

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS MINERAIS DE CAXAMBU – MG

Renata Franciulli de Figueiredo¹; Daniel Artur Freitas de Oliveira¹;
Susana Nogueira Diniz¹; Sérgio de Mendonça¹; Cristina Eunice Okuyama¹

¹Universidade Anhanguera de São Paulo – UNIAN-SP, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

A cada dia aumenta mais a procura pelo tratamento com águas minerais, que por sinal possuem composições químicas que as qualificam com uma grande importância terapêutica. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar amostras das águas, provenientes de duas fontes de águas minerais de Caxambu – MG, quanto à sua toxicidade contra *Artemia salina*, controle de qualidade microbiológico e a atividade antibacteriana das águas contra bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados demonstraram que as águas apresentam baixa toxicidade no teste feito com *Artemia salina*. Na avaliação do controle de qualidade microbiológico, não foi observado crescimento microbiano. Além disso, verificou-se que as águas minerais não apresentam propriedade inibitória de crescimento das bactérias *E. coli* e *S. aureus*. Como conclusão, o presente trabalho demonstrou que as águas minerais apresentam baixa toxicidade e boa potabilidade para seu consumo. No entanto, como estas águas não possuem capacidade de inibição bacteriana, estas podem ser facilmente contaminadas, necessitando desta forma, de um grande cuidado na manutenção de suas fontes.

Palavras-chave: Águas minerais. *Artemia salina*. Controle Microbiológico.

ABSTRACT

The search for treatment with mineral waters has been increasing each day. These waters have chemical compositions that qualify them with a great therapeutic meaning. The aim of this work was to evaluate samples of waters from two different mineral waters fountains located in Caxambu – MG, regarding their toxicity against *Artemia salina*, microbiological quality control and antibacterial activities of this waters against *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* bacteria's. The results demonstrated that the waters present low toxicity on the test done with *Artemia salina*. On the evaluation of the microbiological quality control, no microbial growth was observed. Besides, it was verified that the mineral waters did not present inhibitory effects against *E. coli* and *S.aureus* bacteria's. Concluding, this work demonstrated that the mineral waters present low toxicity and are suitable for drinking. Although, as these waters are not able to inhibit the bacterial grow, they can be easily contaminated, being necessary good maintenance of their fountains.

Key-words: Mineral waters. *Artemia salina*. Microbiological control.

Endereço para correspondência

Cristina E. Okuyama
Universidade Anhanguera de São Paulo
Rua Maria Cândida, 1813, 5º andar, 02071-013. São Paulo, SP, Brasil
Fone: +55-11-29679147
E-mail: cris_okuyama@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O turismo baseado no uso terapêutico das águas minerais foi a principal razão do desenvolvimento sócio-econômico das estâncias do Circuito das Águas de Minas Gerais: Caxambu, São Lourenço, Cambuquira e Lambari. Os parques das águas dessas cidades são as suas principais atrações turísticas, apresentando águas minerais bicarbonatadas cálcicas, sódicas ou mistas, frias, carbogosas, não-radioativas a radioativas, ferruginosas e/ou sulfurosas, com pH ácido a ligeiramente ácido, o que sugere suas propriedades terapêuticas (Neto, 2003; Guimarães, 2007).

Um fator de grande importância econômica para estes municípios são as unidades industriais de engarrafamento de água, pois grande parte das águas minerais do Brasil é do estado de Minas Gerais.

No Brasil, as pessoas têm acesso livre aos estabelecimentos termais sem passagem prévia por profissionais qualificados. Já em países como Portugal, a utilização das águas minerais termais é supervisionada por médicos especializados. Além disso, esta terapia está contemplada no sistema nacional de saúde, sendo financiado pelo Estado português (Quintela, 2004).

