aeruginosa* em cinco dos dezesseis lotes de duas marcas nigerianas, as quais apresentaram resistência variando de 4 a 9 dos 14 antibióticos testados.

ROSENBERG (1990) obteve como principais isolados em seus estudos *P. stutzeri*, *P. diminuta*, *P. Fluorescens* e *P. putida*. Cinco espécies de *Pseudomonas*

também foram obtidas no Massachusetts General Hospital e a correlação entre espécies clínicas e os isolados ambientais resistentes a antibiótico foi de 85%.

Pseudomonas maltophilia, cerca de 5,6% dos isolados por DUQUINO & ROSENBERG (1987) em oito marcas de águas minerais não apresentaram sensibilidade a nenhum dos antibióticos testados que incluíam ampicilina, cefoxitina, gentamicina, polimixina B e colistina, mostrando a necessidade de monitoramento periódico das águas para patógenos, não somente para coliformes.

A importância de *P. aeruginosa* em águas deve ser considerada uma vez que além de indicadora de contaminação é também um patógeno oportunista que freqüentemente está envolvido com infecções que variam em local e severidade: desde infecções superficiais como foliculites e piodermites à pneumonia em pacientes com pneumopatia crônica expostos a aerossóis contendo água contaminada (Molina et al., 1991 citado por LEGNANI et al., 1999). Atualmente, a faixa de população vulnerável a patógenos oportunistas como idosos, aidéticos e indivíduos HIV positivos tem sido expressiva e deve ser considerada quanto ao consumo de águas de qualidade.

Em amostras de águas superficiais, o número de *P. aeruginosa* refletiu o nível de poluição doméstica, estando ausente em áreas agrícolas e fracamente habitadas, sendo acompanhada paralelamente pelo número de *E. coli* (WHEATER et al., 1980).

Segundo WARBURTON et al. (1994a), a presença de *P. aeruginosa* potencializa a permanência de *Aeromonas hydrophila*, por mais de 60 dias, exibindo também efeito sinérgico com *Salmonella* spp., tornando-a hábil para sobreviver em águas duplamente destiladas por mais de 140 dias.

LEGNANI et al. (1999) inocularam *P. aeruginosa* em água mineral que apresentou a fase lag entre três e seis horas, e o período de maior densidade celular no estudo de cinco anos coincidiu com a fase em que são compradas e consumidas, de sete a setenta dias.

WARBURTON et al. (1986), pesquisou coliformes, coliformes fecais ou *E. coli* e contagem de colônias aeróbicas em cento e quatorze lotes de águas engarrafadas vendidas no Canadá. Dez desses lotes apresentaram-se em condições insatisfatórias por terem excedido o limite de contagem de colônias aeróbicas.

No período de 1983 a 1989, WARBURTON & DODDS (1992) analisaram mil e nove amostras de águas engarrafadas e encontraram coliformes e *P. aeruginosa* em águas de fontes, águas destiladas e águas engarrafadas, atribuindo essa contaminação às embalagens e ressaltando a necessidade de desinfecção de águas engarrafadas.

A higiene adequada das embalagens é de extrema importância, pois *Escherichia coli* O157:H7 permanece viável por períodos maiores de trezentos dias quando inoculadas em águas engarrafadas (WARBURTON et al., 1998a). De acordo com observações através de microscopia de escaneamento de elétrons feitas pelos autores, *E. coli* O157:H7 permanece aderida à parede da embalagem com capacidade de multiplicação.

A colonização da embalagem também foi estudada por JONES et al. (1999) que observaram em garrafas de 1,5 L de três marcas, estocadas de 1 a 2 meses, que cerca de 0,03 a 1,79% da população microbiana viável formavam biofilme. Nesse caso, houve correlação com a rugosidade da embalagem e especificidade de acordo com o material: bastonetes distribuídos espaçadamente em polietilenotereftalato (PET) e células cócoides amontoadas em polietileno de alta densidade.

HEUKELEKIAN & HELLER (1940) observaram que em concentrações de glicose e peptona de até 25 mg L⁻¹, o aumento da área superficial:volume com agitação, aeração e principalmente adição de pérolas de vidro aumenta significativamente o desenvolvimento da população microbiana. Nessa faixa, o aumento de superfície habilita o microrganismo a uma maior taxa de crescimento devido à concentração superficial de alimentos e bactérias.

A colonização de superfícies de policloreto de vinila (PVC) à sobrevivência a vários germicidas e restabelecimento da colonização com água destilada estéril foi estudada por VESS et al. (1993) que utilizou *P. aeruginosa*, *P. cepacia*, *P. mesophilica*, *Acinetobacter anitratus*, *Mycobacterium chelonae* var. *abcessus*. As maiores resistências observadas foram atribuídas à *P. aeruginosa* e à micobactéria que sobreviveram após sete dias de contato com águas contendo desinfetante iodado, quaternário de amônia, cloro livre, detergente fenólico e formaldeído, sendo que a última resistiu também a antiséptico iodado e glutaraldeído. As observações de microscopia por elétron

escaneamento revelaram a aderência das bactérias ao PVC e a formação de material extracelular que recobriu toda a célula, o que mostra que bactérias comuns à água podem colonizar o interior da superfície de PVC e desenvolver resistência a vários desinfetantes.

No Brasil, DAVID et al. (1999) pesquisaram coliformes totais e fecais, microrganismos mesófilos aeróbios, *Pseudomonas* e enterobactérias em oito amostras de água, sendo 4 de água mineral de diferentes marcas e 4 de águas de abastecimento. Em duas marcas de água mineral não houve crescimento de nenhum indicador e em outras duas marcas observaram teste positivo para coliformes totais e *Pseudomonas* (e confirmatório para *Pseudomonas aeruginosa* para uma dessas). A suspeita de contaminação no engarrafamento e armazenamento foi levantada diante da contagem de mesófilos aeróbios ter sido superior a 300 UFC mL⁻¹ em todas as amostras minerais. Segundo os autores, apenas uma amostra de água de abastecimento apresentou contaminação por coliformes totais, estando em desacordo com o padrão de potabilidade exigido pela Portaria n° 36, de 19 de janeiro de 1990.

Embora GELDREICH et al. (1975) não tenham encontrado coliformes freqüentemente em suas pesquisas com águas engarrafadas, 42% das amostras excediam o limite de 1.000 UFC mL⁻¹. Os autores relacionaram a boa qualidade inicial das águas à qualidade da fonte, no entanto, a pouca higiene das instalações de engarrafamento ou a reutilização de embalagens de vidro não limpas resultaram nesse elevado número de amostras, excedendo o padrão para microrganismos heterotróficos.

A importância da higiene adequada das embalagens para a qualidade microbiológica da água envasada pode ser comprovada com os estudos de JAYASEKARA et al. (1999), que mostraram que entre 5 a 44% do total da população microbiana está aderida à superfície da parede da embalagem, variando de acordo com a marca e o lote examinado. Micrografias dessas superfícies possibilitaram estimar em 10⁷ células cm⁻² a densidade de bactérias aderidas formando microcolônias, mas não apresentando biofilme visível.

A população contaminante pode atingir as águas ainda no lençol freático como no sul da Flórida, onde a contaminação fecal de aquíferos rasos e de águas superficiais

foi atribuída à prática de disposição descentralizada de esgoto principalmente na forma de fossas sépticas (PAUL et al., 1995). O esgoto é uma fonte muito comum de contaminação bacteriana de todos os tipos de água, tais como minas, fontes, águas de abastecimento público e águas engarrafadas (WARBURTON, 1993).

MALARD et al. (1994) observou que no sul da França a contaminação de águas subterrâneas medida com coliformes totais, coliformes fecais e streptococos fecais se dá por meio dos mecanismos controladores de recarga, tais como infiltração rápida através de fraturas nas rochas calcáreas localizadas sob o leito de rios poluídos ou percolação em períodos de chuva, no caso de formações rochosas menos permeáveis.

Outras fontes de água para consumo alternativo são as fontes subterrâneas particulares ou poços, que dependendo da capacidade filtrante do solo, podem estar livres de contaminação e serem próprias para o consumo humano.

É importante que as avaliações microbiológicas das fontes de águas sejam realizadas tanto na estação das chuvas quanto no período da seca, pois em muitas situações existe uma correlação direta entre a quantidade de chuvas e a profundidade de águas subterrâneas, observando-se que as chuvas torrenciais podem conduzir à contaminação bacteriana aos poços devido à infiltração proporcionada desde a superfície (VILLEGAS, 1988) levando a um aumento considerável de diarreia em áreas rurais de países em desenvolvimento no período de chuva (BARRELL & ROWLAND, 1979). Segundo esses autores, é de grande importância para a saúde pública o entendimento da relação entre a incidência de chuvas e a qualidade das águas subterrâneas e poucos estudos foram elaborados nesse sentido.

CHARRIERE et al. (1994), monitorando a qualidade microbiológica de fontes de água para consumo humano, verificaram que em águas que receberam pesadas chuvas, com afluência de material suspenso e microrganismos, 92,1% das 813 amostras analisadas estavam contaminadas e entre elas, 95% continham coliformes fecais termotolerantes, na maioria dos casos *Escherichia coli*.

II.6 Contaminação química das águas de consumo alternativo: teor de nitratos

A água, além de contaminação microbiológica, pode conter substâncias químicas que, em concentrações acima dos volumes máximos permitidos (VMP) determinados na legislação vigente, causam danos à saúde da população. Dentre essas substâncias, os nitratos têm chamado a atenção da comunidade científica.

De acordo com TERBLANCHE (1991), a fonte primária encontrada no ambiente são os nitratos formados a partir do nitrogênio e oxigênio atmosférico quando submetidos a descargas elétricas. Esses chegam no solo com o auxílio das chuvas, sendo absorvidos pelas plantas para produção de proteínas vegetais, as quais são transformadas em proteínas animais após a ingestão por animais herbívoros. Na morte das plantas e animais há liberação de amônia que é posteriormente oxidada a nitrito e nitrato, concluindo parte do chamado Ciclo do Nitrogênio.

Dessa forma, é sabido que o nitrato encontra-se naturalmente em concentrações moderadas em muitos ambientes, no entanto, é freqüentemente enriquecido em níveis contaminantes por atividades antropogênicas envolvendo compostos nitrogenados como fertilizantes, sistemas sépticos ou esterco (Komor & Anderson, 1993, citados por WILLIAMS, 1998).

Crianças até 6 meses de idade que consomem água com concentração excedendo 10 mg de N/L na forma de nitrato desenvolvem o quadro conhecido como metemoglobinemia ou síndrome do bebê azul (TYSON et al., 1999). Esse problema ocorre porque bactérias do sistema digestivo convertem nitrato em nitrito que após absorção tornam a hemoglobina incapaz de liberar oxigênio produzindo sintomas de asfixia.

O estudo de ARBUCKLE et al. (1988) sobre a influência de nitratos na ocorrência de bebês com defeitos no sistema nervoso central em New Brunswick, Canadá, revelou que o efeito da exposição a nitrato em águas era diferente se a fonte era privada ou de abastecimento público. Exposições em níveis de nitrato de 26 mg L⁻¹ de poços particulares foram associados a um moderado, mas não estatisticamente significativo aumento no risco de ocorrência de nascimentos com problemas no sistema nervoso central.

Diante da ausência de explicação com fatores de risco conhecidos para o aumento em 70% da incidência de linfoma de não Hodgkins no meio rural dos Estados Unidos durante os últimos 25 anos, WARD et al. (1996) procurou correlação com a concentração de nitrato em águas de poços utilizados para consumo primário em Nebraska. Seus resultados mostraram que o consumo de águas contendo nitrogênio na forma de nitrato com teores acima de 4 mg L^{-1} aumentam o risco de linfoma de não Hodgkins.

FLATEN & BOLVIKEN (1991) estudaram a associação geográfica entre a composição química da água e a mortalidade e morbidade por câncer e algumas outras doenças na Noruega e encontraram correlação negativa entre câncer gástrico e nitrato, salientando que esse fato não poderia ser utilizado como evidência de ausência dessa relação porque as águas estudadas tinham concentração média de $0,68 \text{ mg de NO}_3 \text{ L}^{-1}$. Houve correlação positiva para câncer do útero e melanoma maligno.

Níveis de nitrato entre $20 \text{ e } 44 \text{ mg L}^{-1}$ foram encontrados associados a áreas de criação de gado no município de Houston, comunidade rural do estado do Texas, e poços contendo nitrato acima do nível de 45 mg L^{-1} foram localizados em distância menor que 5 m de tanques sépticos (BROOKS & CECH, 1979). O tipo de poço também diferenciou quanto ao teor de nitratos: poços rasos, com cerca de 15 m ou menos de profundidade, apresentaram altas concentrações; nesses poços também foram encontrados coliformes fecais ou streptococos fecais. Os autores utilizaram esses dados para localizar a fonte de contaminação para poços rasos: poços com altas taxas de nitrato e relação coliformes fecais: streptococos fecais igual ou maior que um sugeriam contaminação doméstica; em contrapartida, os níveis moderados de nitrato associados à relação coliforme fecal: streptococo fecal menor que 0,6 eram de amostras de poços localizados próximos a currais.

No Brasil, o limite de 10 mg N L^{-1} para a concentração de nitratos em águas minerais é expresso na Resolução RDC-54 (BRASIL, 2000). Esse mesmo limite é estabelecido para águas de poços utilizados em consumo alternativo na Portaria 1.469 (BRASIL, 2001).

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1 Material

III.1.1 Água

Foram estudadas águas de dois tipos: água mineral e água de poço.

