



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**EDILBERTO CORDEIRO DOS SANTOS JUNIOR**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA OZONIZAÇÃO NA ESTERILIZAÇÃO DE  
TAMPA DE GARRAFÃO 20 LITROS DE ÁGUA MINERAL**

**Imperatriz  
2011**

**EDILBERTO CORDEIRO DOS SANTOS JUNIOR**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA OZONIZAÇÃO NA ESTERILIZAÇÃO DE  
TAMPA DE GARRAFÃO 20 LITROS DE ÁGUA MINERAL**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: MSc. Maria do Livramento de Paula.

**Imperatriz**

**2011**

EDILBERTO CORDEIRO DOS SANTOS JUNIOR

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA OZONIZAÇÃO NA ESTERILIZAÇÃO DE  
TAMPA DE GARRAFÃO 20 LITROS DE ÁGUA MINERAL**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: MSc. Maria do Livramento de Paula.

APROVADO EM: 07 / 12 / 2011

**BANCA EXAMINADORA**

*Maria do Livramento de Paula*  
Prof. MSc. Maria do Livramento de Paula (Orientadora)

*José de Ribamar Macedo Costa*  
Prof. MSc José de Ribamar Macedo Costa (Membro)

*Adriana Crispim de Freitas*  
Profª MSc. Adriana Crispim de Freitas (Membro)

## FICHA CATALOGRÁFICA

**Sheila de Sousa Monteiro**

Bibliotecária CRB 13/568

Santos Junior, Edilberto Cordeiro dos

Avaliação da eficiência da ozonização na esterilização de tampa de garrafão 20 litros de água mineral / Edilberto Cordeiro dos Santos Junior. – Imperatriz, 2011.

44 f.

Orientadora: Maria do Livramento de Paula.

Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2011.

1. Ozonização. 2. Água Mineral - Embalagem. 3. Tampas. I. Título.

CDU 553.73

S237a

Aos meus avós maternos e meus pais que consolidaram a base de minha formação mais fundamental: o respeito ao próximo.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu pai senhor Edilberto Cordeiro dos Santos a quem mais do nome tem me dado grande herança que nunca vou perder, o exemplo de um pai que dedicou toda a sua vida em nome da família. Seus conselhos, serenidade maior do mundo e a confiança depositada em mim. À minha mãe Terezinha Sobrinho dos Santos por seus cuidados, preocupações naturais de mãe, e confiança no filho, às vezes incompreensível. Aos meus irmãos Edna, João Paulo, José Marcos, Francisco, Elvanir, Raimundinha, e Jó Elias Sobrinhos dos Santos, por serem pessoas que me fazem entender a minha missão nesta vida, a busca de harmonia entre a minha família e numa dimensão maior contribuir para a sociedade o que podemos fazer juntos com a nossa individualidade.

A André Cavaignac por ser um dos inspiradores e entusiastas na revolução dos alunos de engenharia e seu senso de sarcasmo muito aguçado, que tenho aprendido, e aprendi muito. Obrigado pelo companheirismo nas disciplinas de férias (ele entende a que me refiro).

Aryanne Ribeiro pela sua amizade e companheirismo conquistada já em meados do curso, que vem se consolidando para o resto da vida, e se tornando uma grande irmã de lutas, e de conquistas.

Rayanne Franco por sua ajuda mais do que providencial durante todo o curso, desde o primeiro período em que estudamos Química Orgânica em sua casa, em todos os seminários acadêmicos e até a elaboração deste trabalho de conclusão na qual tive muita colaboração sua, e ajuda no meu estágio. Minha gratidão é grande demais para caber só nessa pequena guria. Então sou grato a toda a família Franco.

Ao meu amigo Raelson Serra por suas incomensuráveis ajudas em muitas ocasiões, a quem serei imensamente grato e devedor pelos conselhos e pelo seu exemplo de cristão, e muitas noites de estudos aos domingos com o Paulo

Humberto que também faço menção de gratidão, grato por toda a força nas viagens de congressos e SEMIC's, onde eu tinha que ser parte sensata do grupo e mesmo assim era razão das paródias destes dois.

À família Trigueiro na pessoa de Camila Trigueiro por tantas vezes de estudos dispor a sua casa, mesmo nos feriados, fazendo serão para as disciplinas de Operações Unitárias e tantas horas de conversas em que me aconselharam em algumas decisões.

A meus chefes de estágio nas pessoas de Hildeth, Regis, e Joseneide por toda compreensão e apoio ao estágio.

A todos os meus professores, desde o jardim até a faculdade, pois cada um no seu modo contribuiu para minha formação, com especial menção para Stella Arcanjo, a primeira engenheira de alimentos que conheci e que com suas aulas me instigou a continuar o curso, e minha orientadora neste trabalho Maria do Livramento de Paula representando mais do que orientadora, pois possui o meu respeito **como minha mãe de profissão.**

Ao professor Romildo Sampaio por suas aulas magistrais e seu exemplo de profissionalismo, e aos professores membros da banca de avaliação deste trabalho: José de Ribamar, e Adriana Crispim, pois mesmo que eu não tenha tido aulas com os mesmos, tive a imensa honra de tê-los em minha banca, avaliando este trabalho.

A todos que acreditaram em mim, na minha determinação de alcançar este sonho que me custou algumas noites não dormidas, mas com a ajuda e o entusiasmo de muitos amigos pude valorizar cada dia que se aproximava desta realidade. A lista seria extensa demais para eu fazer justiça honrando a cada um que contribuiu de algum modo para esta minha formação.

Gratidão maior e completa a Deus pelo dom da vida, inteligência e por todas estas pessoas que me fazem ser ricamente abençoado através de minha convivência com elas.