Segundo Quintela (2004), as práticas termais tiveram uso ancestral e são associadas, sobretudo por médicos, à fase "religiosa" e "empírica" da medicina. Com o advento da medicina dita científica, os médicos sentiram necessidade de se apropriar dessa prática terapêutica — para alguns populares, para outros do domínio da magia — de modo a que ela acompanhasse a história da medicina.

Nessa terapêutica, o agente é a água termal, que foi transformada no final do século XIX, particularmente na França, em objeto de estudo de uma nova ciência, a hidrologia médica. E foram médicos hidrologistas que definiram o termalismo como um conjunto de atividades que envolvem a terapêutica pelas águas mineromedicinais aplicadas a um doente durante a sua estadia numa Estância Termal (Quintela, 2004; Cunha, 2005).

A cada dia a procura por tratamentos naturais vem aumentando e, cada vez mais, ganhando credibilidade e comprovação médica de seus benefícios.

Existem estudos com as diferentes águas minerais. Segundo Wynn e colaboradores (2008) o

consumo de águas minerais auxilia na formação óssea em humano. Águas minerais alcalina-bicarbonatada melhoram a motilidade digestiva e desordens inflamatórias gastrointestinais (Fornai et al., 2008). Estudos realizados por pesquisadores japoneses demonstram que águas contendo íons magnésio apresentam atividade antiedematogênica em ratos (Nagai et al., 2007). Já, a terapia oral de águas minerais sulfurosas em quantidades ainda não estabelecidas demonstra interferir no metabolismo de eritrócitos, aumentando a concentração de meta-hemoglobina (Albertini et al., 2008).

Embora, a falta de conhecimento sobre o potencial terapêutico destas águas minerais, a uso correto e a importância de sua conservação são de grande preocupação para especialistas em águas. Assim surgem perguntas como: Estas águas minerais são potáveis? Quanto se pode ingerir destas águas ricas em minerais sem que haja algum perigo de toxicidade? Qual sua verdadeira indicação terapêutica?

Devido a grandes relatos, principalmente de hidrologistas médicos, sobre o potencial terapêutico das águas minerais, aumenta o interesse na realização de estudos que comprovem tais efeitos. No entanto, primeiramente, se faz necessário uma avaliação do controle de qualidade das águas. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi realizar estudos preliminares de toxicidade através do teste com *Artemia salina*, a qualidade microbiológica e a atividade antimicrobiana das águas minerais provenientes de fontes de águas minerais no estado de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Águas termais

Foram avaliadas as águas minerais sulfurosa e alcalina gasosa provenientes de fontes da cidade de Caxambu – MG e, com água do abastecimento (Sabesp). As águas foram coletadas diretamente das fontes no dia 15/06/2008.

Teste de toxicidade com *Artemia salina*

A *Artemia salina* é um microcrustáceo utilizado como bioindicador em testes de controle de

toxicidade em águas. A cultura da *Artemia salina* segue alguns passos descritos por Meyer e colaboradores (1982). A avaliação de toxicidade foi realizada com as águas minerais sulfurosa e alcalina gasosa provenientes de fontes da cidade de Caxambu – MG e com água da rede de abastecimento (Sabesp).

Preparação das larvas de *Artemia salina*

Em uma placa de Petri (contendo água do mar artificial e dividida por um aparato plástico afastado cerca de 2 mm do fundo) foram colocados ovos de *Artemia salina* em um dos lados da placa. Em seguida o lado contendo os ovos, foi coberto com papel alumínio. O outro lado da placa foi submetido à incidência de luz incandescente durante 48 horas, para manter a temperatura e também luminosidade constante. Após a eclosão dos ovos, as larvas se separaram dos ovos, pois migraram para o lado com incidência de luz devido ao seu fototropismo.

Procedimento experimental com a *Artemia salina*

Foram realizados testes com águas minerais sulfurosa e alcalina gasosa, e com a água potável da rede de distribuição da Sabesp - SP. As duas fontes apresentam águas minerais com composição distintas, sendo uma das águas sulfurosa e a outra alcalina gasosa. Foram utilizadas concentrações de 10, 25, 40, 50, 75 e 100% das diferentes águas e um grupo controle, contendo somente água do mar.