III.1.1.1 Águas minerais

A água mineral foi analisada considerando-se três marcas (A, B e C), três tamanhos de embalagens (copos descartáveis de polipropileno de 0,2 L, garrafas descartáveis de polipropileno de 1,5 L e galões reutilizáveis de polipropileno de 20 L) em 5 lotes e 5 repetições, totalizando 225 amostras.

A Tabela 2 apresenta as características físico-químicas das três marcas de águas minerais analisadas (A, B e C), conforme descrito nos rótulos das embalagens. As características complementares são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 2. Características físico-químicas das águas minerais A, B e C.

Parâmetro	Unidade	A	B	C
Bário	mg L ⁻¹	-	0,11	-
Estrôncio	mg L ⁻¹	-	0,05	-
Cálcio	mg L ⁻¹	-	7,21	-
Magnésio	mg L ⁻¹	-	3,40	-
Potássio	mg L ⁻¹	-	1,50	-
Sódio	mg L ⁻¹	-	5,20	-
Sulfatos	mg L ⁻¹	-	0,07	-
Cloretos	mg L ⁻¹	-	1,19	-
Fosfato de bário	mg L ⁻¹	-	-	0,16
Fosfato de estrôncio	mg L ⁻¹	-	-	0,01
Sulfato de estrôncio	mg L ⁻¹	-	-	0,13
Sulfato de cálcio	mg L ⁻¹	-	-	0,29
Fluoretos	mg L ⁻¹	-	0,17	-
Fluoreto de potássio	mg L ⁻¹	-	-	0,11
Nitratos	mg L ⁻¹	-	1,08	-
Nitrato de potássio	mg L ⁻¹	-	-	7,09
Nitrato de sódio	mg L ⁻¹	-	-	6,65
Cloreto de sódio	mg L ⁻¹	-	-	0,71
Bicarbonatos	mg L ⁻¹	-	51,54	-
Bicarbonato de cálcio	mg L ⁻¹	4,68	-	24,72
Bicarbonato de magnésio	mg L ⁻¹	3,15	-	10,36
Bicarbonato de potássio	mg L ⁻¹	1,79	-	1,34
Bicarbonato de bário	mg L ⁻¹	0,85	-	-
Bicarbonato de sódio	mg L ⁻¹	1,48	-	-
pH a 25 °C		6,2	5,94	5,83
Temperatura da água na fonte	°C	23,5	25,3	24,1
Resíduo de evaporação a 180 °C	mg L ⁻¹	46,30 mg L ⁻¹	17,4 mg L ⁻¹	53,71 mg L ⁻¹
Condutividade elétrica	mhos cm ⁻¹	9,7 * 10 ⁻⁴	1,09 * 10 ⁻⁵	7,21 * 10 ⁻⁴

- ausência.

Tabela 3. Características complementares das águas minerais A, B e C.

Parâmetro	A	B	C
Validade	2 meses (20 L)	2 meses (20 L)	2 meses (20 L)
	12 meses (0,2 L e 1,5L)	12 meses (0,2 L e 1,5L)	12 meses (0,2 L e 1,5L)
Tipo	Sem gás	Sem gás	Sem gás
Classificação	Água mineral hipotermal na fonte	Água mineral fluoretada, fracamente radioativa na fonte	Água mineral fluoretada

III.1.1.2 Águas de poços

Foram analisadas águas de sete poços, sendo quatro rasos e três profundos, todos localizados no perímetro urbano do município de Jaboticabal, SP, e fornecedores de água para consumo humano para uma única residência ou para a população.

Os poços 1, 2, 3 e 4 consistem em poços rasos localizados em residências e são utilizados como fonte de água para beber. Em todos esses casos, o abastecimento doméstico se faz com auxílio de bombas.

Os poços 5 e 6 consistem em poços profundos e, embora localizados em propriedades particulares, forneciam água gratuitamente para a população de Jaboticabal que a utilizava para o consumo primário. A publicação da Portaria 1.469 (BRASIL, 2001) em janeiro de 2001 passou a normalizar esse tipo de abastecimento de água e sujeita os proprietários à fiscalização pela autoridade de Vigilância Sanitária municipal, levou os mesmos a suspenderem o fornecimento em março e junho do mesmo ano, respectivamente.

O poço 7 consiste em um poço profundo localizado em área pública e fornece água gratuitamente para o consumo primário da população e não interrompeu o abastecimento com o advento da Portaria 1.469 (BRASIL, 2001).

As características destes poços são mostradas na Tabela 4.

Tabela 4. Características dos poços analisados.

Poço	Profundidade (m)	Localização		
		Latitude	Longitude	Altitude (m)
1	36	21 15'57.36621"S	48 18'21.70146"W	618
2	35*	21 15'46.48489"S	48 18'35.53107"W	599
3	32	21 14'45.96201"S	48 19'14.82676"W	603
4	35	21 14'12.79079"S	48 19'41.89287"W	648
5	120	21 15'12.79708"S	48 19'03.73115"W	573
6	130	21 15'42.68275"S	48 19'31.47649"W	632
7	458	21 14'21.75503"S	48 17'33.30188"W	574

* Valor aproximado

Determinação: Departamento de Engenharia Rural, FCAV/UNESP.

III.2 Métodos

III.2.1 Amostragem

As amostras de água mineral foram compradas em distribuidoras de água em Jaboticabal, SP, sendo trazidas para o Laboratório de Alimentos de Origem Animal e Água localizado no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Não houve padronização do tempo entre a data do engarrafamento e a data de análise, considerando-se como pertencentes ao mesmo lote amostras que tinham sido engarrafadas no mesmo dia.

As embalagens contendo 20 L e 1,5 L foram abertas assepticamente, descartando-se 100 mL, fechando-se em seguida e homogeneizando-se o conteúdo por meio de agitação em movimentos verticais e horizontais alternados. Na seqüência, retirou-se uma amostra de 500 mL utilizando-se frascos estéreis, conforme recomendação de BISCHOFBERGER et al. (1990). Para embalagens de 0,2 L, preparou-se amostra composta fazendo a agitação de três unidades e coletando-se o volume de 500 mL, utilizando-se os mesmos frascos estéreis.

As águas dos poços particulares foram coletadas deixando-se escoar a água por 5 minutos através de torneira e também armazenando as amostras assepticamente em frascos de vidro de 500 mL esterilizados.

As amostras de água de poço também foram transportadas para o mesmo laboratório, utilizando-se caixa isotérmica contendo cubos de gelo.

III.2.2 Análises microbiológicas

III.2.2.1 *Pseudomonas aeruginosa* (APHA, 1992)

Para a análise de *Pseudomonas aeruginosa* utilizou-se o método padrão sem modificações, realizada a partir de volumes de 100 mL de cada amostra de água, filtrada através de um aparelho de filtração Millipore contendo membranas filtrantes com porosidade de 0,45 μm .

No teste preliminar, após a filtração, a membrana foi colocada em placa de Petri contendo Ágar M - PA - C (BBL™), invertendo-se as placas em seguida e incubando a $41,5 \pm 0,5$ °C durante 72 horas.

Após a incubação, com auxílio de contador de colônias, foram contadas as colônias com 0,8 a 2,2 mm de diâmetro, achatadas com bordas claras e o centro de verde a marrom.

No teste para confirmação, foi feita a semeadura de 3 a 5 colônias isoladas em M - PA - C (BBL™) em estrias sobre a superfície de Ágar Leite: 100 g de leite desnatado instantâneo (Nestlé), 500 mL de água (solução A) e 12,5 g de caldo nutriente (Oxoid), 2,5 g de cloreto de sódio (Vetec), 15,0 g de ágar (Merck) e 500 mL de água (solução B), misturando-se as soluções A e B depois de serem esterilizadas separadamente. A incubação foi conduzida a $35 \pm 1,0$ °C durante 24 horas.

Considerou-se confirmatória a produção de um pigmento amarelo esverdeado, o qual é produto da hidrólise da caseína (presente no meio ágar leite) por *Pseudomonas aeruginosa*. O resultado foi expresso como Unidades Formadoras de Colônias (100 mL^{-1}) da amostra.

III.2.2.2 Clostrídios sulfito redutores (SARTORY et al., 1998)

Para a contagem de clostrídios sulfito redutores utilizou-se o método oficial canadense, realizada a partir de volumes de 100 mL de cada amostra de água, filtrada através do emprego de um aparelho de filtração Millipore contendo membranas filtrantes com porosidade 0,45 μm .

Depois da filtração, as membranas foram transferidas para placas de Petri contendo meio TSC preparado com Ágar Base Perfringens (triptose 15 g/L, peptona de soja 5,0 g/L, extrato de carne 5,0 g/L, extrato de levedura 5,0 g/L, metabissulfito de sódio 1,0 g/L, citrato de ferro amoniacal 1,0 g/L e ágar 14,0 g/L) e D-Cicloserina (Oxoid), de acordo com instruções do fabricante do meio.

As placas foram incubadas abertas e intercaladas em jarra de anaerobiose contendo Anaerobac (Probac), para geração do ambiente adequado. Utilizou-se a temperatura de 35 °C por 24 horas. As colônias negras foram contadas como Unidades Formadoras de Colônias (100 mL^{-1}) da amostra.

III.2.2.3 Coliformes totais e *Escherichia coli* (APHA, 1992)

Para utilização de método do substrato cromogênico, foram transferidos 100 mL de amostra para frasco de vidro estéril de 250 mL e adicionado o meio Colilert (Idexx). Após agitação e completa dissolução, a mistura foi transferida para cartela Quanti-Tray/2000, selada logo após em seladora Quanti-Tray.

Após incubação das cartelas feita a 35 °C por 24 horas, foram contadas as concavidades que desenvolveram coloração amarela e consultando a tabela de Número Mais Provável (NMP), sendo os resultados expressos em NMP (100 mL^{-1}).

A exposição da mesma cartela à luz ultravioleta de 365 nm possibilitou a contagem de concavidades com fluorescência produzida por *Escherichia coli* quando utiliza β -gluconidase para metabolizar MUG (4 metil umberliferil β -d- glucoronídeo), que foram expressas após consultada a tabela de Número Mais Provável como NMP (100 mL^{-1}).

III.2.2.4 Enterococos (APHA, 1992)

Foram transferidos 100 mL de amostra para frasco estéril de 250 mL e adicionado o meio Enterolert (Idexx). Após agitação e completa dissolução, a mistura foi transferida para cartela Quanti-Tray/2000, selada logo após utilizando-se seladora Quanti-Tray.

Após incubação das cartelas em temperatura de 42 °C por 24 horas, foram contadas as concavidades que desenvolveram fluorescência quando exposta à luz ultravioleta de 365 nm e consultando a tabela de Número Mais Provável os resultados foram expressos em NMP (100 mL⁻¹).

III.2.3 Análise química

III.2.3.1 Nitrato

Utilizou-se o método de redução por cádmio (APHA, 1992) com adaptação citada pelo HACH COMPANY MANUAL (s.d.) em que o volume de 25 mL da amostra foi medido diretamente na cubeta e adicionou-se NitraVer 5 Nitrate Reagent Powder Pillow (Hach) seguido de agitação durante 1 minuto.

Depois da mistura permanecer em repouso por 5 minutos, o branco (amostra sem adição de reagente) foi utilizado para zerar o espectrofotômetro. Em seguida, foi feita a leitura da amostra expressa em mg de nitrogênio na forma de nitrato por litro de amostra (mg N-NO₃/L).

III.2.4 Análise estatística

III.2.4.1 Água mineral

Os dados foram analisados em esquema fatorial 3 x 3 x 5 (três marcas de água, três volumes de embalagens e cinco lotes), num delineamento inteiramente casualizado

com 5 repetições (STEEL & TORRIE, 1960), totalizando 45 tratamentos e 225 observações. Os resultados da análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram realizados desdobramentos da interação entre dois fatores, de acordo com BANZATTO & KRONKA (1995).

III.2.4.2 Águas de poço

O experimento com água de poço foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 7 x 2 (7 poços em dois períodos de observações). Os períodos de observação foram chuva (Janeiro/2001 com precipitação média diária de 6,7 mm) e seca (maio/2001, com precipitação média diária de 2,9 mm). O presente experimento teve 14 tratamentos e 5 repetições (STEEL & TORRIE, 1960), totalizando 70 observações. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, tendo efetuado desdobramento nas interações entre os fatores.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão apresentados na forma de Tabelas, nas quais as médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas colunas ou de mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para os fatores com interações significativas, foram montadas Tabelas de desdobramentos dos resultados.

Para maior clareza e melhor interpretação dos resultados, a apresentação geral das Tabelas segue a seguinte ordem:

- Síntese da análise de variância e teste de médias para as variáveis comparativas para água mineral;
- Resultados de interações significativas entre os fatores para água mineral.
- Síntese da análise de variância e teste de médias para as variáveis comparativas para água de poço;
- Resultados de interações significativas entre os fatores para água de poço.

Os dados originais são mostrados no Apêndice.

IV.1 Águas minerais

As Tabelas 5 e 6 apresentam a análise de variância e teste de médias para *Pseudomonas aeruginosa*, clostrídios sulfito redutores, coliformes totais, *Escherichia coli*, enterococos e nitrato, respectivamente.