## RESUMO

As embalagens dos alimentos devem ser rigorosamente higienizadas para reduzir o risco de contaminação por microorganismos patógenos. Métodos de sanitização alternativos têm sido amplamente estudados a fim de garantir a completa esterilização dos materiais que entre contato direto com os alimentos. Destaca-se também a importância da avaliação da eficiência do método escolhido esterilização. Neste sentido propôs-se a avaliação da eficiência da ozonização na esterilização de tampa usada no fechamento de garrafão de vinte litros de água mineral. A presença em águas de *Pseudomonas aeruginosas* mineral está associada à higienização ineficiente. As bactérias heterotróficas servem como parâmetro para se controlar o nível de bactérias mediante as condições de higienização. O cloro é capaz de formar compostos potencialmente cancerígeno, então recomenda-se a substituição deste para minimizar o risco à saúde humana. Nesta pesquisa mediu-se a eficiência da ozonização nas tampas através de análises microbiológicas, antes e depois da ozonização utilizando a técnica de Swabs. Os resultados para Bactérias heterotróficas, Coliformes fecais foi confirmada a eficiência satisfatória do processo em que houve a diminuição da carga microbiológica inicial. As *Pseudomas aeruginosas* não foram encontradas nas tampas em nenhuma das amostras. Pode-se concluir que a utilização do ozônio como método de esterilização nas tampas dos garrafões de 20 litros de água mineral mostrou-se um método eficiente para a eliminação ou redução em níveis aceitáveis da carga microbiana.

**PALAVRA-CHAVE:** Ozonização; Tampas; Água Mineral; Microrganismos



## ABSTRACT

The food packages should be carefully cleaned to reduce the risk of contamination by pathogenic microorganisms. Alternative sanitizing methods have been widely studied in order to ensure complete sterilization of materials to get in direct contact with food. We also highlight the importance of assessing the efficiency of the method chosen sterilization. In this sense it was proposed to evaluate the efficiency of ozonation in the sterilization of caps used in the closure of containers of 20 liters of mineral water. The presence of *Pseudomonas aeruginosas* in mineral water is associated with inefficient cleaning. Heterotrophic bacteria serve as a parameter to control the level of bacteria through the conditions of hygiene. Chlorine is capable of forming potentially carcinogenic compounds, then it is recommended to replace that to minimize the risk to human health. In this study we evaluated the efficiency of ozonation in the caps through microbiological analysis before and after ozonation, utilizing technique of Swabs. The results for heterotrophic bacteria and fecal coliforms were confirmed satisfactory efficiency of the process in which there was a decrease in initial load microbiologically to both microorganisms group. The *Pseudomonas aeruginosas* were not found in any sample covers. It can be concluded that the use of ozone as a method of sterilization in the lids of containers of 20 liters of mineral water proved to be an efficient method for the elimination or reduction to acceptable levels the microbial load.

**KEYWORD:** Ozonation; caps; mineral water; microorganisms

## LISTA DE TABELA

		p
Tabela 1	Contagem de Coliformes Fecais.....	35
Tabela 2	Contagem de <i>Pseudomonas auriginosas</i> .....	36
Tabela 3	Contagem de bactérias heterotróficas em.....	36

## LISTA DE FIGURA

		p
Figura 1	Coleta de tampas de garrafão de 20 litros.....	30
Figura 2	Béquer de 1000mL contendo amostra de tampas.....	31
Figura 3	Tubos contendo água peptonada 0,1%.....	32
Figura 4	Gerador de ozônio.....	34
Figura 5	Inoculação no meio de cultura.....	34

## LISTA DE ANEXOS

		p
<b>Anexo 1</b>	<b>Dimensões da Tampa.....</b>	<b>43</b>
<b>Anexo 2</b>	<b>Especificações da Tampa.....</b>	<b>44</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>1.1 Objetivos da Pesquisa</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1.2 Objetivo Específico</b> .....	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1 Água Mineral</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2 Parâmetros de qualidade microbiológica da água mineral</b> .....	<b>18</b>
<b>2.3 Embalagens</b> .....	<b>20</b>
<b>2.4 Tampas</b> .....	<b>21</b>
<b>2.5 O cloro</b> .....	<b>22</b>
<b>2.6 O ozônio</b> .....	<b>23</b>
<b>2.6.1 Características do ozônio</b> .....	<b>24</b>
<b>2.6.2 Vantagens do ozônio</b> .....	<b>24</b>
<b>2.6.3 Efeito antimicrobiano do ozônio</b> .....	<b>25</b>
<b>2.6.4 Produção do ozônio</b> .....	<b>25</b>
<b>2.6.5 A toxicidade do ozônio</b> .....	<b>26</b>
<b>3 METOLOGIA</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1 MATERIAIS UTILIZADOS</b> .....	<b>28</b>
<b>a) Materiais e Equipamentos Utilizados</b> .....	<b>28</b>
<b>b) Reagentes</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2 Coletas de Amostras</b> .....	<b>29</b>
<b>3.3 Preparo dos Meios</b> .....	<b>30</b>
<b>3.4 Parâmetros Avaliados</b> .....	<b>31</b>
<b>a) Para contagem de microrganismos heterotróficos</b> .....	<b>31</b>
<b>b) Contagem de <i>Coliformes</i> fecais e <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> .....	<b>32</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>39</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As embalagens como qualquer outro material que entre em contato direto com os alimentos devem ser rigorosamente higienizados, com o propósito de reduzir o risco de contaminação por microorganismos acima dos limites permitidos na legislação, RDC nº 275 (ANVISA, 2002) como medida de garantia da condição higiênico-sanitária e segurança dos produtos comercializados para o consumo humano. Por essa razão, a Agência Nacional da Vigilância Sanitária estabelece os procedimentos padronizados que são requisitos obrigatórios para serem executados por empresas que industrializam e comercializam água mineral natural. Métodos de sanitização dos alimentos e dos equipamentos têm sido propostos com a finalidade de alcançar níveis aceitáveis de contagem de microrganismos a fim de não comprometer a saúde humana.

Além da escolha do método de sanitização das embalagens dos alimentos e equipamentos, deve-se avaliar constantemente os limites da eficiência do método escolhido e desta forma, direcionar meios que viabilizam uma solução para o problema de contaminação de origem microbiológica, química e física.

O Brasil apresenta grandes dificuldades acerca das questões sanitárias e a problemática do consumo de água potável em todas as regiões do país, tem sido uma preocupação recorrente e crescente, visto a falta de condições de sanitização de água tratada para o consumo e por conseguinte, favorecendo um aumento significativo na demanda de água mineral (RITTER et al., 2009). E por outro lado, o surgimento de empresas falsárias de água mineral, tem sido um dos pontos centrais por condicionarem a geração da desconfiança pelo consumidor (FARACHE FILHO et al., 2008).