Com o auxílio de uma pipeta foram separadas dez larvas para cada poço, em uma placa de 24 poços. Foram avaliadas, em triplicata, as diferentes concentrações das águas testes. As placas foram deixadas sem contato com a luz, porém com oxigênio circulante. Foram aguardadas 24 horas para realizar a leitura das larvas vivas imersas nas concentrações analisadas.

A observação das larvas foi realizada com auxílio de vidro-relógio e de um contador (Ampligrav), no qual foi possível observar as larvas em tamanho maior. Foram consideradas como larvas (*Artemia salina*) mortas, todas as que não apresentavam movimento normal ou nenhum movimento em dez segundos de observação. A determinação da toxicidade foi realizada através do percentual de mortalidade das larvas, que foi corrigido através da Fórmula de Abbott (1925). A LC50 (concentração letal mediana) foi estimada

utilizando o Método de Análise Probit descrito por Finney (1971).

Controle de qualidade microbiológico

O controle de qualidade microbiológico foi realizado com as águas minerais sulfurosa e alcalina gasosa mencionadas anteriormente.

Preparação dos meios de cultura

- Ágar BHI: O meio Ágar BHI é um meio não seletivo tradicionalmente utilizado para o pré-enriquecimento e/ou manutenção de microrganismos. Este meio contém substâncias nutritivas que favorecem o crescimento da maioria dos microrganismos. Assim, foi preparado para análise da contaminação das amostras por bactérias (Probac, 2008). Para isso, foram pesados 20,89 g de meio BHI e preparados em 400 mL de água destilada, de acordo com orientação do fabricante (OXOID, England). Após a mistura o meio foi tampado, embalado e esterilizado em autoclave (Farmacopéia Brasileira, 2010).

- Ágar Sabouraud: O meio de cultura Agar Sabouraud é um meio destinado para o cultivo e isolamento de fungos patógenos (Probac, 2008). Foram pesados 26 g de meio Sabouraud em balança analítica e preparados em 400 mL de água destilada, conforme recomendação do fabricante (OXOID, England). Após mistura, este foi tampado, embalado e autoclavado para sua esterilização (Farmacopéia Brasileira, 2010).

- Caldo Muller Hinton: Foram pesados 2,1 g de caldo Muller Hinton em balança analítica e preparados em 100 mL de água destilada. Após a mistura, o meio foi tampado, embalado e autoclavado para sua esterilização (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Preparação das Amostras

Todo o ambiente de manipulação foi desinfetado e o material utilizado foi esterilizado em autoclave. Foram coletadas 50 mL das águas de diversas origens em tubos tipo Falcon estéreis diretamente das fontes, assim como da água de abastecimento. As amostras foram centrifugadas à 5000 rpm, em temperatura de 4°C, por 20 minutos em centrífuga ALC PK 120R. Após centrifugação o sobrenadante foi desprezado,

sendo o sedimento ressuspensionado em 300 µL de PBS (solução salina tamponada estéril). A partir desta solução principal foram feitas diluições sequenciais de 1:10, 1:100 e 1:1000. Os meios para cultivo, após esterilização, foram dispensados em placas de Petri (90 x 15 mm) e divididos em 24 placas com meio Agar BHI e 24 placas com meio Agar Sabouraud. Em seguida, após a solidificação dos meios, as placas foram incubadas por 24 h em estufa para controle de contaminação.

Avaliação do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para bactérias e fungos

A avaliação do controle de qualidade das amostras seguiu a recomendação da Farmacopéia Brasileira, em sua 5ª edição (2010), através do método de Contagem em Placa por semeadura em superfície para Produtos Não Estéreis, com pequenas modificações. Em resumo, para cada placa com meio de cultura BHI Agar ou Sabouraud foram adicionados à superfície 0,05 mL das amostras, homogeneizadas em sua superfície por alça de Drigalsky esterilizada por flambagem. As placas foram incubadas a 35°C (3-5 dias) para BHI Agar e 25°C (5-7 dias) para Sabouraud, para determinação do número de microrganismos aeróbios totais, bolores e leveduras, respectivamente.