Tabela 5. Análise de variância e teste de médias para *Pseudomonas aeruginosa*, clostrídios sulfito redutores e coliforme total nas amostras de águas minerais. (Jaboticabal, SP-2001)

Fatores	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC (100 mL) ⁻¹	Clostrídios sulfito redutores UFC (100 mL) ⁻¹	Coliforme total NMP (100 mL) ⁻¹
MARCA (M)			
A	17,75 a	0,03 ab	3,20 a
B	0,35 b	0,00 b	8,53 a
C	1,69 ab	0,09 a	2,41 a
DMS	16,06	0,07	16,32
VOLUME (V)			
0,2 L	10,48 a	0,00 b	0,07 a
1,5 L	0,31 a	0,00 b	2,75 a
20 L	9,00 a	0,12 a	11,33 a
DMS	16,06	0,07	16,32
LOTE (L)			
Lote-1	27,40 a	0,00 b	14,94 a
Lote-2	1,73 b	0,00 b	1,72 a
Lote-3	2,42 b	0,04 ab	4,87 a
Lote-4	1,04 b	0,11 a	0,95 a
Lote-5	0,38 b	0,04 ab	1,10 a
DMS	24,18	0,10	24,58
TESTE F			
M	4,06 *	4,88 **	0,47 ns
V	1,31 ns	10,13 **	1,45 ns
L	3,53 **	2,63 *	0,89 ns
M x V	1,28 ns	4,88 **	0,93 ns
M x L	3,89 **	3,94 **	1,12 ns
V x L	1,23 ns	2,63 **	1,15 ns
M x V x L	1,20 ns	3,94 **	0,97 ns

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

ns: não significativo (P>0,05)

*: significativo (P<0,05)

**: significativo (P<0,01)

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

NMP: número mais provável

Tabela 6. Análise de variância e teste de médias para *Escherichia coli*, enterococos e nitrato nas amostras de águas minerais. (Jaboticabal, SP-2001)

Fatores	<i>Escherichia coli</i> NMP (100 mL) ⁻¹	Enterococos NMP (100 mL) ⁻¹	Nitrato (mg N - NO ₃ L ⁻¹)
MARCA (M)			
A	0,00 a	1,29 b	1,14 c
B	0,00 a	6,03 ab	2,11 b
C	0,00 a	83,62 a	2,48 a
DMS	0,00	77,71	0,15
VOLUME (V)			
0,2 L	0,00 a	0,07 b	1,94 a
1,5 L	0,00 a	0,03 b	1,92 a
20 L	0,00 a	90,85 a	1,87 a
DMS	0,00	77,71	0,15
LOTE (L)			
Lote-1	0,00 a	58,32 a	1,98 a
Lote-2	0,00 a	0,09 a	2,02 a
Lote-3	0,00 a	23,14 a	1,85 a
Lote-4	0,00 a	69,92 a	1,87 a
Lote-5	0,00 a	0,11 a	1,84 a
DMS	0,00	117,02	0,22
TESTE F			
M	0,00 ns	3,96 *	250,07 **
V	0,00 ns	5,09 **	0,73 ns
L	0,00 ns	1,17 ns	2,19 ns
M x V	0,00 ns	3,95 **	6,29 **
M x L	0,00 ns	1,24 ns	8,03 **
V x L	0,00 ns	1,18 ns	1,31 ns
M x V x L	0,00 ns	1,24 ns	1,89 *

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

ns: não significativo (P>0,05)

*: significativo (P<0,05)

**: significativo (P<0,01)

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

NMP: número mais provável

IV.1.1 Parâmetros microbiológicos

IV.1.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa esteve presente em 34 dentre 225 amostras analisadas. De acordo com a Resolução RDC-54/00 (BRASIL, 2000), que define o padrão de potabilidade para águas minerais, para amostras indicativas o limite consiste em ausência em 100 mL, mostrando neste caso que 15% das águas minerais

analisadas estavam fora do padrão de potabilidade. Estes resultados estão acima dos resultados presentes na literatura, dos quais pode-se citar os estudos de FEWTRELL et al. (1997) em águas engarrafadas inglesas, em que *Pseudomonas aeruginosa* esteve presente em 13 das 1.082 unidades analisadas (1,2%) e de WARBURTON et al. (1998b) que encontraram *Pseudomonas aeruginosa* em 33 (1,2%) de 3.460 amostras de águas minerais analisadas no período de 1992 a 1997 no Canadá. Os últimos autores também destacam que esse microrganismo é indicador da ausência de boas práticas de engarrafamento e ressaltam que há necessidade de melhorias na inspeção das engarrafadoras. A distribuição em porcentagem de amostras que apresentaram *Pseudomonas aeruginosa* nos fatores estudados e a comparação com outros estudos são mostradas na Figura 1.

Quanto à análise estatística dos resultados, de acordo com a Tabela 5, nota-se que para essa variável ocorreu interação significativa entre os fatores marca e lote. As médias da interação referente a esses fatores são mostradas na Tabela 7.

Analisando-se o fator lote dentro do fator marca, percebe-se na Tabela 7 que para a marca A houve diferença significativa do primeiro lote em relação aos demais, caracterizando-se uma contaminação pontual acentuada. Nas marcas B e C, a concentração de *Pseudomonas aeruginosa* foi semelhante entre os lotes.

Conforme pode-se notar na Tabela 7, as amostras referentes ao primeiro lote apresentaram uma elevada contagem na marca A, que diferiu das marcas B e C. Nos demais lotes não se observaram diferença entre as marcas.

A presença de *Pseudomonas aeruginosa* nas três marcas pode ser explicada por meio de sua capacidade de aderência a superfícies pois, de acordo com SCHMIDT-LORENZ (1976), no primeiro contato de *Pseudomonas aeruginosa* com a linha de engarrafamento, pode haver colonização dos tanques ou de outras partes, de modo a fornecer uma contaminação constante para as águas que passem por esse ponto. Garrafas e tampas novas não estéreis também podem ser uma fonte de contaminação (WARBURTON & DODDS, 1992).

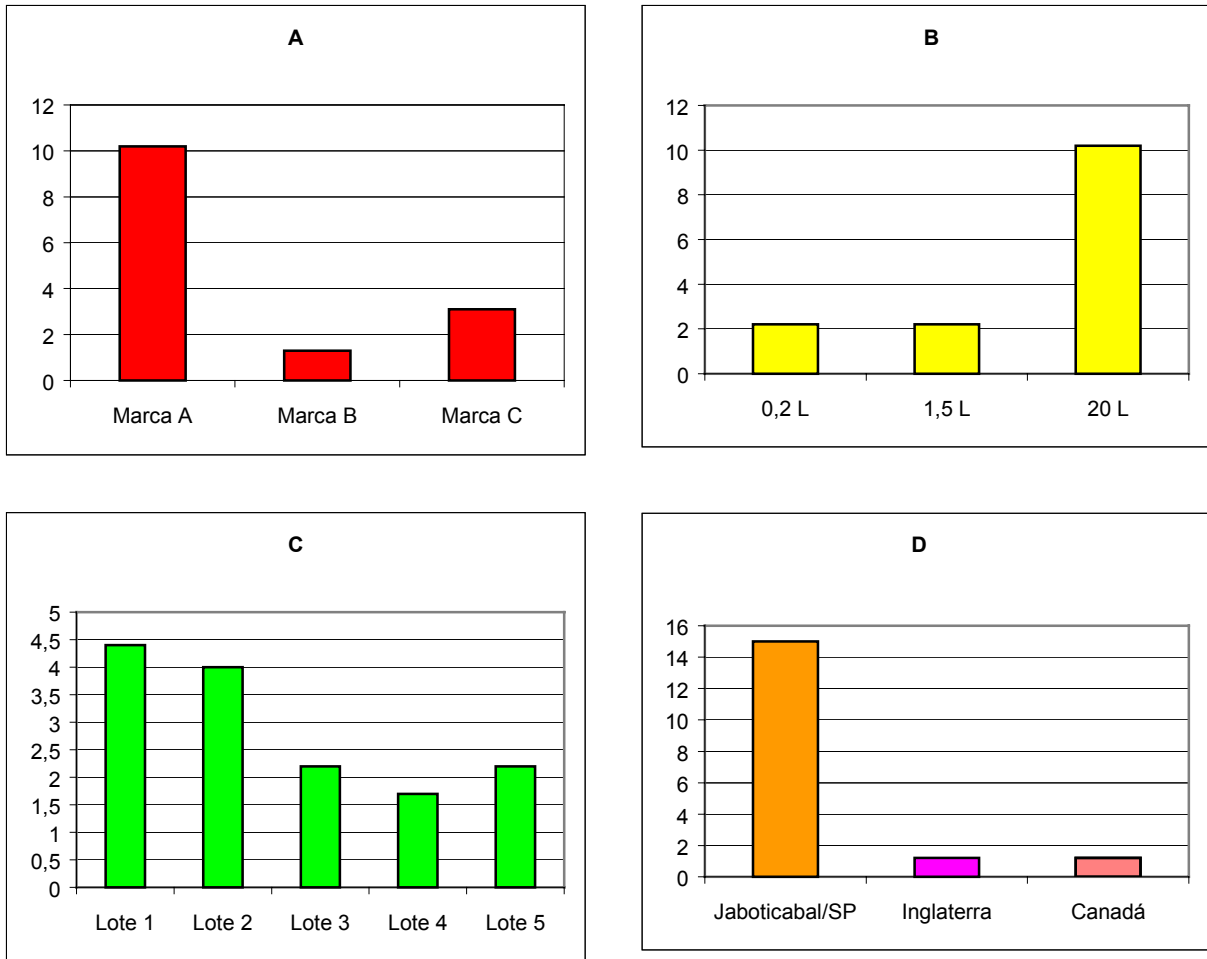


Figura 1. Porcentagem (%) de amostras contendo *Pseudomonas aeruginosa* por marca em A, por volume de embalagem em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D.

Tabela 7. Interação entre os fatores marca e lote para a variável *Pseudomonas aeruginosa* [UFC (100 mL^{-1})].

Lote	Marca		
	A	B	C
Lote-1	82,20 a A	0,00 a B	0,00 a B
Lote-2	3,33 b A	1,00 a A	0,87 a A
Lote-3	2,80 b A	0,00 a A	4,47 a A
Lote-4	0,20 b A	0,00 a A	2,93 a A
Lote-5	0,20 b A	0,73 a A	0,20 a A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS de lote dentro de marca 41,88.

DMS de marca dentro de lote 35,90.

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

IV.1.1.2 Clostrídios sulfito redutores

Estes resultados referem-se à presença de clostrídios sulfito redutores em 7 dentre 225 amostras analisadas, ou seja, 3% das águas minerais estavam fora do padrão de potabilidade quanto a esse indicador de contaminação, uma vez que a Resolução RDC-54/00 (BRASIL, 2000) estabelece que amostras indicativas devem apresentar ausência em 100 mL. Estes resultados mostram um déficit na qualidade dessas águas quando comparadas com o estudo realizado por WARBURTON et al. (1998b) que não constataram a presença de clostrídios sulfito redutores em 267 amostras de águas engarrafadas consumidas no Canadá e de FEWTRELL et al. (1997) que encontraram apenas uma amostra contendo clostrídio sulfito redutor em 1.082 unidades de água engarrafada a venda no Reino Unido. A porcentagem de amostras contendo clostrídios sulfito redutores nos diferentes fatores, assim como a comparação com a literatura são mostradas na Figura 2.

Quanto à análise estatística dos resultados, de acordo com a Tabela 5, nota-se que para essa variável ocorreram interações significativas entre os fatores marca e volume; marca e lote; volume e lote; marca, volume e lote. Os dados da interação entre os fatores marca e volume são mostrados na Tabela 8.

Analisando-se o fator volume dentro do fator marca, constatou-se que nas marcas A e B não ocorreram diferenças significativas entre os volumes. Para a marca C, a contagem de clostrídios sulfito redutores no volume de 20 L foi estatisticamente diferente dos demais volumes que se igualaram entre si, conforme mostram as médias na Tabela 8.

Analisando-se o fator marca dentro do fator volume, conforme mostra a Tabela 8, para volumes de 0,2 L e 1,5 L, as três marcas não apresentaram clostrídios sulfito redutores. Para o volume de 20 L, a marca C apresentou maior contagem com relação às marcas A e B que se assemelharam estatisticamente.

Os dados referentes à interação relacionada aos fatores marca e lote são mostrados na Tabela 9.