O presente trabalho teve como proposta avaliar a eficiência do sistema de ozonização na redução da contagem microbiológica antes e após aplicação da sanitização/desinfecção por ozônio no material empregado no processo de envase/fechamento dos garrafões de água mineral.

## **1.1 Objetivos da Pesquisa**

### *1.1.1 Objetivo Geral*

- Avaliar a eficiência do uso do ozônio como meio eficiente para esterilização de embalagens e tampas.

### *1.1.2 Objetivo Específico*

- Avaliação presuntiva da eficiência da metodologia adotada para a esterilização por ozônio em tampa de garrafão 20 (vinte) litros de água mineral, com o uso da técnica de contagem microbiológica antes e após o processo de esterilização/desinfecção por ozônio.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Água Mineral

A Resolução 54 de 15 julho de 2000 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre o regulamento técnico para normatizar e estabelece os padrões de identidade e qualidade de água mineral e água natural que define água mineral a partir de suas características de seu conteúdo dos elementos presentes (BRASIL, 2000).

O consumo de água mineral tem crescido no Brasil, isto se deve a diversos fatores, entre eles, atua sinergicamente com tantos outros, destaca-se os países em desenvolvimento apresentam deficiência na prestação de serviços nos sistema de saneamento e abastecimento público de água, imediatamente isto concorre para que a população considere a água fornecida pelo sistema público não seja de confiança quanto a segurança para o consumo humano. (RESENDES, 2008).

O órgão regulamentador de exploração de água mineral no Brasil denominado de Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM) é controlado pelo Ministério de Minas e Energia, estabelecendo Portarias e Decretos-Leis. A definição, bem como o controle da qualidade da água ao estabelecer os parâmetros de potabilidade são competências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde.

Atualmente o consumo de água mineral é crescente na maioria dos países e está associado entre muitos fatores, ao *status* social do consumidor, à imagem de saudável atrelada ao seu consumo e a carência em muitas regiões das fontes de abastecimento pouco confiáveis para consumidores com baixa imunidade. Os microrganismos patogênicos com alta capacidade de veicularem através de água que não tenha sido aplicado os procedimentos de captação e tratamento dentro do rigor necessário. Para estes consumidores, altamente exigentes e ou imunocomprometido, a água mineral deixa de ser apenas uma alternativa de estilo de hábito de consumo e passa a ser imprescindível para saúde, uma vez que a



própria água mineral dispõe de minerais profícuos para a manutenção das atividades fisiológicas ajustadas dentro do padrão de normalidade. Entretanto, a maioria dos microrganismos patogênicos possui alta capacidade de multiplicação em meio aquoso, então, deve-se ser aplicados um elevado grau de esterilização em todo ambiente e utensílio que entre direta ou indiretamente em contato com a água, a fim de minimizar os riscos de eventuais contaminações através das embalagens, tampas, etc. (PITALUGA, 2006)

Muitos das internações têm como causa a conjunção, não isoladamente a ocorrência destes fatos, da fragilidade do sistema público saneamento e a baixa qualidade da água disponível para o consumo, com efeito, o número de morte de crianças com menos de um ano ocorre por diarreia e internações hospitalares mundialmente e com frequência elevada nos países subdesenvolvidos, tem como causa principal a contaminação por via hídrica (GIACOMETTI, et al., 2005).

A população desprovida de uma total confiança nos serviços prestados por empresas responsáveis pelos serviços de tratamento da água, em sua grande maioria considera o consumo de água mineral, não só como uma alternativa de obtenção de minerais necessários para o bom desempenho das atividades fisiológicas do organismo humano, mas como a única garantia viável de não está exposta ao risco de consumir água contaminada. De acordo com órgãos regulamentadores, água mineral é entendida como água obtida diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas e caracterizadas pelo conteúdo determinado de sais minerais, oligoelementos e outros constituintes (FARACHE FILHO & DIAS, 2008).

As unidades de captação, envase e armazenamento de água mineral exigem a implementação de boas práticas higiênico-sanitárias em alto grau de eficiência, de modo que todas as etapas envolvidas no processamento, até chegar ao consumidor final, mantenham as condições físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de acordo com a legislação vigente (MARTON, et al., 2008). Cabe-se salientar a importância de avaliar as condições de sanitização das embalagens usadas no

envase, uma vez que estas são retornáveis e portanto não há um grau de uniformidade quanto ao teor de contaminação nos garrafões, ainda que os mesmo estejam dentro do prazo de validade.

As indústrias de alimentos vêm atualmente adotando técnicas de sanitização e esterilização com a utilização do ozônio, uma vez que o mesmo apresenta propriedade de alta reatividade que surgem como alternativa aos métodos convencionais (CHIATTONE, et al., 2008)

Nas últimas décadas vêm-se utilizando o gás ozônio como um agente esterilizador. Todavia, atualmente no Brasil ainda não existe norma específica de regulamentação para o uso desta tecnologia, por ser relativamente nova, a literatura científica apresenta estudos ainda incipientes quanto à eficiência da aplicação desta como uma medida alternativa de substituição aos compostos clorados, estes que têm sido alvo de controvérsias na literatura especializada por estarem fortemente associados à geração de subprodutos organoclorados que são potencialmente cancerígenos (CHIATTONE, et al., 2008). Neste contexto, destaca-se a importância de tecnologia viável e eficiente como ferramenta que possa ser usada com método de esterilização de embalagens, ambientes e tampas, para indústria de água mineral.

## **2.2 Parâmetros de qualidade microbiológica da água mineral**

Os procedimentos para identificar e quantificar todos os microrganismos patogênicos presentes na água exigem técnicas complexas, necessitando de longo período que dificultam a indústria em muitas ocasiões realizar uma análise detalhada necessitando de um microrganismo como indicador presuntivo da presença de grupo de microrganismos (FRANCO & LANDGRAF, 2005). Neste sentido, faz-se necessário conhecimento aprofundado de microbiologia, para determinar as características das espécies de microrganismo que indicará a contaminação no meio específico de um grupo em estudo, distinguindo da microbiota específica do meio.