Avaliação da atividade antibacteriana das águas

Para a avaliação da possível atividade antibacteriana das águas estudadas neste trabalho, foram realizados os ensaios de cultivo em meio líquido frente às bactérias *Escherichia coli* (*E. coli*) – gram negativa - e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) – gram positiva. As águas coletadas foram da fonte de água sulfurosa, fonte de água alcalina gasosa, da rede de abastecimento da Sabesp e água destilada. Além das amostras de água, foram utilizados como controles positivos caldo Muller Hinton e salina tamponada estéril (PBS).

Preparação das bactérias

Foram preparadas suspensões de *E. coli* e *S. aureus* em densidade de 0,5 de acordo com a escala Mc Farland, isto é, com auxílio de uma alça foram separadas uma pequena quantidade de colônias que foram misturadas em 2 mL de PBS

até que chegasse à turvação de 0,5 da escala Nefelobac (Probac, SP). Cada amostra foi preparada em duplicata, ou seja, 2 eppendorffs para *E. coli* e 2 eppendorffs para *S. aureus*. Em cada eppendorff foi colocado 1 mL da amostra + 20 µL da suspensão de *E. coli* ou *S. aureus*. Os tubos foram levemente homogeneizados e deixados sobre a bancada em temperatura ambiente durante 48 horas, exceto as amostras preparadas em caldo Muller Hinton que permaneceram apenas 24 horas, devido seu alto teor nutritivo. Após tempo estipulado para o crescimento as amostras foram armazenadas em geladeira para sua estabilização. Antes do processo de análise foi realizado plaqueamento apenas com caldo Muller Hinton, no qual foi observado um alto crescimento de bactérias, sem possibilidade de contagem. A partir disso, foram feitas novas diluições das amostras originais (1:10).

Avaliação do número de Unidades Formadoras de Colônias para bactérias

Em cada placa foram colocados 20 µL de amostra contendo bactérias em crescimento já diluídas, que foram espalhadas de modo que tivessem uma ótima adesão ao meio com o auxílio da alça de Drigalsky. Após 24 horas em estufa à 37 °C foi realizada a contagem das bactérias com o auxílio de um contador de colônias.

RESULTADOS

Teste de toxicidade com *Artemia salina*

Avaliação da toxicidade das amostras de água

Foi realizado teste de toxicidade com águas minerais provenientes da fonte de água sulfurosa, fonte de água alcalina gasosa da cidade de Caxambu - MG, e com a água de abastecimento da Sabesp. As amostras de águas minerais apresentaram toxicidade semelhante à água de abastecimento nas larvas de *Artemia salina*, como demonstrado na Figura 1.

Os resultados da LC50 (%) demonstraram que a toxicidade das amostras de água alcalina gasosa, água sulfurosa e água de abastecimento são semelhantes (Tabela 1).

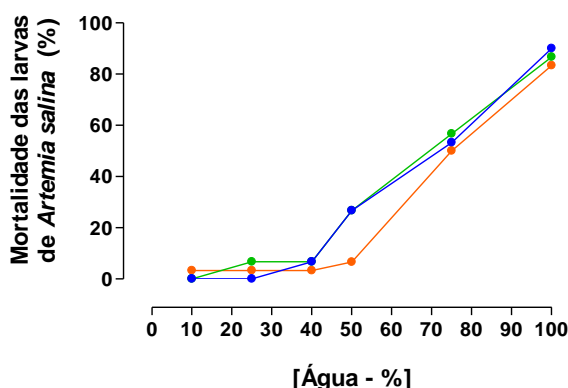


Figura 1: Toxicidade aguda das amostras de água da rede de abastecimento (●), da fonte de água alcalina gasosa (●) e da fonte de água sulfurosa (●) em larva de *Artemia salina*. O gráfico representa o percentual corrigido da mortalidade das larvas de *A. salina* pela concentração de águas (%).