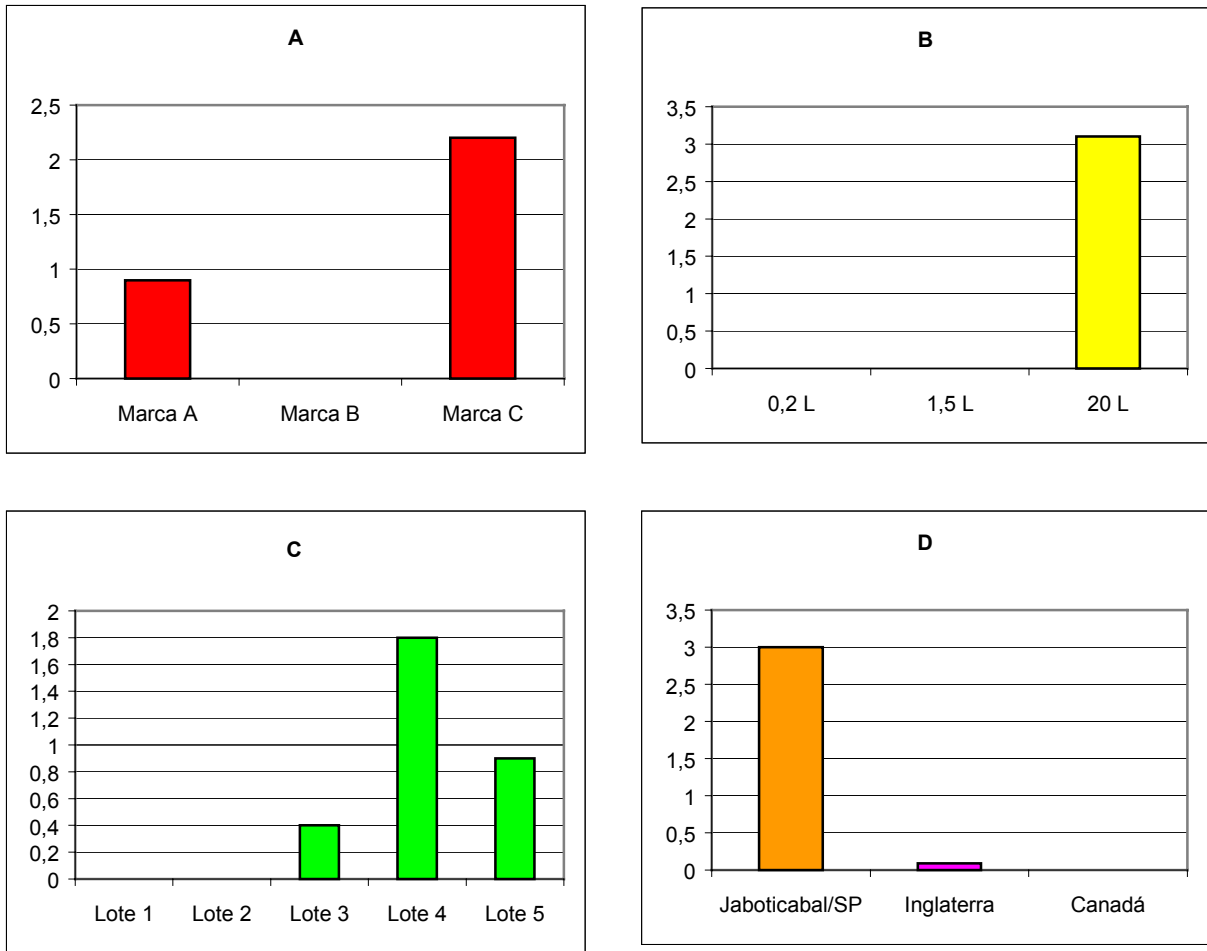


Figura 2. Porcentagem (%) de amostras contendo Clostrídios sulfito redutores por marca em A, por volume de embalagem em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D.

Tabela 8. Interação entre os fatores marca e volume para a variável clostrídios sulfito redutores [UFC (100 mL^{-1})].

Volume	Marca		
	A	B	C
0,2 L	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
1,5 L	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
20 L	0,08 a B	0,00 a B	0,28 a A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS para volume dentro de marca 0,13.

DMS para marca dentro de volume 0,13.

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

Tabela 9. Interação entre os fatores marca e lote para a variável clostrídios sulfito redutores [UFC (100 mL⁻¹)].

Lote	Marca		
	A	B	C
Lote-1	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
Lote-2	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
Lote-3	0,00 a A	0,00 a A	0,13 b A
Lote-4	0,00 a B	0,00 a B	0,33 a A
Lote-5	0,13 a A	0,00 a A	0,00 b A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS para lote dentro de marca 0,19.

DMS para marca dentro de lote 0,16.

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

Observando a Tabela 9, para o fator lote dentro do fator marca, as marcas A e B não apresentaram diferença entre os lotes. Para a marca C, os lotes 1, 2, 3 e 5 não diferiram para clostrídios sulfito redutores. Ainda para a marca C, o lote 4 apresentou concentração diferente e maior que os demais lotes.

Dentro do fator lote, a variação do fator marca apresentou diferença significativa somente no lote 4 para a marca C.

As médias referentes à interação entre os fatores volume e lote são mostradas na Tabela 10.

Tabela 10. Interação entre os fatores volume e lote para a variável clostrídios sulfito redutores [UFC (100 mL⁻¹)].

Lote	Volume		
	0,2 L	1,5 L	20 L
Lote-1	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
Lote-2	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
Lote-3	0,00 a A	0,00 a A	0,13 b A
Lote-4	0,00 a B	0,00 a B	0,33 a A
Lote-5	0,00 a A	0,00 a A	0,13 b A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS para lote dentro de volume 0,19.

DMS para volume dentro de lote 0,16.

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

Dentro do fator volume (Tabela 10) não houve variação entre lotes, com a ressalva para as embalagens de 20 L que apresentaram o resultado do quarto lote diferente dos demais.

Para a variável clostrídios sulfito redutores, o fator lote dentro do fator volume, conforme Tabela 10, apresentou resultados significativamente maiores somente no lote 4 em volume de 20 L.

De acordo com MERINO (1976), *Clostridium perfringens* são indicadores de contaminação remota, uma vez que seus esporos possuem resistência considerável em águas minerais. As evidências apontam que no presente estudo a variável clostrídio sulfito redutor indicou contaminação remota das embalagens retornáveis de 20 L referentes às marcas A e C, apontando a necessidade de melhoria das condições de higiene dessas.

IV.1.1.3 Coliforme total

Dentre 225 amostras analisadas, foram encontradas 54 amostras contendo coliformes totais representando 24% fora do padrão de potabilidade estabelecido pela Resolução RDC-54/00 (BRASIL, 2000), a qual estabelece que amostras indicativas devem estar ausentes de coliformes totais em 100 mL. Estes resultados encontram-se acima dos resultados obtidos por WARBURTON et al. (1998b) que encontraram 2% das 3.460 amostras analisadas com concentração de coliforme total e fecal acima de 10 Unidades Formadoras de Colônias mL⁻¹ e de FEWTRELL et al. (1997) que encontrou coliformes totais em apenas 4 amostras de águas engarrafadas inglesas dentre 1.082 analisadas. A comparação com outros estudos e a porcentagem de amostras que apresentou coliformes totais nos diferentes fatores são apresentadas na Figura 3.

Para a análise estatística dos resultados, de acordo com a Tabela 5, nota-se que não houve diferença significativa entre os fatores marca, volume e lote.

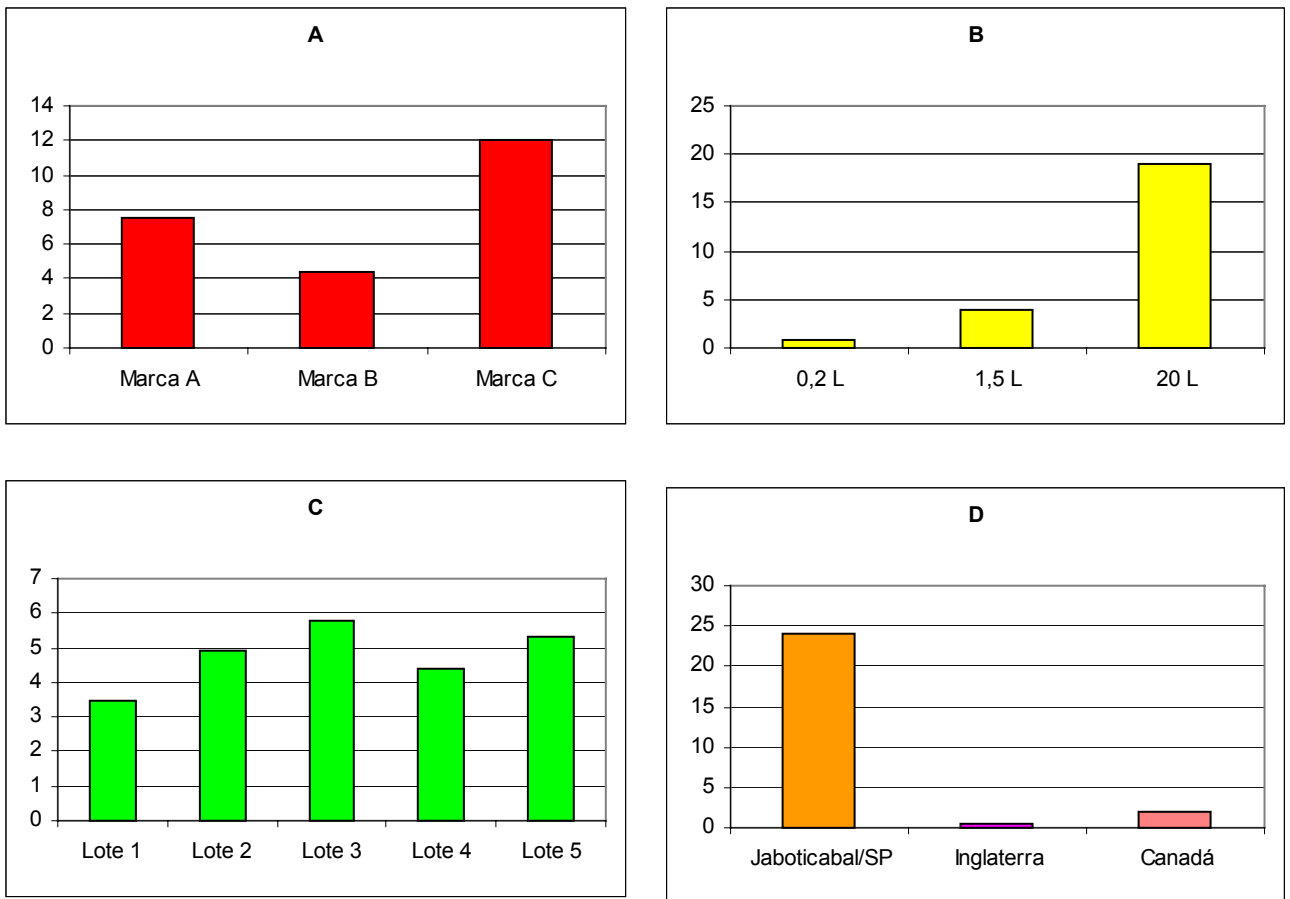


Figura 3. Porcentagem (%) de amostras contendo coliformes totais por marca em A, por volume de embalagem em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D.

IV.1.1.4 *Escherichia coli*

Pode-se observar na Tabela 6 que não foi encontrada *Escherichia coli* nas águas minerais analisadas nesta pesquisa, indicando adequação ao padrão estabelecido para amostras indicativas na Resolução RDC-54/00 (BRASIL, 2000).

A ausência observada de *Escherichia coli* vem de acordo com os estudos publicados por MOREIRA et al. (1994), em que essa apresentou alta taxa de mortalidade quando inoculada em águas minerais contendo microflora natural.

IV.1.1.5 Enterococos

Encontraram-se enterococos em 40 dentre 225 amostras analisadas, totalizando 18% fora do padrão de potabilidade estabelecido na Resolução RDC-54/00 (BRASIL, 2000), que consiste na ausência em 100 mL. Estes resultados apresentam uma faixa de amostras contaminadas superiores aos resultados disponíveis na literatura, em que WARBURTON et al. (1998b) não encontraram esse indicador em 267 amostras de águas engarrafadas vendidas no Canadá e FEWTRELL et al. (1997) que também não detectaram enterococos em 1082 amostras. As comparações com outros estudos e a porcentagem de amostras contendo enterococos nos diferentes fatores podem ser observadas na Figura 4.

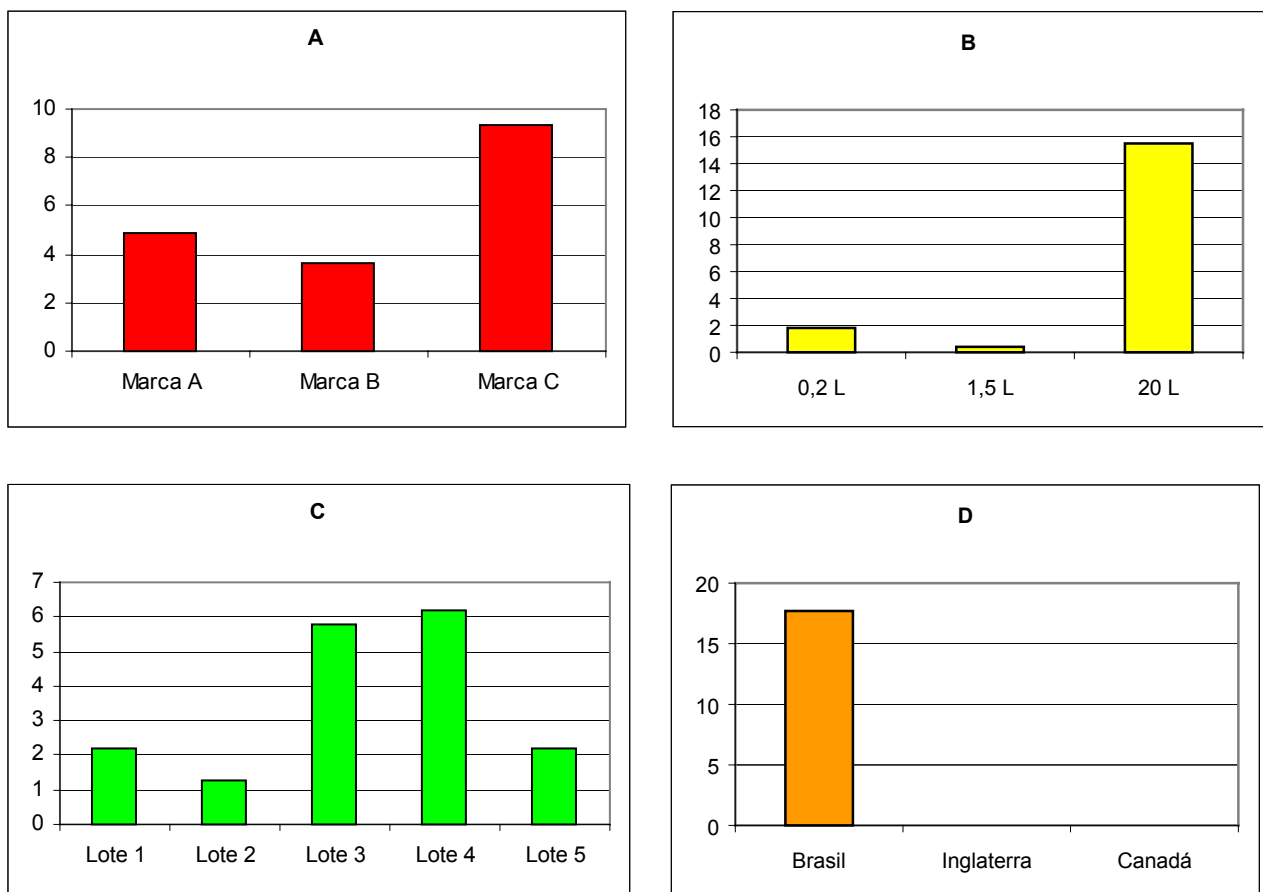


Figura 4. Porcentagem (%) de amostras contendo enterococos por marca em A, por volume de embalagem em B, por lote em C e comparativamente com estudos realizados na Inglaterra (FEWTRELL et al., 1997) e no Canadá (WARBURTON et al., 1998b) em D.