Por esta razão a literatura tem apontado alguns microrganismos que sirvam como indicadores, desde que tais microrganismos obedeçam alguns dos seguintes critérios:

- ✓ Ser fácil e rapidamente detectado;
- ✓ Ser facilmente distinguido dos demais que façam parte naturalmente da microbiota do alimento; estar fortemente associado com o patógeno cuja presença deve indicar;
- ✓ Sempre estar presente quando o patógeno de interesse estiver presente;
- ✓ A sua quantificação deve indicar a quantificação do patógeno investigado;
- ✓ A taxa de variação, como por exemplo antes e após a esterilização, tem de haver uma forte correlação com a taxa de variação do patógeno associado e ainda ter uma resistência discretamente maior que o patógeno; sua ausência no alimento deve implicar também ausência no mesmo alimento do patógeno correlacionado. (JAY, 2005).

Os microrganismos considerados pela Resolução RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA, que define o padrão de qualidade considerando a taxa e o tipo de microrganismos presentes em água mineral e água natural, *coliformes* totais, *coliformes* fecais e/ou *Escherichia coli*, Clostrídios sulfito redutores ou *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* e *Pseudomonas aeruginosa* (BRASIL, 2005).

- O grupo de coliformes fecais: com restrição de ser apenas os que têm capacidade de fermentar a lactose após 24 horas na faixa de temperatura de 44,5 °C a 45,5 °C, e produção de gás. Apesar de o nome, o grupo inclui também membros de origem não fecal, como várias cepas *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*.
- A *Pseudomonas aeruginosa*: é um patógeno que capaz de formar biofilme que pode interferir em alguns processos das indústrias de alimentos, pois este tem alto poder de deterioração atacando a materiais diversos. A sua presença em águas minerais geralmente está associado com o fato de as embalagens dos

garrações de 20 litros serem retornáveis e como consequência de uma higienização ineficiente, ocorre a proliferação microbiana em água envasadas nestas embalagens, com isso ocorre mudanças nas características sensoriais da água como sabor, odor e cor, e como um patógeno oportunista serve para evidenciar que meio tem condição favorável para a disseminação de diversos patógenos.

➤ As bactérias heterotróficas: representadas com uma ampla variedade de microrganismos o que se torna inviáveis no processo industrial a identificação de todos os tipos presentes, no entanto este grupo serve como parâmetro para se controlar o nível de bactérias mediante as condições de higienização. Além um alto valor do número de colônias destes microrganismos pode acarretar no mascaramento do para outros microrganismos como os coliformes. A legislação não determina um valor máximo permitido para sua quantidade, mas a determinação da quantidade é fundamental, pois sua presença pode comprometer e a qualidade da água (SILVA et al. 2007).

## **2.3 Embalagens**

Embalagens podem ser classificadas em três grupos distintos: as reaproveitáveis, as que favorecem a reciclagem do material para as mesmas utilidades ou diversas; as embalagens reutilizáveis permitem o reaproveitamento para novo uso; e as embalagens descartáveis que, após o consumo do produto, são descartadas como resíduo de consumo.

O PET (Polietileno Tereftalato) é o material mais utilizado nas embalagens de água mineral devido à transparência, leveza, resistência e por ser de material mais fácil para a produção, segundo a ABIPET (Associação Brasileira do PET), constatado em pesquisa com perspectiva de expansão nos anos seguintes. (ABIPET, 2007).

A resolução RDC nº 91 da Agência Nacional da Vigilância Sanitária define embalagem como o artigo que entra em contato direto com os alimentos com o

propósito de contê-los, protegê-los de danos de natureza biológica, mecânicos e químicos, facilitando o armazenamento e transporte desde a fabricação até chegar ao consumidor nas condições normais para o consumo (BRASIL, 2001).

Atualmente as indústrias de alimentos têm investido em muitas pesquisas para otimizar o uso de embalagens dos alimentos para atender as exigências legais e condicionar meios de fortalecer a marca de seus produtos, tendo como princípio, que a embalagem tem funções fundamentais como na comunicação para a aquisição dos produtos fabricados, criar embalagem de fáceis aberturas pelo consumidor, e embalagem que interagem positivamente com o alimentos, de modo que altere as característica do produto condicionando uma características apreciado pelo consumidor, destacada pelo autores GERMANO & GERMANO (2008).

O garrafão para água mineral natural e potável de mesa deve ser fabricado com resina virgem, pois não é permitido o uso de material reciclado para este fim. A resina usada para a fabricação das embalagens deve atender as normas do Ministério da Saúde. Os recipientes para acondicionar água mineral deverão ser fabricados de acordo os requisitos descritos nas Normas Técnicas da Associação Brasileira de Normas Técnicas de outubro de 1998 (ABNT 14222) que estabelece normas para embalagem plástica para água mineral de mesa, envasada em embalagens de 10 L a 20 L. (ABINAM, 2008)

A empresa envasadora de água mineral deve solicitar ao fabricante das embalagens laudos que comprovem o atendimento da NBR 14222. No Anexo 1 laudo técnico da tampa usada no fechamento dos garrafões de 20 litros.

## **2.4 Tampas**

As tampas para garrafões retornáveis devem atender os requisitos mínimos de qualidade especificados na Norma ABNT 14328 de junho de 1999. Dentre os critérios, destacam-se os mais notáveis pelos distribuidores e consumidores:

A Tampa deve permitir vedação eficiente do garrafão, com o propósito de evitar vazamentos e contaminação da água durante o transporte e estocagem;

A tampa deve ter o nome e/ou logo marca do fabricante;

A tampa não deve apresentar defeitos de aparências tais como: rebarbas, saliências, manchas, pontos pretos e pintas, bolhas de ar, furos, amassamento, sujeira.

O veículo de transporte da tampas, embalagens e água mineral devem garantir a integridade da água a fim de impedir a contaminação e deterioração da mesma, desta forma tem de ser inspecionado antes de operação de carga e descarga e só deve ser liberado se satisfazer os requisitos definidos pela autoridade competente. (ABINAM, 2008). Nos anexos 1 e 2 os laudos técnicos das tampas utilizadas nestes pesquisas.

## **2.5 O cloro**

Os agentes sanitizantes mais utilizados nas indústrias produtoras de alimentos têm sido os compostos clorados por ter uma eficiência e baixo custo. Todavia, diversos estudos têm colocado dúvidas quanto a segurança de sua aplicação em indústria de alimentos devido a formação de resíduos tóxicos quando o meso entra em contado com água, além disto os compostos clorados requererem tempo mínimo de contato de 15 minutos, sendo considerado um tempo longo em um processamento de escala industrial. Por esta razão, vem se buscando novos métodos de esterilização que possam superar as vantagens do cloro como a baixa concentração e que tenha como resposta a esterilização em tempo menor além de não apresentar carga residual tóxica (PRESTE, 2007).