Tabela 1. Resultado da toxicidade das amostras de águas no bioensaio com larvas de *Artemia salina*. Os valores representam a LC50 (%) obtidos através da análise pelo Método de Probit.

Amostras de águas	LC ₅₀ (%)
Água de abastecimento	75,04
Fonte de água alcalina gasosa	66,01
Fonte de água sulfurosa	67,30

Análise microbiológica

A análise microbiológica foi realizada com as águas minerais provenientes da fonte de água sulfurosa, fonte de água alcalina gasosa e com a água da rede de abastecimento.

Os resultados obtidos inicialmente, em meio Agar BHI, demonstraram que as amostras das águas avaliadas não apresentaram contaminação com bactérias e nem com fungos em todas as concentrações analisadas (sem diluição, 1:10, 1:100 e 1:1000).

Para as análises realizadas em meio Agar Sabouraud, também não houve crescimento bacteriano para nenhuma das amostras de água, sem diluição e nas diluições 1:10, 1:100 e 1:1000.

Foram realizados novos experimentos para confirmação dos resultados obtidos anteriormente. Nestes testes, os resultados foram os mesmos. Não houve crescimento microbiano em meio Agar BHI.

Avaliação da atividade antibacteriana das águas

As amostras das águas para avaliação da atividade antibacteriana frente às bactérias *E. coli* e *S. aureus* foram as anteriormente descritas na seção “materiais e métodos”. Além das amostras de água, foram utilizados caldo Muller Hinton, como controle positivo e, salina tamponada estéril (PBS).

Os resultados obtidos demonstram que a água alcalina gasosa, água sulfurosa e PBS se comportaram da mesma forma, ou seja, preservaram as bactérias do inóculo essencial provavelmente por apresentarem concentração de sais compatível com a osmolaridade interna das mesmas (Tabela 2).

Tabela 2: Avaliação da atividade antibacteriana das amostras de águas nas bactérias *E. coli* e *S. aureus*. Os resultados são expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL.

Amostras de águas	Bactéria gram negativa (<i>E. coli</i>)		Bactéria gram positiva (<i>S. aureus</i>)	
	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
Caldo Muller Hinton	Infinitas	Infinitas	Infinitas	Infinitas
PBS	1,3x10 ⁶	2,2x10 ⁶	1,8x10 ⁶	2,0x10 ⁶
Água Destilada	2,2x10 ⁴	8,8x10 ⁵	2,0x10 ⁶	1,8x10 ⁶
Abastecimento	3,5x10 ³	1,0x10 ³	5,2x10 ⁵	8,2x10 ⁵
Fonte de água sulfurosa	2,0x10 ⁶	1,8x10 ⁶	2,0x10 ⁶	1,3x10 ⁶
Fonte de água alcalina gasosa	2,4x10 ⁶	2,6x10 ⁶	2,0x10 ⁶	2,0x10 ⁶

Nas amostras de água destilada foi observada uma pequena diminuição das bactérias *E. coli* inicialmente inoculadas, muito provavelmente devido ao rompimento da parede celular bacteriana pelo choque osmótico. As bactérias *S. aureus*, por serem gram positivas apresentam uma maior resistência a este rompimento. Nas amostras do caldo M. Hinton, como já era esperado, foi observado um elevado crescimento das bactérias. Enquanto que na amostra coletada da água de abastecimento observou-se uma diminuição do número de bactérias inicialmente inoculadas no ensaio, fato que pode ser compreendido pela ação do cloro na água potável de abastecimento (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade através do teste de *Artemia salina*, realizar análise microbiológica de controle de qualidade e atividade antibacteriana perante bactérias gram-positivas (*S. aureus*) e gram-negativas (*E. coli*) das águas minerais provenientes das Fontes de água sulfurosa e Fonte de água alcalina gasosa, ambas provenientes de Caxambu – MG. Além disso, foram avaliados em conjunto a atividade das águas de abastecimento e água destilada.