Para a análise estatística dos resultados, de acordo com a Tabela 6, nota-se que para essa variável ocorreu interação significativa entre os fatores marca e volume. Os dados da interação entre estes fatores são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11. Interação entre os fatores marca e volume para a variável enterococos [NMP (100 mL^{-1})].

Volume	Marca		
	A	B	C
0,2 L	0,08 a A	0,00 a A	0,12 b A
1,5 L	0,00 a A	0,00 a A	0,08 b A
20 L	3,80 a B	18,10 a B	250,67 a A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS para volume dentro de marca 134,59.

DMS para marca dentro de volume 134,59.

DMS: diferença mínima significativa

NMP: número mais provável

Da sua análise observa-se que para o fator volume dentro do fator marca, a contagem de enterococos nas águas minerais das marcas A e B apresentaram semelhança para os volumes de 0,2 L; 1,5 L e 20 L. Para a marca C, as águas minerais de embalagens de 20 L continham mais enterococos que as embalagens de 0,2 L e 1,5 L.

Os resultados obtidos evidenciaram que para o fator marca dentro do fator volume, nas amostras das embalagens de 0,2 L e 1,5 L, as três marcas apresentaram resultados semelhantes. No volume de 20 L, a marca C diferiu das outras marcas.

A pior condição da qualidade das águas em embalagens de 20 L com relação a embalagens de menor volume contradiz os estudos sobre volume do recipiente de armazenamento de ZOBELL & ANDERSON (1936) que observaram aumento do número de bactérias quando água do mar era armazenada em pequenos volumes, atribuindo a influência favorável dos menores volumes ao maior contato da água com a área superficial do recipiente. Segundo os autores, esse fato auxiliaria concentrando nutrientes por adsorção ou favorecendo a atividade enzimática bacteriana e a absorção de metabólitos.

De acordo com BISCHOFBERGER et al. (1990), as embalagens plásticas facilitam a aderência e a colonização devido à rugosidade das paredes e embalagens

retornáveis podem manter resíduos de detergentes que, dependendo de sua natureza, servem como fonte de nutrientes para as bactérias; tal fato pode explicar o declínio da qualidade microbiológica de águas de galões de 20 L.

IV.1.2 Parâmetro químico

IV.1.2.1 Nitrato

De acordo com a Tabela 6, nota-se que para essa variável ocorreram interações significativas entre os fatores marca e volume, e marca e lote. Os dados da interação entre marca e volume são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12. Interação entre os fatores marca e volume para a variável nitrato ($\text{mg N-NO}_3 \text{L}^{-1}$).

Volume	Marca		
	A	B	C
0,2 L	1,04 a C	2,12 a B	2,68 a A
1,5 L	1,14 a C	2,05 a B	2,56 a A
20 L	1,25 a B	2,16 a A	2,20 b A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS de volume dentro de marca 0,2521.

DMS de marca dentro de volume 0,2521.

DMS: diferença mínima significativa

De acordo com a Tabela 12, analisando-se o fator volume dentro do fator marca, observa-se que para as marcas A e B não ocorreram diferenças significativas nas concentrações de nitrato em águas de diferentes volumes de embalagens. Quanto à marca C, esta apresentou concentração de nitrato inferior nas águas de embalagens de 20 L.

Analisando-se o fator marca dentro do fator volume (Tabela 12), as águas das embalagens de 0,2 L apresentaram concentrações que diferem significativamente e aumentam nas marcas A, B e C. Essa tendência também é seguida para embalagens de 1,5 L e para embalagens de 20 L existe diferença somente da marca A com relação às demais, sendo as marcas B e C estatisticamente iguais.

O resultado da interação entre os fatores marca e lote é apresentado na Tabela 13.

Verificando o fator lote dentro do fator marca, conforme Tabela 13, para a marca A observou-se que a concentração de nitrato teve pouca variação apresentando-se maior somente no lote 5. Na marca B, não ocorreu nenhuma variação significativa nos 5 lotes examinados. Quanto à marca C, essa apresentou oscilações em que se observaram as menores concentrações nos lotes 3 e 5, diferentes do lote 4, o qual igualou-se ao lote 1, que por sua vez assemelhou-se ao lote 2.

Tabela 13. Interação entre os fatores marca e lote para a variável nitrato ($\text{mg N-NO}_3\text{L}^{-1}$).

Lote	Marca		
	A	B	C
Lote-1	1,03 ab C	2,21 a B	2,70 ab A
Lote-2	0,94 b C	2,20 a B	2,91 a A
Lote-3	1,26 ab B	2,19 a A	2,10 c A
Lote-4	1,11 ab C	1,96 a B	2,53 b A
Lote-5	1,39 a B	1,98 a A	2,14 c A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS de lote dentro de marca 0,3796.

DMS de marca dentro de lote 0,3254.

DMS: diferença mínima significativa

Para o fator marca dentro do fator lote (Tabela 13) constataram-se dois tipos de comportamentos: nos lotes 1, 2 e 4 as concentrações de nitrato aumentaram na marca B em relação à marca A, e na marca C em relação à marca B. Nos lotes 3 e 5 houve semelhança das marcas B e C que tiveram concentrações significativamente maiores que a marca A.

A redução do teor de nitratos em galões de 20 L da marca C, assim como as variações nos diferentes lotes das marcas A e C podem ser atribuídas ao consumo microbiano, de acordo com os estudos de RAI & SHARMA (1995). Deve-se ressaltar, ainda, que o enriquecimento em nitrato e a presença de substâncias orgânicas residuais contribuem para o comprometimento da qualidade microbiológica das águas de consumo humano (SCHMIDT-LORENZ, 1976).

Quanto ao parâmetro nitrato, nenhuma amostra excedeu o limite de 10 mg N- $\text{NO}_3\text{/L}$ estabelecido na Resolução RDC-54/00 (BRASIL, 2000). No entanto, a urgência na adoção de medidas preventivas contra a contaminação de águas subterrâneas pode ser verificada tomando por base a diferença do teor de nitrato indicado nos rótulos das embalagens da marca B que obtido em 1993 era de 1,08 mg N/L e no presente estudo

realizado em 2001 esteve em 2,11 mg N/L, mostrando que em média 0,13 mg N/L é adicionado por ano ao lençol que abastece essa fonte.

Nesse sentido, TYSON et al. (1999) recomendam como ações de relevância para que os níveis de nitrato em águas subterrâneas não excedam o padrão, a utilização de fertilizantes nas lavouras na quantia recomendada considerando-se também a substituição desses por outras fontes de nitrogênio como resíduos de colheita e esterco. A racionalização de fertilizantes em solos com alta permeabilidade e em aplicações afastadas das raízes das plantas onde o índice de perdas é aumentado também contribuiria.

IV.2 Águas de poços

As Tabelas 14 e 15 apresentam a síntese da análise de variância e do teste de médias para as variáveis *Pseudomonas aeruginosa*, clostrídios sulfito redutores, coliformes totais, *Escherichia coli*, enterococos e nitrato em águas de poços.

Tabela 14. Análise de variância e teste de médias para as variáveis de *Pseudomonas aeruginosa*, clostrídio sulfito redutor e coliforme total em águas de poço. (Jaboticabal, SP-2001)

Fatores	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC (100 mL) ⁻¹	Clostrídio Sulfito Redutor UFC (100 mL) ⁻¹	Coliforme Total NMP (100mL) ⁻¹
PERÍODO (E)			
CHUVA	6,31 a	0,00 a	8,54 b
SECA	4,09 a	0,00 a	43,15 a
DMS	5,15	0,00	33,68
POÇO (P)			
1	0,00 b	0,00 a	5,89 b
2	1,60 b	0,00 a	8,27 b
3	0,30 b	0,00 a	1,76 b
4	8,60 b	0,00 a	3,94 b
5	0,00 b	0,00 a	0,20 b
6	1,10 b	0,00 a	156,86 a
7	24,80 a	0,00 a	3,97 b
DMS	14,70	0,00	96,06
TESTE F			
E	0,75 ns	0,00 ns	4,24 *
P	7,25 **	0,00 ns	6,77 **
E x P	0,70 ns	0,00 ns	4,68 **

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

ns: não significativo (P>0,05)

*: significativo (P<0,05)

** : significativo (P<0,01)

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

NMP: número mais provável

Tabela 15. Análise de variância e teste de médias para as variáveis *Escherichia coli*, enterococos e nitrato em águas de poço. (Jaboticabal, SP-2001)

Fatores	<i>Escherichia coli</i> NMP (100 mL ⁻¹)	Enterococos NMP (100 mL ⁻¹)	Nitrato (mg N - NO ₃ L ⁻¹)
PERÍODO (E)			
CHUVA	0,00 a	4,41 a	2,23 b
SECA	0,06 a	0,41 b	2,78 a
DMS	0,08	3,94	0,4173
POÇO (P)			
1	0,00 a	0,00 b	0,91 b
2	0,10 a	0,82 ab	1,33 b
3	0,00 a	0,00 b	5,69 a
4	0,00 a	0,41 ab	1,16 b
5	0,00 a	0,00 b	6,08 a
6	0,10 a	11,53 a	1,00 b
7	0,00 a	4,12 ab	1,39 b
DMS	0,23	11,25	1,1900
TESTE F			
E	2,00 ns	4,14 *	6,94 *
P	0,83 ns	2,71 *	70,67 **
E x P	0,83 ns	2,36 *	0,65 ns

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

ns: não significativo (P>0,05)

*: significativo (P<0,05)

**: significativo (P<0,01)

DMS: diferença mínima significativa

UFC: unidades formadoras de colônias

NMP: número mais provável

IV.2.1 Parâmetros microbiológicos

IV.2.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Nota-se na Tabela 14 que a presença de *Pseudomonas aeruginosa* não foi influenciada pelo período de amostragem (chuva ou seca), de acordo com a análise estatística; no entanto, apresentou influência do fator poço, mostrando uma elevada contagem no poço 7, o qual se diferenciou dos demais poços que se assemelharam entre si.

Estes resultados mostram que há uma colonização por *Pseudomonas aeruginosa* permanente no poço 7. No entanto, apesar de 23 dentre 70 (32,9%) amostras de águas de poços apresentarem *Pseudomonas aeruginosa*, com relação a

esse parâmetro as águas permanecem dentro do padrão microbiológico de potabilidade, uma vez que a Portaria 1.469/01 (BRASIL, 2001) que define o padrão de potabilidade para águas de abastecimento público e águas de poço sem distribuição canalizada, utiliza somente coliformes totais e *Escherichia coli* para assegurar a qualidade dessas águas.

A porcentagem de amostras contendo *Pseudomonas aeruginosa* nos diferentes poços e nos dois períodos é mostrada na Figura 5.

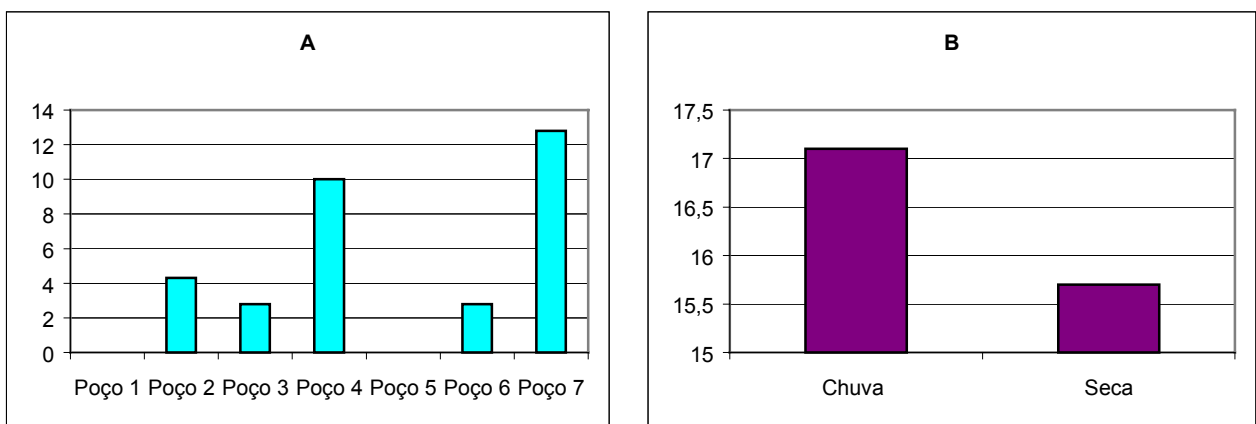


Figura 5. Porcentagem (%) de amostras contendo *Pseudomonas aeruginosa* por poço em A e por período de chuva e seca em B.