## 2.6 O ozônio

O ozônio é uma forma instável do elemento oxigênio ( $O_2$ ), descoberto pelo pesquisador europeu C.F. Schonbein em 1839 (GUZEL - SEYDIM *et al.*, 2003). O ozônio foi inicialmente usado comercialmente em 1907 na unidade de abastecimento e tratamento municipal Nice em 1910 em St. Petersburg. (KOGELSCHATZ, 1988).

O nome ozônio deriva da composição das palavras gregas **Oxus** (ácido) e **gennan** (gerado) (CHAWLA, 2002). Ocorre a formação de ozônio na atmosfera através da luz solar, que ao emitir radiação no espectro do ultra violeta (UV), com comprimento de onda menor que 240 nm, esta passa a possuir energia suficiente para desencadear a um nível de instabilidade ao  $O_2$  (oxigênio) presente na atmosfera que então a assume a forma de  $O_3$  (ozônio). Além destas, há outra via natural de formação do ozônio, através de descarga atmosférica quando ocorre uma tempestade.

O ozônio é um gás constituído por três átomos de oxigênio, sendo que átomos de oxigênio formam base do gás oxigênio presente na atmosfera. O outro terceiro dos átomos por ser muito instável, facilmente se desliga do ozônio e se ligando em outras moléculas de substâncias que ocasionam mudanças por oxidação na composição química de outras substâncias (GUZEL - SEYDIM *et al.*, 2003).

O ozônio é apontado como o sendo oxidante mais poderoso, tecnologicamente disponível, superado apenas por agentes fluorados. O ser humano pode ser exposto a uma concentração máxima de 0,1 ppm (HASSEMER, 2003). Por esta razão o ozônio passou nas últimas décadas um dos principais agentes santizantes usados pela indústria em substituição aos compostos clorados que embora nas décadas anteriores fossem economicamente menos oneroso, as controvérsias concernentes da potencialidade cancerígenas dos compostos clorados

atualmente, surgiu como consequência, o desenvolvimento de geradores de ozônios, favoreceu deste modo a redução gradativa do ônus para o uso desta tecnologia (ORNELA, 2007).

Atualmente pode-se contar com uma redução de aproximadamente 40 % dos custos de capital e operacional do sistema de ozonização, de forma que já se afirma que uma das vantagens deste método em relação aos outros reside no menor custo operacional (ORNELA, 2007).

### *2.6.1 Características do ozônio*

O ozônio é um gás incolor nas condições atmosféricas, sendo relativamente instável com vida média de 165 minutos a temperatura de 20 °C em solução aquosa e relativamente estável no ar com vida média de 12 horas nas condições normais de temperatura e pressão (DI BERNADO,1993). As principais características físico-químicas do ozônio:

- Gás com odor característico, mesmo em baixas concentrações;
- Forma triatômica do oxigênio;
- Massa Molecular de 48 u.a.;
- Ponto de fusão a 1 atm. de -192,5 °C;
- Massa específica do gás nas CNTP de 2,14 g / L;

### *2.6.2 Vantagens do ozônio*

Atualmente é o mais indicado pelos pesquisadores como substituto ao cloro por ser oxidante utilizável (1,5 vezes mais forte do que cloro);

- O ozônio é 3125 vezes mais rápido que o cloro na inativação de bactérias;
- Não produz toxinas em meio aquoso;
- É gerado no local de uso;
- Decompõe-se naturalmente em oxigênio;



- Dispensa o transporte por longas distâncias, o estoque e o manuseio (ORNELA, 2011).

### 2.6.3 Efeito antimicrobiano do ozônio

O ozônio é um potente agente oxidante que pode ser usado para a desinfecção em indústria de alimento. Ao comparar a eficiência do ozônio em baixas concentrações, DEMERS E RENNER, (1992) afirmam que um tempo de contato menor é necessário em relação aos outros agentes oxidantes tais como cloro, monocloramias e dióxido de cloro. O efeito do ozônio tem sido amplamente estudado e documentado para uma gama de microrganismo que inclui as bactérias Gram positivas e Gram negativas tanto nas formas esporuladas quanto na forma vegetativa (FETNER et al., 1956). Tem-se investigado os efeitos antimicrobianos de água ozonizada contra microrganismos relacionados aos alimentos e determinaram que o ozônio é eficiente para esterilizar as bactérias gram positivas como *Listérias monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus fecais* e ainda as bactérias gram negativas tais como *Pseudomonas aeruginosas*, e *Yersinia enterolítica* (RESTAINO et al., 1995).

### 2.6.4 Produção do ozônio

O ozônio é produzido para comercialização através do “processo corona” o qual consiste em aplicar uma descarga elétrica em um fluxo de ar ou oxigênio. Produz-se no local próximo sua utilização (DI BERNARDO,1993). As características de alta instabilidade e alto poder oxidante são positivas e atrativas para sua aplicação em desinfecção/esterilização, pois a instabilidade evita seu acúmulo residual nos no material esterilizado.

O sistema de ozonização depende das características do fluxo de alimentação no ozonizador, o que determina os dois tipos de sistema de ozonização:

um a partir do oxigênio puro e outro a partir do ar. Gerar ozônio a partir do oxigênio ocorre de duas formas, utilizando um tanque de oxigênio líquido que alimenta um evaporador cilindros de oxigênio.