Teste de toxicidade com *Artemia salina*

O método com *Artemia salina* (*A. salina*) apresentou como um bom indicador de toxicidade além de constituir um teste simples e de baixo custo.

Os resultados dos experimentos com amostras de águas minerais provenientes de fontes de água sulfurosa e alcalina gasosa, e água da rede de abastecimento, demonstraram que as águas não apresentam toxicidade às larvas de *A. salina*. As LC_{50} (%) demonstraram que a toxicidade da amostra de água alcalina gasosa > água sulfurosa > água de abastecimento, porém sem diferenças significantes. Os altos valores das LC_{50} caracterizaram uma baixa toxicidade.

Sabe-se que as *A. salina* são microcrustáceos e vivem em meios marinhos. Seu meio para crescimento é em água marinha. Assim, como as águas minerais, sulfurosa e alcalina gasosa, são águas ricas em sais podem compensar e retardar a falta da alta concentração de sal, como é o caso da água do mar. Já, nas situações nas quais a quantidade de água do mar está diminuída (ou seja, as concentrações das águas minerais estão altas) as larvas das *A. salina* têm mais dificuldades de sobrevivência. Embora as *A. salina* apresentem mecanismos de adaptação que as tornam cosmopolitas, como a osmorregulação (Meyer et al., 1982). Além disso, também foi observado que estes crustáceos são resistentes ao cloro presente na água de abastecimento, visto que a LC_{50} foi elevada. No entanto, a permanência durante um tempo prolongado e com diminuição de seu meio, acaba sendo letal.

Entretanto, deve-se lembrar de que o teste realizado com a *A. salina* é um teste preliminar de avaliação de toxicidade. É

necessária a realização de estudos mais específicos para dar sequência aos estudos toxicológicos das águas testadas.

Análise microbiológica

Os resultados obtidos na análise microbiológica demonstram que as amostras das águas provenientes das Fontes de água sulfurosa e alcalina gasosa, além da água da rede de abastecimento não apresentaram contaminação com bactérias e nem de fungos em todas as concentrações analisadas a partir de amostras de 50 mL.

O “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” define o grupo coliforme como: “todas as bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, gram-negativas, não esporuladas e na forma de bastonete” (Alves et al., 2002). Como não houve crescimento de nenhuma bactéria, pode-se sugerir que as amostras de águas minerais não apresentam coliformes.

Além disso, segundo a RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005 (“Regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural”), na fonte ou poço e na sua comercialização, a água mineral natural e a água natural não devem apresentar risco à saúde do consumidor (ausência de microrganismos patogênicos) e estar em conformidade com as características microbiológicas (apresentar ausência ou < 1,0 UFC em 100 mL), reforçando que as amostras de águas testadas neste trabalho apresentam dentro de uma qualidade microbiológica aceitável em 50 mL. Assim, sugere-se uma água potável, porém deve-se ressaltar que seria ideal a repetição do teste com um volume igual ou superior a 100 mL, para que haja a confirmação da ausência de UFC por mL.

A água da rede de abastecimento durante seu tratamento em estação de tratamento recebe adição de flúor na etapa chamada de fluoretação, que é uma etapa adicional na qual o flúor é adicionado para redução de incidência de cárie dentária. Também é adicionado cloro na etapa chamada de cloração, quando o cloro é adicionado para destruição de microrganismos presentes na água. Sendo assim, já era esperada a redução das bactérias inicialmente inoculadas nas placas contendo água de abastecimento (Sabesp, 2008).