IV.2.1.2 Clostrídios sulfito redutores

Conforme dados mostrados na Tabela 14, não foi encontrada contaminação por clostrídios sulfito redutores nas águas de poço. Estes resultados contrariam os resultados obtidos por CONBOY & GOSS (1999), em que 20% dos 448 poços da zona rural canadense amostrados no período de chuva e 59% amostrados no período de seca em 1997 apresentaram teste positivo para *Clostridium perfringens*, tendo como principal origem de contaminação a utilização de esterco de origem animal nas propriedades rurais em questão. Este fato aponta para ausência de contaminação de origem animal nos poços monitorados em Jaboticabal.

IV.2.1.3 Coliformes totais

Encontraram-se coliformes totais em 38 dentre 70 amostras analisadas, totalizando 54,3% de amostras contaminadas. De acordo com a Portaria 1.469/01, em amostras individuais de poços, fontes, nascentes e outras fontes de abastecimento sem distribuição canalizada é tolerável a presença de coliformes totais, na ausência de *Escherichia coli*, sendo necessário a investigação da origem da ocorrência, seguida da tomada de providências de caráter corretivo e preventivo e da coleta das amostras.

A porcentagem de amostras que apresentaram coliformes totais nos dois períodos e nos 7 poços é apresentada na Figura 6.

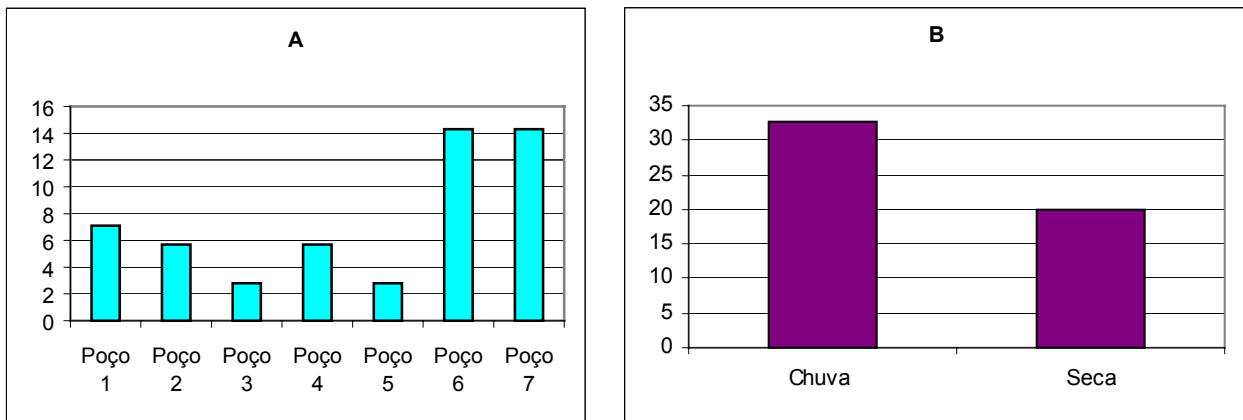


Figura 6. Porcentagem (%) de amostras contendo coliformes totais por poço em A e por período de chuva e seca em B.

Quanto à análise estatística dos resultados, pode-se observar na Tabela 14 que os resultados obtidos para a contagem de coliformes totais sofreram interação quando os fatores poço e período foram analisados. A Tabela 16 destaca os dados dessa interação.

Nota-se na Tabela 16 que para o fator poço dentro do fator período de chuva, a contagem de coliformes totais das águas dos 7 poços se assemelhou estatisticamente. Para período de seca, as águas dos poços se assemelharam estatisticamente quanto ao número de coliformes totais, com exceção do poço 6 que se destacou pelo resultado elevado.

Tabela 16. Interação entre os fatores poço e período para a variável coliforme total [NMP (100 mL⁻¹)].

Poço	Período	
	Chuva	Seca
1	11,78 a A	0,00 b A
2	1,96 a A	14,58 b A
3	3,32 a A	0,20 b A
4	7,88 a A	0,00 b A
5	0,20 a A	0,20 b A
6	30,90 a B	282,82 a A
7	3,72 a A	4,22 b A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS para poço dentro de período 135,86.

DMS para período dentro de poço 89,10.

NMP: número mais provável

Analisando o fator período dentro do fator poço (Tabela 16), observa-se que a contagem de coliformes totais para o poço 6 foi maior em período de seca. Esse comportamento está em desacordo com AMARAL (1992) que observou que em períodos de chuva a contagem de coliformes totais (4,4 NMP 100 mL⁻¹) era maior com relação a períodos de seca (3,5 NMP 100 mL⁻¹) em poço utilizado para abastecimento em Jaboticabal, SP, o que indica que no caso do poço 6, outros fatores que não a precipitação pluviométrica governam a sua contaminação por coliformes totais. Nos demais poços não foi observada diferença entre os resultados de coliformes totais obtidos nos dois períodos.

IV.2.1.4 *Escherichia coli*

Sua contagem não diferiu entre os poços, conforme mostrado na Tabela 15, e dentre 70 amostras analisadas apenas 2 apresentaram crescimento, totalizando 2,8% fora do padrão estabelecido pela Portaria 1469/01 (BRASIL, 2001). A contagem de *Escherichia coli* não diferiu estatisticamente entre os dois períodos examinados (Tabela 15), mostrando que não é influenciada por precipitação pluviométrica conforme também foi observado por AMARAL (1992). A porcentagem de amostras contendo *Escherichia coli* nos 7 poços e nos dois períodos é apresentada na Figura 7.

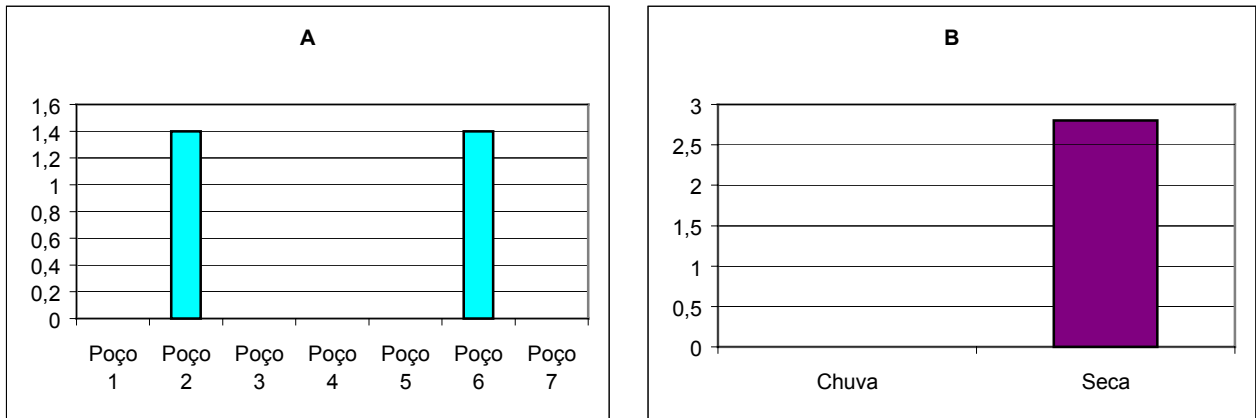


Figura 7. Porcentagem (%) de amostras contendo *Escherichia coli* por poço em A e por período de chuva e seca em B.

A reduzida presença desse microrganismo pode ser explicada com auxílio dos estudos realizados por PADILLA et al. (1996), em que isolados de sedimento de poço de *Pseudomonas* sp. produziram bacteriocinas ativas *in vitro* contra *Escherichia coli*, mostrando que outras bactérias presentes nas amostras podem ter exercido algum efeito sobre este indicador.

IV.2.1.5 Enterococos

Entre 70 amostras analisadas, 16 (22,8%) apresentaram crescimento deste contaminante e as porcentagens de amostras contendo enterococos nos diferentes poços e períodos são apresentadas na Figura 8.

Quanto à análise estatística, conforme apresentado na Tabela 15, essa variável sofreu interação considerando-se os fatores poço e período. Tais dados são mostrados na Tabela 17.

Analisando-se o fator poço dentro do fator período, nota-se na Tabela 17 que, para o período de chuva, a contagem de enterococos nas águas de poço apresentou semelhança estatística, com exceção do poço 6 que apresentou contagem elevada e do poço 7 que apresentou contagem intermediária entre o poço 6 e os demais. Para o período de seca não houve diferença na contagem considerando-se as águas de poço.

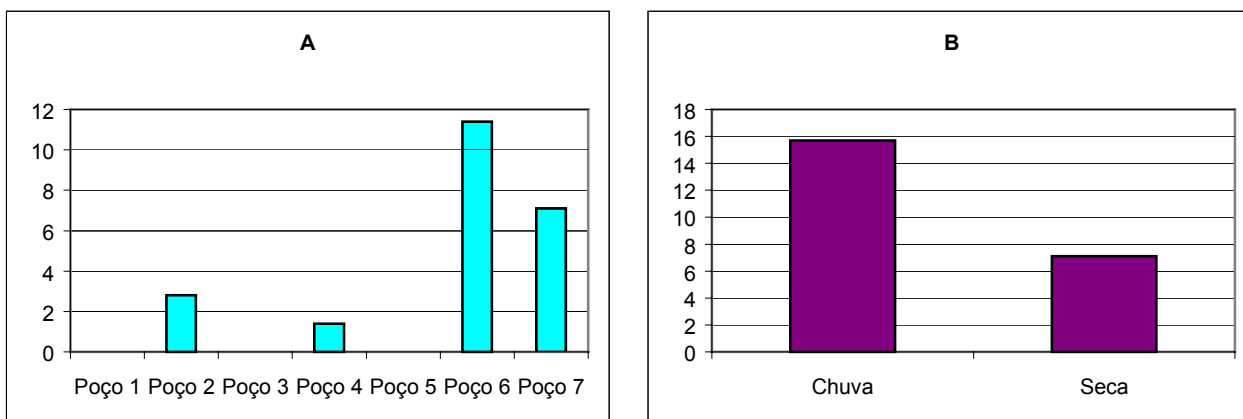


Figura 8. Porcentagem (%) de amostras contendo enterococos por poço em A e por período de chuva e seca em B.

Tabela 17. Interação entre os fatores poço e período para a variável enterococos [NMP (100 mL⁻¹)].

Poço	Período	
	Chuva	Seca
1	0,00 b A	0,00 a A
2	0,00 b A	1,64 a A
3	0,00 b A	0,00 a A
4	0,82 b A	0,00 a A
5	0,00 b A	0,00 a A
6	21,84 a A	1,22 a B
7	8,24 ab A	0,00 a A

Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si.

Em cada linha, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si.

DMS para poço dentro de período 15,91.

DMS para período dentro de poço 10,43.

NMP: número mais provável

Analisando-se o fator período dentro do fator poço, conforme mostra a Tabela 17, para os poços 1, 2, 3, 4, 5 e 7 não foi observada a influência de precipitações pluviométricas sobre a qualidade microbiológica de suas águas.

Observa-se que para a água do poço 6 houve maior presença de enterococos em período de chuva, contrariando os resultados obtidos por AMARAL (1992) que encontrou 1,5 NMP 100 mL⁻¹ em período de chuva e 2,0 NMP 100 mL⁻¹ em período de seca em poço artesiano utilizado para abastecimento público em Jaboticabal, SP.

IV.2.2.1 Nitrato

Nos resultados obtidos para a concentração de nitrato (Tabela 15), pode-se observar que para o fator período, em chuva, a concentração é maior e difere estatisticamente das águas coletadas em seca mostrando influência das precipitações pluviométricas sobre a qualidade química dessas águas. Para o fator poço, essa variável apresentou semelhança nos poços 1, 2, 4, 6 e 7.

Nota-se na Tabela 15 que as águas dos poços 3 e 5 continham concentrações diferenciadas, no entanto, encontram-se em patamares menores que os observados por MARTEAU et al. (1998) e BROOKS & CECH (1979). Diante do fato desses estudos terem observado altos teores de nitrato em poços próximos de fossas sépticas, pode-se suspeitar que o fator responsável pelo elevado teor de nitrato nos poços 3 e 5, com relação aos demais, devia-se a vazamentos crônicos na rede pública de esgotamento sanitário em pontos próximos a esses poços. Apesar disso, nenhuma amostra excedeu o limite de $10 \text{ mg N - NO}_3 \text{ L}^{-1}$ estabelecido pela Portaria 1469/01 (BRASIL, 2001.)

V. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, nas análises realizadas e para as condições em que este trabalho foi conduzido, tem-se as conclusões que são descritas a seguir.

V.1 Águas minerais

Em linhas gerais, 37% das amostras estavam fora dos padrões de potabilidade, uma vez que a maioria das amostras era proveniente de galões de 20 L. Os estudos mostram a necessidade de melhoria da qualidade das embalagens utilizadas pelas engarrafadoras, assim como de uma maior consideração para a qualidade dessas águas no ponto de venda e de fiscalizações mais efetivas por parte das autoridades de vigilância sanitária.

V.2 Águas de poço

A precipitação pluviométrica influenciou a qualidade microbiológica da água do poço 6, elevando a contagem de enterococos no período de chuva.