O alto poder de oxidante é desejável porque diminui muito as concentrações e o tempo necessário para a desinfecção. Sendo o tempo de contato e as concentrações reduzidas haverá economia na construção e operação das instalações (LIMA; AISSE, 2003, p.5)

As vantagens de produzir ozônio a partir do oxigênio são basicamente o menor custo de manutenção, pois o equipamento para isso é de muita simplicidade e ter auto rendimento em massa na transformação de  $O_2$  em  $O_3$

A principal desvantagem do uso de oxigênio para a geração de ozônio consiste no custo do oxigênio. No entanto, quando se compara o custo global da instalação, isto é, a soma dos custos com equipamentos, custo do capital, custo de energia e custo com oxigênio, à geração a partir do oxigênio geralmente resulta em menor valor no custo total, entretanto, a escolha entre um sistema e outro depende das condições locais, sendo necessário um estudo econômico específico (BASSANI, 2003, p.31)

#### *2.6.5 A toxicidade do ozônio*

O ozônio apresenta toxicidade extremamente alta quando ocorre sua aspiração direta. A ingestão indireta, por exemplo através de água ozonizada não representa perigo a saúde humana, uma vez que o tempo de meia vida do ozônio dissolvido na água é relativamente curto. Quando o ser humano é exposto ao ozônio durante cerca de 2 horas a uma dosagem de ozônio de 2 mg/L no ar, ocorre irritação na garganta e secura na boca, dores no peitoral, habilidade mental debilitada, dificuldade de coordenação (DI BERNARDO, 1993).

Há relatos na literatura quanto à toxicidade do ozônio principalmente no sistema respiratório evidenciando a necessidade de enfatizar os efeitos do ozônio sobre indivíduos que lidam rotineiramente em ambientes de grande produção de ozônio e destacam também o fato de ainda não haver um completo estudo quanto a um tratamento específico para o caso de intoxicação por ozônio. Apenas existe tratamento para minorar os sintomas da intoxicação através do repouso, oxigênio, analgésico, antibióticos e anti-tosse. Atualmente vem se adotando medidas preventivas de intoxicação profissional evitando a exposição das pessoas que tem baixa imunidade e sistema respiratório fragilizado. Neste sentido há uma tendência internacional de fixar o TLV (Threshold Limit Value) de 0,1 ppm de ozônio para o ser humano ser exposto um período de quarenta horas semanal e o valor de tempo máximo de 10 minutos para cada exposição no valor de 0,3 ppm (CHERNICHARO, et al. 2001).

### 3 METOLOGIA

#### 3.1 MATERIAIS UTILIZADOS

##### a) Materiais e Equipamentos Utilizados

- 10 Pipetas de 10 mL;
- 10 tubos de ensaios;
- 10 Swabs;
- Tampas para garrafão de 20 litros (não ozonizadas);
- Tampas para garrafão de 20 litros (ozonizadas);
- 01 Erlenmeyer de 300 mL;
- 01 Béquer de 1000 mL;
- 01 Balão Volumétrico de 500 mL;
- 40 placas de Pétri de 10 cm de diâmetro;
- 20 Placas de 5 cm de diâmetro;
- 01 piceta de 500 mL contendo água destilada;
- 01 piceta de 500 mL contendo álcool;
- 01 Destilador de água, marca Quimis, modelo Q 341-22;
- 01 Banho Maria, marca Quimis, modelo Q 334-28;
- 01 Contador de Colônia, marca Phoenix, modelo CP 602;
- 01 Gerador de ozônio, modelo Oz CD;
- 01 Autoclave, marca ALPHA, 121 °C por 15 minutos;
- 02 Estufas de Cultura, marca Quimis, modelo 317B222;
- 01 Estufa de Cultura marca Fanem, modelo 002 CB;
- 01 Bico de Bunsen;
- Papel alumínio;
- 01 computador com o Sistema operacional Windows 2007

##### b) Reagentes

- Peptona marca Himedia modelo RM001-500 0,1%;
- Álcool etílico 70º INPM, marca itaujá;
- Ágar m FC, marca Difco, 5,2g/100mL ;

- Plate Count AGAR (Thyptone Glucose Yerst Agar), CM0325 1,75g/100 mL;
- B D Pseudomonas Agar P;
- Glicerina Cetrimide Agar, 4,53g/ 100 mL;

### **3.2 Coletas de Amostras**

Foram coletas 5 amostras do tipo representativa com 5 tampas não ozonizadas e 5 ozonizadas usadas no fechamento dos garrafões por uma empresa no Estado do Maranhão, foram coletadas individualmente de cada saco como mostrado na Figura 1 que continha 3000 tampas em cada um, para garrafão de 20 L (vinte litros) de água mineral, até neste ponto o saco fechado, mantido as condições de fábrica e transporte.

Cinco tampas antes de iniciar o processo de ozonização de cada saco amostral, um saco amostral para cada dia da semana em operação da indústria, no total de semanas, foram coletadas em um béquer de capacidade de 1000 mL, fechado com papel alumínio e previamente esterilizado em autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Escolheu-se os pontos de coletas das tampas nos sacos as partes das duas extremidades e a intermediária, retirando duas tampas de cada extremidade e uma da parte intermediária. Neste procedimento foram usadas luvas estéreis, e as tampas coletadas inseridas em um béquer estéril. Após os respectivos sacos serem ozonizados por um período, usado como rotina pela indústria em estudo de 15 minutos, repetiu-se os procedimentos acima referido para as coletas de tampas ozonizadas as quais foram inseridas em um béquer de 1000 mL. Ambos os béqueres foram transferidos para o laboratório de controle de qualidade da empresa produtora, para serem feitas os preparos das análises microbiológicas.

As amostras de tampas, antes e após a ozonização, as análise foram realizadas através das técnicas de “Swab Test”, em que para cada tampa foi usada zaragatoa (uma haste do de plástico com algodão nas extremidades), previamente umedecido um tubo de ensaio contendo 10 mL de água peptonada a 0,1%

identificados cinco com “A” para realizar o swab nas tampas do saco antes de ozonizar e cinco tubos identificado com “D” para realizar o swab nas tampas coletadas depois do processo de ozonização. A zaragatoa foi usado para friccionar nas partes interna e externa das tampas e em seguida com uma tesoura estéril, cortou-se a extremidade do swab em que foi friccionada, e a parte do swab cortado inseriu-se no mesmo tubo no qual foi umedecido.



**Figura 1:** Coleta das tampas de garrafões de 20 litros.

### **3.3 Preparo dos Meios**

Os meios de culturas foram preparados segundo as orientações da American Public Health Association (APHA) e especificações dos fabricantes, para os microrganismos heterotróficos, *Pseudomonas aureginosas* e Coliformes fecais.

### 3.4 Parâmetros Avaliados

Foram avaliados os seguintes parâmetros: Coliformes fecais, *Pseudomonas* e Bactérias heterotróficas como microrganismos indicadores respectivamente de contaminação recente, patógenos e potabilidade da água seguindo as sugestões.