Já as águas das fontes de água sulfurosa e

alcalina gasosa apresentam condições de osmolaridade compatíveis com a preservação de microrganismos nestas fontes, que apresentam livre acesso de pessoas sem nenhum cuidado especial, possibilitando uma fácil contaminação das mesmas. O crescimento da indústria de engarrafamento, aliado ao desenvolvimento urbano sem planejamento, tem gerado conflitos, como os problemas de contaminação associados à urbanização, à exploração excessiva dos aquíferos e à interferência entre captações, o que ressalta a urgência na implantação das áreas de proteção de poços e fontes (Neto, 2003).

Após a verificação da ausência de crescimento microbiológico nas amostras das águas provenientes de Caxambu - MG, uma questão foi levantada: "Será que estas águas possuem através de seus componentes alguma propriedade que possa inibir o crescimento de microrganismos?". Afinal estas águas possuem diversos componentes minerais. Assim, surgiu o interesse em pesquisar as propriedades das águas minerais na presença de bactérias gram-negativas e gram-positivas.

Avaliação da atividade antibacteriana das águas nas bactérias *E. coli* e *S. aureus*

Em resposta à questão da propriedade das águas minerais das águas alcalina gasosa e sulfurosa foram inoculados dois tipos de bactérias, uma gram-positiva (*S. aureus*) e uma gram-negativa (*E. coli*). Este teste não foi realizado somente com as águas minerais e sim, também com a água destilada, água de abastecimento, PBS e no caldo Muller Hinton.

Nas amostras do caldo Muller Hinton, como já era esperado, foi observado um elevado crescimento das bactérias. Este elevado crescimento microbiano deve-se ao fato de ser um meio altamente rico que contém nutrientes de interesse a estes microrganismos (*S. aureus* e *E. coli*).

Nas amostras de água destilada foram observados diminuição do crescimento de *E. coli*. Esta atividade era esperada devido à menor osmolaridade na água, pela ausência de sais, que levaria ao rompimento da parede celular bacteriana. Esta é uma bactéria gram-negativa que possui uma fina camada de peptidoglicano e uma camada de lipopolissacarídeo. Já a quantidade de bactérias *S. aureus* foi semelhante

nas outras águas (exceto da água de abastecimento) e isso se deve provavelmente por se tratar de uma bactéria gram-positiva que possui uma única camada, a camada de peptidoglicano, mais espessa que a da *E. coli* (Tortora et al., 2007), fato que a tornaria mais resistente à esta destruição por rompimento da parede celular via choque osmótico.

Uma redução da quantidade de bactérias inoculadas foi observada na água da rede de abastecimento, especialmente quanto à bactéria *E. coli*. Isto, provavelmente, deve-se a adição de cloro e flúor durante seu tratamento (Sabesp, 2008), que comprova as propriedades bactericidas destes compostos e justifica sua suplementação na rede de abastecimento de água potável.

As amostras das águas em estudo, águas das fontes sulfurosa e da alcalina gasosa apresentaram uma quantidade bacteriana semelhante à obtida em PBS, ou seja, preservaram as estruturas celulares bacterianas devido à salinidade compatível com a célula bacteriana, porém não promoveram um crescimento elevado como no caldo M. Hinton. Estes resultados demonstram que a presença dos sais, tanto na salina tamponada quanto nas águas minerais, proporcionam uma pressão osmótica equilibrada e adequada à persistência bacteriana nestas fontes.

As composições das águas minerais são de grande interesse, visto que estudos como o de Zamani e colaboradores (2007) demonstram que sais de bicarbonato apresentam atividade antifúngica. Isto ressalta a importância de estudos mais detalhados dos componentes presentes nas águas. Por exemplo, as águas minerais alcalina-bicarbonatada melhoram a motilidade digestiva e desordens inflamatórias gastrointestinais (Fornai et al., 2008). Estudos realizados por pesquisadores japoneses demonstram que águas contendo íons magnésio apresentam atividade antiedematogênica em ratos (Nagai et al., 2007). Estas características abrem portas para futuras investigações como a atividade anti-inflamatória dessas águas.