A precipitação pluviométrica influenciou diretamente a qualidade química das águas de poço acentuando a contaminação por nitrato das águas dos poços 3 e 5.

Para águas de poço, 2,8% das amostras foram encontradas fora do padrão, no entanto, existe a necessidade de implantação de monitoramento constante nesses pontos, uma vez que o processo de contaminação de águas subterrâneas é dinâmico.

Conclui-se, também, que existe a necessidade de revisão dos padrões de potabilidade para água de poço, uma vez que as águas que se apresentaram dentro dos padrões para os indicadores estabelecidos na legislação apresentaram outros indicadores que por hora não são controlados.

VI. REFERÊNCIAS

AMARAL, L.A. Influência da precipitação pluviométrica nas características bacteriológicas, físicas e químicas da água de diferentes mananciais de abastecimento da cidade de Jaboticabal-SP. 1992. 107 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública/Saúde Ambiental) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16. ed. New York: APHA, 1992. p.926-73.

ARBUCKLE, T.E.; SHERMAN, G.J.; COREY, P.N.; WALTERS, D. Water nitrates and CNS birth defects: a population based case control study. Archives of Environmental Health, v.43, n.2, p.162-7, 1988.

ARMAS, A.B.; SUTHERLAND, J.P. A survey of the microbiological quality of bottled water sold in the UK and changes occurring during storage. International Journal of Food Microbiology, v.48, p.59-65, 1999.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. Experimentação agrícola. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.

BARRELL, R.A.E.; ROWLAND, M.G.M. The relationship between rainfall and well water pollution in West African (Gambian) village. Journal of Hygiene, v.83, n.1, p.143-53, 1979.

BERGEISEN, G.H.; HINDS, M.W.; SKAGGS, J.W. A waterborne outbreak of hepatitis A in Meade County, Kentucky. American Journal of Public Health, v.75, n.2, p.161-4, 1985.

BISCHOFBERGER, T.; CHA, S.K.; SCHMITT, R.; KÖNIG, B.; SCHMIDT-LORENZ, W. The bacterial flora of non-carbonated, natural mineral water from the springs to reservoir and glass and plastic bottles. International Journal of Food Microbiology, v.11, p.51-72, 1990.

BLAKE, P.A.; ROSENBERG, M.L.; COSTA, J.B.; FERREIRA, P.S.; GUIMARÃES, C.L.; GANGAROSA, E.J. Cholera in Portugal, 1974. I. Modes of transmission. American Journal of Epidemiology, v.105, n.4, p.337-43, 1977a.

BLAKE, P.A.; ROSENBERG, M.L.; FLORENCIA, J.; COSTA, J.B.; QUINTINO, L.P.; GANGAROSA, E.J. Cholera in Portugal. II. Transmission by bottled mineral water. American Journal of Epidemiology, v.105, n.4, p.344-8, 1977b.

BRASIL. Resolução–RDC nº 54. 15 jun 2000. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral Natural e Água Natural. Diário Oficial da União, Brasília, n.117-E, 2000. Seção 1. p. 37-8.

BRASIL. Portaria 1.469, de 29 de dezembro de 2000. Diário Oficial da União, Brasília, 2 jan. 2001.

BROOKS, D.; CECH, I. Nitrates and bacterial distribution in rural domestic water supplies. Water Research, v.13, p.33-41, 1979.

BURGE, S.H.; HUNTER, P.R. The survival of enteropathogenic bacteria in bottled mineral water. Rivista Italiana D'igiene, v.50, p.401-6, 1990.

CHARRIERRE, G. et al. Assessment of the marker value of various components of the *E. Coli* – aerogenes group of Enterobacteriaceae and of a selection of a *Enterococcus spp.* for the official monitoring drinking water supplies. Journal of Applied Bacteriology, v.76, p.336-44, 1994.

CLARCK, J.A.; BURGER, C.A.; SABATINOS, L.E. Characterization of indicator bacteria in municipal raw water, drinking water, and new main water samples. Canadian Journal of Microbiology, v.28, p.1002-13, 1982.

CLARK, J.A.; PAGEL, J.E. Pollution indicator bacteria associated with municipal raw and drinking water supplies. Canadian Journal of Microbiology, v.23, p.465-70, 1977.

CONBOY, M.J.; GOSS, M.J. Natural protection of ground water against bacteria of fecal origin. Journal of Contaminant Hydrology, v.43, n.1, p.1-25, 2000.

CONBOY, M.J.; GOSS, M.J. Contamination of rural drinking water wells by fecal origin bacteria – survey findings. Water Quality Research Journal of Canada, v.34, n.2, p.281-303, 1999.

DAVID, P.R.B.S.; MENDES, A.C.R.; NETO, A.C.; COSTA, S.M.S. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais e de abastecimento de alguns pontos da cidade do Recife, PE. “Um relato da experiência de alunos do mestrado em Nutrição da UFPE”. Higiene Alimentar, v.13, n.60, p.36-42, 1999.

DEFIVES, C.; GUYARD, S.; OULARÉ, M.M.; MARY, P.; HORNEZ, J.P. Total counts, culturable and viable, and non-culturable microflora of a French mineral water: a case study. Journal of Applied Microbiology, v.86, p.1033-8, 1999.

DUQUINO, H.H.; ROSENBERG, F.A. Antibiotic-resistant *Pseudomonas* in bottled drinking water. Canadian Journal of Microbiology, v.33, p.286-9, 1987.

FAVERO, M.S.; CARSON, L.A.; BOND, W.W.; PETERSEN, N.J. *Pseudomonas aeruginosa*: growth in distilled water from hospitals. Science, v.173, p.836-8, 1971.

FEWTRELL, L.; KAY, D.; WYER, GODFREE, A.; O’NEILL, G. Microbiological quality of bottled water. Water Science and Technology, v.35, n.11-2, p.47-53, 1997.

FLATEN, T.P.; BOLVIKEN, B. Geographical associations between drinking water chemistry and the mortality and morbidity of cancer and some diseases in Norway. The Science of the Total Environment, v.102, p.75-100, 1991.

FUJIOKA, R.S.; SHIZUMURA, L.K. Clostridium perfringens, a reliable indicator of stream water quality. Journal Water Pollution Control Federation, v.57, n.10, p.986-92, 1985.

FURTADO, C.; ADAK, G.K.; STUART, J.M.; WALL, P.G.; EVANS, H.S.; CASEMORE, D.P. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-5. Epidemiology and Infection, v.121, p.109-19, 1998.

GELDREICH, E.E. The bacteriology of water. In: TOPLEY, W. Microbiology and Microbial Infections. 9. ed. London: Arnold, 1998. v.2, p.351-65.

GELDREICH, E.E.; NASH, H.D.; REASONER, D.J.; TAYLOR, R.H. The necessity of controlling bacterial populations in potable water – bottled water and emergency water supplies. Journal American Water Works Association, v.117, p.117-24, 1975.

GONZÁLEZ, C.; GUTIÉRREZ, C.; GRANDE, T. Bacterial flora in bottled uncarbonated mineral drinking water. Canadian Journal of Microbiology, v.33, p.1120-5, 1987.

GORBACHEV, M. Ambiente: as fontes de água doce secarão? Época, n.137, p.104-6, 2000.

HACH Company Manual. Dr/2000 Spectrophotometer Instrument Manual for Use With Software Version 3. s.d.

HEUKELEKIAN, H.; HELLER, A. Relation between food concentration and surface for bacterial growth. Journal Bacteriology, v.40, p.547-58, 1940.

JAYASEKARA, N.Y.; HEARD, G.M.; COX, J.M.; FLEET, G.H. Populations of pseudomonads and related bacteria associated with bottled non-carbonated mineral water. Food Microbiology, v.15, p.167-76, 1998.

JAYASEKARA, N.Y.; HEARD, G.M.; COX, J.M.; FLEET, G.H. Association of microorganisms with the inner surfaces of bottles of non-carbonated mineral water. Food Microbiology, v.16, p.115-128, 1999.

JONES, C.R.; ADAMS, M.R.; ZHADAN, P.A.; CHAMBERLAIN, A.H.L. The role of surface physicochemical properties in determining the distribution of the autochthonous microflora in mineral water bottles. Journal of Applied Microbiology, v.86, p.917-27, 1999.

KOOIJ, D.V.D.; ORANJE, J.P.; HIJNEM, W.A.M. Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in tap water in relation to utilization of substrates at concentrations of a few micrograms per liter. Applied and Environmental Microbiology, v.44, n.5, p.1086-95, 1982.

LANCIA, C.A. Garrafão puxa para o alto o consumo de água mineral. Revista Água Mineral, ago/out, não paginado, 1999.

LEGNANI, P.; LEONI, E.; RAPUANO, S.; TURIN, D.; VALENTI, C. Survival and growth of *Pseudomonas aeruginosa* in natural mineral water: a 5-year study. International Journal of Food Microbiology, v.53, p.153-8, 1999.

LIPPY, E.C.; WALTRIP, S.C. Waterborne disease outbreaks – 1946-1980: a thirty five year perspective. Journal American Water Works Association, v.76, p.60-7, 1984.

MALARD, F.; REYGROBELLET, J.L.; SOULIÉ, M. Transport and retention of fecal bacteria at sewage polluted fractured rock sites. Journal Environmental Quality, v.23, p.1352-63, 1994.

McFETERS, G.A.; BISSONNETTE, G.K.; JEZESKI, J.J.; THOMSON, C.A.; STUART, D.G. Comparative survival of indicator bacteria and enteric pathogens in well water. Applied Microbiology, v.27, n.5, p.823-9, 1974.

MANAIA, A.M.; NUNES, O.C.; MORAIS, P.V.; COSTA, M.S. Heterotrophic plate counts and the isolation of bacteria from mineral waters on selective and enrichment media. Journal of Applied Bacteriology, v.69, p.871-6, 1990.

MARTEAU, S.A.; ALBERINO, J.C.; RIPOLI, J.L.; ROSATO, M.E. Quality of water wells in an agricultural area in the city of La Plata, Argentina. Water, Air & Soil Pollution, v.106, n.3-4, p.447-62, 1998.

MERINO, J.R. Méthodes microbiologiques d'analyse des eaux minérales. Ann. Inst. Super. Sanità, v.12, p.142-69, 1976.

MORAIS, P.V.; MESQUITA, C.; ANDRADE, J.L.; COSTA, M.S. Investigation of persistent colonization by *Pseudomonas aeruginosa* like strains in a spring water bottling plant. Applied and Environmental Microbiology, v.63, n.3, p.851-6, 1997.

MOREIRA, L.; AGOSTINHO, P.; MORAIS, P.V.; COSTA, M.S. Survival of allochthonous bacteria in still mineral water bottled in polyvinyl chloride (PVC) and glass. Journal of Applied Bacteriology, v.77, p.334-9, 1994.

MOSSO, M.A.; DÍAZ, F.; DE LA ROSA, M.C. Contribuicion al estudio de las bacterias autoctonas de manantiales de aguas mineromedicinales de Carabaña. Anal. Bromatol. XXXVII-2, p.271-8, 1985.

OLIVEIRA, W.E. Importância do abastecimento de água. A água na transmissão de doenças. In: OLIVEIRA, W. E. et al. Técnica de Abastecimento e Tratamento de Água. 2. Ed. São Paulo: Cetesb, 1978. p.1-28.

OGAN, M.T. Microbiological quality of bottled water sold in retail outlet in Nigeria. Journal of Applied Bacteriology, v.73, p.175-81, 1992.

PADILLA, C.; BREVIS, P.; LOBOS, O.; HUBERT, E. Bacteriocin activity of *Pseudomonas* sp. on enteropathogenic bacteria in an artificial aquatic system. Letters in Applied Microbiology, v.23, p.371-4, 1996.

PAYMENT, P.; FRANCO, E. *Clostridium perfringens* and somatic coliphages as indicators of the efficiency of drinking water treatment for viruses and protozoan cysts. Applied and Environmental Microbiology, v.59, n.8, p.2418-24, 1993.

PAUL, J.H.; ROSE, J.B.; JIANG, S.; KELLOG, C.; SHINN, E. Occurrence of fecal indicator bacteria in surface waters and the subsurface aquifer in Key Largo, Florida. Applied and Environmental Microbiology, v.61, n.6, p.2235-41, 1995.

PELCZAR JR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. O principal grupo de microrganismos procarióticos: as bactérias. In: _____. Microbiologia: Conceitos e Aplicações. São Paulo: Makron Books, 1996. p.230-51.

RAI, J.P.N.; SHARMA, H.C. Bacterial contamination of ground water in rural areas of North West Uttar Pradesh. Indian Journal of Environmental Health, v.37, n.1, p.37-41, 1995.

REALI, M.A.P. Introdução: características da água bruta e principais sistemas de tratamento de água, padrões de qualidade de águas naturais e padrões de potabilidade. In: NOTAS de aula da disciplina SHS-706 – Processos e operações em tratamento de águas para abastecimento: programa de pós-graduação em hidráulica e saneamento.

São Carlos: Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, 1996. 49p.

ROSENBERG, F.A. The bacterial flora of natural mineral waters and potential problems associated with its ingestion. Rivista Italiana D'igiene, v.50, p.303-10, 1990.

SARTORY, D.P.; FIELD, M.; CURBISHLEY, S.M.; PRITCHARD, A.M. Evaluation of two media for membrane filtration enumeration of *Clostridium perfringens* from water. Letters in Applied Microbiology, v.27, n.6, p.323-7, 1998.

SCHMIDT-LORENZ, W. Microbiological characteristics of natural mineral water. Annali dell' Instituto Superiori di Sanità, v.12, p.93-112, 1976.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. Principles and procedures of statistics. New York: Mc Graw, 1960. 481 p.