#### a) Para contagem de microrganismos heterotróficos

Para a contagem de bactérias heterotróficas utilizou-se a técnica de cultivo em profundidade (Pour Plate Method), utilizando o meio Plate Count AGAR, de acordo com as orientações da American Public Health Association (APHA). Inicialmente, fez-se a sanitização da bancada, com o uso de álcool etílico, os tubos contendo os swabs fechados com papel alumínio, de acordo com a Figura 2, foram agitados manualmente, para facilitar a homogeneização do diluente e swab, posteriormente 1,0 mL do tubo em duplicata foram coletadas através de uma pipeta de 10,0 mL, para tanto, como mostrado na Figura 3 foram individualmente transferida para as placas de pétri vazias, em seguida, inseriu o meio de cultura Ágar Padrão fundido nas respectivas placas em banho-maria



**FIGURA 2:** Béquer de 1000 mL estéril contendo amostra de tampas



**FIGURA 3:** Tubos contendo água peptonada a 0,1%

Imediatamente após dispensar o meio nas placas contendo os inóculos, realizou-se uma seção de 10 círculos com as placas sobre a superfície da bancada no sentido horário e outra no sentido anti-horário. Após alguns minutos, solidificado o meio, as placas transferidas na posição invertida para a incubadora estufa de cultura marca Quimis, modelo 317B222 calibrada em  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Após o período de incubação foram realizadas as contagens das colônias de microrganismos.

#### **b) Contagem de *Coliformes fecais* e *Pseudomonas aeruginosa***

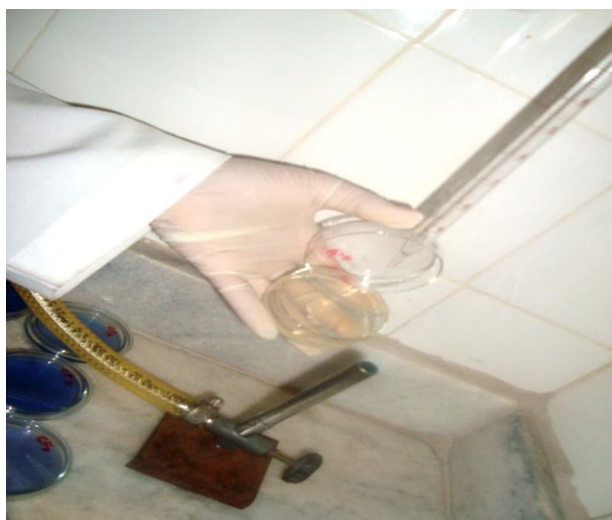
Feitos os preparos das amostras com o uso dos swabs nas amostras ozonizadas e não ozonizadas, tubos de ensaios contendo 10 mL de diluente e swabs retirou-se 1,0 mL com auxílio de uma pipeta de acordo com a Figura 5 e inoculou-se os respectivos meios de culturas prontos preparados nas placas de pétri: 10 placas para Coliformes Fecais preparados com os meios Ágar m - FC marca Difco, na concentração de 5,2 g / 100 mL de acordo com as orientações do fabricante e outras 10 placas com os meios para *Pseudomonas aeruginosas*. Com o



auxílio de uma espátula de pesagem flambada antes do uso em um bico de Bunsen, usou-se a parte côncava desta para espalhar o inóculo sobre cada placa de Pétri e esperou-se esfriar próximo ao bico de Bunsen e transferiu-se as placas para estufas de cultura marca Quimis, modelo 317B222 graduada em  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  e incubou-se por 48 horas e depois deste período as colônias obtidas foram contadas com auxílio de contador de colônia. Estes procedimentos foram realizados em duplicatas para cada tampa e realizados durante cinco semanas, em dias diferentes com o tempo de 15 minutos de ozonização através de um gerador de ozônio modelo Oz CD, de acordo com a Figura 4, em todas as amostras antes de iniciar o processo industrial de fechamento dos garrafões. Os valores das contagens obtidas com auxílio de Contador de Colônias foram anotados e analisados onde foram calculadas as médias das contagens individualmente para cada microrganismos nas cinco amostras antes de ozonizar e após ozonizá-las levando-se em consideração o fator de diluição utilizado para efetivar o Swabs nas tampas de  $10^{-1}$ .



**Figura 4:** Gerador de ozônio, modelo Oz CD



**Figura 5:** Inoculação dos meios de cultura

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microrganismos nesta pesquisa analisados estão contemplados na resolução RDC nº 275 da ANVISA, que trata das características microbiológicas para água mineral e água natural, os microrganismos indicadores da qualidade da água mineral são: coliformes totais, coliformes fecais e/ou *Escherichia coli*, Clostrídios sulfito redutores ou *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* e *Pseudomonas aeruginosa* (BRASIL, 2005).

Pode-se observar na Tabela 1 que o sistema ozonização mostrou-se eficiente na eliminação dos microrganismos do grupo Coliformes fecais, uma vez que se constatou a presença destes microrganismos antes e sua eliminação após aplicação do ozônio.

**TABELA 1:** Contagem de Coliformes Fecais em tampas para garrafão de 20 litros de água mineral.

<b>COLETA</b>	<b>NÃO OZONIZADA (UFC/mL x 10<sup>1</sup>)</b>	<b>OZONIZADA (UFC/mL x 10<sup>1</sup>)</b>
<b>AMOSTRA 1</b>	<0,1	N.D.
<b>AMOSTRA 2</b>	1,7	N.D.
<b>AMOSTRA 3</b>	<0,1	N.D.
<b>AMOSTRA 4</b>	1,3	N.D.
<b>AMOSTRA 5</b>	N.D.	N.D.

\*N.D. : Não detectado na análise.

Considerando a contagem de *Pseudomonas aeruginosa* antes e depois da ozonização na presente pesquisas as cinco amostras atenderam o padrão estabelecido pela RDC 275 com ausência da mesma, conforme apresentado na Tabela 2.

Segundo Ferrache Filho (2008) há preocupação deste patógenos em água mineral devido a alta capacidade de multiplicação em baixas quantidades e também a resistência aos antibióticos, sendo um microrganismos oportunista capaz de causar infecções em pessoas imunocomprometidos.