CONCLUSÃO

As águas das fontes sulfurosa e alcalina não possuem perigo de toxicidade através da avaliação de um bioindicador como a *Artemia salina* e obteve um resultado satisfatório na

análise microbiológica, estando aprovadas para o consumo. Mas vale a pena lembrar que, estas águas devem ser analisadas com frequência já que não possuem atividade bactericida e apresentam concentração osmótica compatível com a preservação da célula bacteriana, estando desta forma, propícia à contaminação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott WSJ. *Econ Entomol.* 1925; 18:265-67.
- Albertini MC, Teodori L, Accorsi A, Soukri A, Campanella L, Baldoni F, Dachà M. Sulphurous mineral water oral therapy: Effects on erythrocyte metabolism. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46(10):3343-50.
- Alves NC, Odorizzi AC, Goulart FC. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. *Revista Saúde Pública.* 2002; 36(6):749-51.
- Cunha JM. Serviço de Crenologia do Balneário de Caxambu. Minas Gerais, 2005.
- Farmacopéia Brasileira. 5ª ed. ANVISA, 2010.
- Finney DJ. *Probit analysis.* 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1971.
- Fornai M, Colucci R, Antonioli L, Ghisu N, Tuccori M, Gori G, Blandizzi C, Del Tacca M. Effects of a bicarbonate-alkaline mineral water on digestive motility in experimental models of functional and inflammatory gastrointestinal disorders. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2008; 30(4):261-9.
- Guimarães BC. Exploração (In) Sustentável das Águas Minerais: Apontamentos para uma Nova Ordem Jurídico-Ambiental nas Estâncias Hidrominerais do Circuito das Águas do Sul de Minas Gerais. [Tese de Conclusão de Mestrado em Direito – UNISAL - Centro Universitário Salesiano de São Paulo]. Lorena: 2007.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982; 45(5):31-4.
- Nagai N, Fukuhata T, Ito Y, Tai H, Hataguchi Y, Nakagawa K. Preventive Effect of Water Containing Magnesium Ion on Paw Edema in Adjuvant-Induced Arthritis Rat. *Bio Pharm Bull.* 2007; 30(10): 1934-7.
- Neto RG. Gestão integrada: uma proposta para a exploração sustentável das águas minerais. São Paulo. [Monografia de conclusão do Curso de Especialização em Gestão Ambiental – NISAM – Faculdade de Saúde Pública da USP]. 2003.
- Meios de Cultura. Disponível em: <http://www.probac.com.br/>. Acesso em: 10 set. 2008.
- Quintela MM. Saberes e Práticas Termiais: uma perspectiva comparada em Portugal (Termas de S. Pedro do Sul) e no Brasil (Caldas da Imperatriz). História, ciências, saúde – Manguinhos, Rio de Janeiro. 2004; 11(suplemento1):239-260.
- RDC Nº 275, de 22 de setembro de 2005 - ANVISA. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/agua_sub/arquivos/RDC_275_2005.pdf. Acesso em: 15 set. 2008.
- Tratamento de Água. Disponível em: <http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=T&db=&docid=600967CDD4F6B9C0832571AE0059F4A4>. Acesso em: 10 set. 2008.
- Tortora GJ, Case CL, Funke BR. *Microbiologia.* 8 ed. São Paulo: Artmed, 2007. 920 p.
- Wynn E, Raetz E, Burckhardt P. The composition of mineral waters sourced from Europe and North in America respect to bone health: composition of mineral water optimal for bone. *Br J Nutr.* 2008; 8:1-5.
- Zamani M, Sharifi Tehrani A, Ali Abadi AA. Evaluation of antifungal activity of carbonate and bicarbonate salts alone or in combination with biocontrol agents in control of citrus green mold. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 2007; 72(4):773-7.