TAYLOR, W. The importance of hygienic practices during the collection and bottling of mineral waters. Annali dell' Instituto Superiori di Sanità, v.12, p.121-8, 1976.

TERBLANCHE, A.P.S. Health hazards of nitrate in drinking water. Water SA, v.17, n.1, p.77-82, 1991.

TOMAZ, P. Atualização da legislação brasileira relativa aos padrões de qualidade das águas minerais. Revista Água Mineral, ago/out, não paginado, 1999.

TYSON, A.; DIXON, M.L.; SEGARS, W. Your drinking water: nitrates. Disponível em: <http://www.ces.uga.edu/pubcd/C819-5W.html>. Acesso em: 1 fev. 1999.

VILLEGAS, P. Manejo de pollo. Água de buena calidad: Que és? Avicultura Profesional, v.6, n.1, p.14, 1988.

VESS, R.W.; ANDERSON, R.L.; CARR, J.H.; BOND, W.W.; FAVERO, M.S. The colonization of solid PVC surfaces and the acquisition of resistance to germicides by water micro-organisms. Journal of Applied Bacteriology, v.74, p.215-21, 1993.

WARBURTON, D.W. A review of the microbiological quality of bottled water sold in Canada. Part 2. The need for more stringent standards and regulations. Canadian Journal of Microbiology, v.39, p.158-68, 1993.

WARBURTON, D.W.; AUSTIN, J.W.; HARRISON, B.H.; SANDERS, G. Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated bottled water. Journal of Food Protection, v.61, n.8, p.948-52, 1998a.

WARBURTON, D.W.; BOWEN, B.; KONKLE, A. The survival and recovery of *Pseudomonas aeruginosa* and its effect upon salmonellae in water methodology to test bottled water in Canada. Canadian Journal of Microbiology, v.40, p.987-92, 1994b.

WARBURTON, D.W.; DODDS, K.L. A review of the microbiological quality of bottled water sold in Canada between 1981 and 1989. Canadian Journal of Microbiology, v.38, p.12-9, 1992.

WARBURTON, D.; HARRISON, B.; CRAWFORD, C.; FOSTER, R.; FOX, C.; GOUR, L.; KROL, P. A further review of the microbiological quality of bottled water sold in Canada: 1992 – 1997 survey results. International Journal of Food Microbiology, v.39, p.221-6, 1998b.

WARBURTON, D.W.; McCORMICK, J.K.; BOWEN, B. Survival and recovery of *Aeromonas hydrophila* in water: development of methodology for testing bottled water in Canada. Canadian Journal of Microbiology, v.40, p.145-8, 1994a.

WARBURTON, D.W.; PETERKIN, P.I.; WEISS, K.F.; JOHNSTON, M.A. Microbiological quality of bottled water sold in Canada. Canadian Journal of Microbiology, v.32, p.891-3, 1986.

WARD, M.H.; MARK, S.D.; CANTOR, K.P.; WEISENBURGER, D.D.; CORREA-VILLASEÑOR, A.; ZAHM, S.H. Drinking water nitrate and the risk of non-Hodgkin's lymphoma. Epidemiology, v.7, n.5, p.465-71, 1996.

WHEATER, D.W.F.; MARA, D.D.; JAWAD, L.; ORAGUI, J. *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* in sewage and fresh water. Water Research, v.14, p.713-21, 1980.

WILLIAMS, A.E. Natural and antropogenic nitrate contamination of groundwater in a rural community, California. Environmental Science & Technology, v.32, n.1, p.32-9, 1998.

ZOBELL, C.E.; ANDERSON, Q. Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and solid surfaces. Biological Bulletin, v. 71, p.324-42, 1936.

APÊNDICE

Apêndice 1. Resultados referentes à contagem de *Pseudomonas aeruginosa* em águas minerais, UFC (100 mL)⁻¹.

Marca	Volume	Lote	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
A	0,2 L	1	50	130	540	19	47
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	1,5 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	20 L	1	3	47	390	2	5
		2	1	37	7	4	1
		3	1	1	11	0	29
		4	1	0	0	1	1
		5	0	0	0	3	0
B	0,2 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	1,5 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	9	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	1	0	0	10
	20 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
C	0,2 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	1,5 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	1	0	2	0
	20 L	1	0	0	0	0	0
		2	10	2	0	1	0
		3	0	0	0	67	0
		4	44	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0

UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

Apêndice 2. Resultados referentes à contagem de clostrídios sulfito redutores em águas minerais, UFC (100 mL)⁻¹.

Marca	Volume	Lote	1 ^a Repetição	2 ^a Repetição	3 ^a Repetição	4 ^a Repetição	5 ^a Repetição
A	0,2 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	1,5 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	20 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	1	1	0	0
B	0,2 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	1,5 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	20 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
C	0,2 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	1,5 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
		4	0	0	0	0	0
		5	0	0	0	0	0
	20 L	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0
		3	2	0	0	0	0
		4	1	1	2	1	0
		5	0	0	0	0	0

UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

Apêndice 3. Resultados referentes à contagem de coliformes totais em águas minerais, NMP (100 mL)⁻¹.

Marca	Volume	Lote	1 ^a Repetição	2 ^a Repetição	3 ^a Repetição	4 ^a Repetição	5 ^a Repetição
A	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	166,9
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	1,0	0,0	30,9	0,0	0,0
		2	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0
		3	7,4	7,4	2,0	2,0	3,1
		4	4,1	3,1	2,0	3,1	1,0
		5	3,0	0,0	0,0	0,0	1,0
B	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	0,0	8,6	613,1	2,0	0,0
		2	0,0	1,0	4,1	1,0	1,0
		3	0,0	4,1	0,0	4,1	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	4,1	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	13,1	2,0
		4	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
		5	2,0	8,6	4,1	5,2	3,1
	20 L	1	5,2	0,0	6,3	5,2	0,0
		2	11,0	17,3	13,4	11,9	14,5
		3	4,1	0,0	0,0	2,0	1,0
		4	5,2	9,6	6,3	7,4	0,0
		5	0,0	12,1	1,0	0,0	4,1

NMP: Número Mais Provável.

Apêndice 4. Resultados referentes à contagem de *Escherichia coli* em águas minerais, NMP (100 mL)⁻¹.

Marca	Volume	Lote	1 ^a Repetição	2 ^a Repetição	3 ^a Repetição	4 ^a Repetição	5 ^a Repetição
A	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
B	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

NMP: Número Mais Provável.

Apêndice 5. Resultados referentes à contagem de enterococos em águas minerais, NMP (100 mL)⁻¹.

Marca	Volume	Lote	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
A	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	3,1	4,1	8,4	4,1	0,0
		4	6,0	5,1	5,2	44,7	13,2
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
B	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	33,1	111,2	32,3	261,3	0,0
		4	0,0	3,1	1,0	2,0	8,4
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C	0,2 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	1,0	0,0	1,0	1,0
	1,5 L	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0
		4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20 L	1	1.986,3	517,2	24,0	69,8	26,9
		2	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0
		3	4,0	0,0	2,0	574,8	1,0
		4	>2.419,2	308,8	240,0	83,6	6,2
		5	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0

NMP: Número Mais Provável.

Apêndice 6. Resultados referentes à variável nitrato em águas minerais, mg N – NO₃ L⁻¹.

Marca	Volume	Lote	1 ^a Repetição	2 ^a Repetição	3 ^a Repetição	4 ^a Repetição	5 ^a Repetição
A	0,2 L	1	0,5	0,9	1,0	1,3	2,0
		2	0,9	0,8	0,7	0,7	1,1
		3	1,0	1,0	1,1	1,0	1,3
		4	1,6	1,2	0,6	0,7	1,0
		5	1,2	1,1	0,9	1,3	1,0
	1,5 L	1	1,1	1,3	0,7	1,0	0,9
		2	0,9	1,0	1,0	0,6	0,9
		3	1,3	1,1	1,5	1,3	1,3
		4	1,3	0,7	1,1	1,0	1,6
		5	1,5	1,5	1,2	1,4	1,3
	20 L	1	0,9	0,9	0,9	1,3	0,7
		2	1,3	1,4	0,9	0,7	1,2
		3	1,6	1,5	1,0	1,7	1,2
		4	1,0	1,0	1,0	1,4	1,4
		5	2,0	1,6	2,9	0,8	1,0
B	0,2 L	1	2,8	2,1	2,4	2,3	2,6
		2	2,1	2,3	2,5	1,9	2,2
		3	2,4	2,0	1,9	2,1	2,2
		4	1,6	1,5	1,6	1,9	2,1
		5	2,1	1,8	1,6	2,0	2,4
	1,5 L	1	2,2	1,8	2,0	1,8	2,5
		2	2,2	1,8	2,4	2,1	2,4
		3	1,7	2,1	1,9	2,5	2,4
		4	2,3	2,0	2,0	1,9	1,9
		5	1,8	1,7	2,1	1,6	2,3
	20 L	1	2,2	2,1	2,3	2,1	1,5
		2	1,9	2,1	2,3	2,0	2,8
		3	2,2	2,0	2,5	2,4	2,5
		4	1,6	1,7	2,6	2,3	2,5
		5	2,1	1,9	2,3	2,2	1,8
C	0,2 L	1	2,8	2,3	2,6	2,9	3,7
		2	2,5	2,7	3,1	2,8	2,8
		3	2,7	2,2	2,3	2,4	2,3
		4	3,2	2,7	3,3	3,1	3,6
		5	2,1	2,7	2,3	1,7	2,1
	1,5 L	1	2,7	2,3	2,9	2,5	2,6
		2	2,7	2,9	3,1	3,1	3,7
		3	2,6	2,5	2,8	1,8	2,0
		4	2,2	2,8	2,3	2,0	2,2
		5	3,9	2,4	2,1	1,9	1,9
	20 L	1	2,2	2,4	2,6	3,0	3,0
		2	2,3	4,6	2,8	1,7	2,9
		3	1,6	1,8	1,6	1,5	1,4
		4	2,7	2,0	2,2	1,8	1,9
		5	2,0	1,2	2,1	1,5	2,2

Apêndice 7. Resultados referentes à contagem de *Pseudomonas aeruginosa* em águas de poços, UFC (100 mL)⁻¹.

Poço	Período	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
1	Chuva	0	0	0	0	0
	Seca	0	0	0	0	0
2	Chuva	0	0	0	1	1
	Seca	0	0	0	0	14
3	Chuva	1	0	0	2	0
	Seca	0	0	0	0	0
4	Chuva	0	43	1	0	0
	Seca	5	8	24	4	1
5	Chuva	0	0	0	0	0
	Seca	0	0	0	0	0
6	Chuva	10	0	0	0	1
	Seca	0	0	0	0	0
7	Chuva	32	0	19	86	24
	Seca	21	26	23	9	8

UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

Apêndice 8. Resultados referentes à contagem de clostrídios sulfito redutores em águas de poços, UFC (100 mL)⁻¹.

Poço	Período	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
1	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

Apêndice 9. Resultados referentes à contagem de coliformes totais em águas de poços, NMP (100 mL)⁻¹.

Poço	Período	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
1	Chuva	26,5	11,0	3,1	8,5	9,8
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	Chuva	0,0	0,0	0,0	9,8	0,0
	Seca	0,0	0,0	18,5	13,4	41,0
3	Chuva	0,0	13,5	0,0	3,1	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
4	Chuva	3,1	26,9	7,4	2,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	Chuva	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	Chuva	44,8	28,1	18,7	11,0	51,9
	Seca	30,5	727,0	214,2	228,2	214,2
7	Chuva	7,4	4,1	4,1	2,0	1,0
	Seca	2,0	4,1	6,0	6,0	3,0

NMP: Número Mais Provável.

Apêndice 10. Resultados referentes à contagem de *Escherichia coli* em águas de poços, NMP (100 mL)⁻¹.

Poço	Período	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
1	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
3	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
7	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

NMP: Número Mais Provável.

Apêndice 11. Resultados referentes à contagem de enterococos em águas de poços, NMP (100 mL)⁻¹.

Poço	Período	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
1	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	3,0	5,2
3	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	Chuva	4,1	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	Chuva	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	Chuva	39,1	3,1	1,0	2,0	64,0
	Seca	0,0	1,0	1,0	4,1	0,0
7	Chuva	5,2	27,8	5,2	2,0	1,0
	Seca	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

NMP: Número Mais Provável.

Apêndice 12. Resultados referentes à variável nitrato em águas de poços, mg N – NO₃ L⁻¹.

Poço	Período	1ª Repetição	2ª Repetição	3ª Repetição	4ª Repetição	5ª Repetição
1	Chuva	0,7	0,6	0,7	1,0	0,6
	Seca	0,5	1,1	1,4	2,2	0,3
2	Chuva	1,1	0,9	0,7	0,6	1,1
	Seca	2,3	1,3	1,6	1,9	1,8
3	Chuva	5,4	6,0	5,9	5,2	5,8
	Seca	6,6	5,8	5,5	5,7	5,0
4	Chuva	0,6	0,4	0,7	0,8	1,2
	Seca	1,6	0,9	1,7	1,7	2,0
5	Chuva	6,8	5,0	2,9	3,7	8,9
	Seca	7,6	9,1	5,9	5,9	5,0
6	Chuva	0,9	1,2	1,2	0,5	0,7
	Seca	1,3	1,4	1,1	0,7	1,0
7	Chuva	1,3	1,6	1,3	0,8	1,4
	Seca	1,3	0,9	2,4	1,5	1,4