**TABELA 2:** Contagem de *Pseudomonas auriginosas* em UFC/mL nas tampas de garrafão de 20 litros de água mineral

COLETA	NÃO OZONIZADA (UFC/mL x 10 <sup>1</sup> )	OZONIZADA (UFC/mL x 10 <sup>1</sup> )
AMOSTRA 1	N.D.	N.D.
AMOSTRA 2	N.D.	N.D.
AMOSTRA 3	N.D.	N.D.
AMOSTRA 4	N.D.	N.D.
AMOSTRA 5	N.D.	N.D.

\*N.D.: Não detectado na análise.

**TABELA 3:** Contagem de bactérias heterotróficas em UFC/mL nas tampas de garrafão de 20 litros de água mineral

COLETA	NÃO OZONIZADA UFC/mL x 10 <sup>1</sup>	OZONIZADA UFC/mL x 10 <sup>1</sup>
AMOSTRA 1	49,7	14,6
AMOSTRA 2	51,0	12,1
AMOSTRA 3	34,1	16,2
AMOSTRA 4	57,5	16,9
AMOSTRA 5	50,1	15,9

A contagem de bactérias heterotróficas antes da ozonização para três amostras não atenderam aos padrões estabelecidos pela Portaria 518 de 25 de

março 2004 do Ministério da Saúde que determina o um limite de 500 UFC/ mL e após a ozonização a contagem de bactérias heterotróficas reduziu significativamente de modo que a contagem deste grupo atendeu satisfatoriamente o valor estabelecido em legislação. Segundo Ferrache Filho & Dias (2008), mesmo que a maioria das bactérias heterotróficas não seja considerada patogênica na flora natural da água é importante que sua densidade seja mantida sobre controle, pois uma contagem elevada destas bactérias na água representa risco à saúde do consumidor e alterações nos padrões de qualidade da água, cor, sabor e odor.

## **5 CONCLUSÃO**

Ao avaliar os resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que a utilização do ozônio como método de esterilização nas tampas dos garrafões de 20 litros da unidade envasadora de água mineral mostrou-se um método eficiente para a eliminação ou redução em níveis aceitáveis da carga microbiana existente antes da ozonização.

## 6 REFERÊNCIAS

(ABINAM, 2008) ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÁGUAS MINERAIS. Manual Sobre Armazenagem e Transporte de Águas Minerais Naturais e Potáveis de Mesa. **ABINAM/ SINDINAM**, São Paulo. 2008.

(ABINAM, 2011) ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÁGUAS MINERAIS. **Versatilidade impulsiona o uso do PET no mercado de águas**. Disponível em: <http://www.abinam.com.br>. Acessado em: 20 nov. 2011.

ABIPET – **Censo da Reciclagem do PET 2006**, disponível em <<http://www.abipet.com.br/reciclagem.php>> acesso em 20 de nov.2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. (APHA) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20<sup>th</sup> ed. Whashington, DC 1998. p.16-112.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 173. **Diário Oficial da União**, 13 de setembro de 2006

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 de set. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54/2000. **Diário Oficial da União**, 15 de junho de 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução PORTARIA nº 518/GM. **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 de mar. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 56/Dsb – 14 de março de 1977. **Diário Oficial da União**, 15 junho de 1977. Seção I – parte I.

BRASIL. Resolução RDC nº 9, de 11 de maio de 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 de mai. de 2001.

CHAWLA, A. S. **Application of Ozonated Water Technology for Improving Quality Safety of Peeled Shrimp Meat**. Gujarat Agricultural University. India, 2002. Disponível em [etd.lsu.edu/docs/available/etd-07052006181044/unrestricted/Chawla\\_thesis.pdf](http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-07052006181044/unrestricted/Chawla_thesis.pdf). Acessado em 23 de outubro de 2011.

CHIATTONE, P. V.; TORRES, S. M.; ZAMBIAZI, R. C. Aplicação do ozônio na indústria de Alimentos. **Alimento e Nutrição**. Araquara. v.19, nº 3 p 341-349, jun/set 2008. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/639/537>

DEMERS L. D., RENNER R. C. Alternative disinfection technologies for small drinking water systems. **AWWARF and AWWA**, Denver, CO. 1992. Disponível em <http://zenbackpacking.net/EPA/Chlorine.pdf>. Acessado em 15 de novembro de 2011.

DI BERNARDO, L. **Métodos e Técnicas de tratamento de água**. Rio de Janeiro. ABES, 1993. v.3

FARACHE FILHO, A. & DIAS, M. F. F. Qualidade Microbiológica de Águas Minerais em Galões de 20 Litros. **Alimento e Nutrição**, Araraquara v.19, n.3, p. 243-248, jul./set. 2008.

FETNER, R. H., AND INGOLS, R. S., A Comparison of the Bactericidal Activity of Ozone and Chlorine Against. E. Coli et 1°. **Journal of General Microbiology**, Vol. 15, pp. 381–387. 1956.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 986p, 2008.

GIACOMETTI, L.; MUTTON, M. J. R.; AMARAL, L. A. Qualidade microbiológica de águas minerais no município de Jaboticabal, SP. **Hig. Alim.**; v.19, p.58-62, 2005.



GUZEL-SEYDIM Z. B., GREENE, A. K., & BODINE, SEYDIM, A. C.. Use of ozone in the food industry. **Swiss Soc of Food Sci and Tech.** 37: 453 – 4 60. 2003.

HASSEMER, M. E. **Tratamento de efluente textil: processo físico-químico com ozônio e floculação em meio granular.** Florianópolis, 2000. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, p. 33 2000.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** 6 ed. Porto Alegre: Artmed. 711p, 2005.

KOGELSCHATZ, U. **Advanced ozone generation.** In S. Stucki (Ed.), Process technologies for water treatment (pp. 87–120). New York: Plenum Publishers. 1988.

MARTOR, A. C. G.;TAVEIRA, L. B.; PINTO, M. A. O.; FURTADO, M. A. M; ÂNGELO, F. F. **Qualidade Microbiológica de Águas Minerais do Município de Juíz de Fora Região.** Universidade Federal de Juíz de Fora. MG, 2008. Disponível em: <http://www.ufjf.br/laaa/files/2010/06/02.pdf>. Acesso 29 de outubro de 2011.

ORNELA, A. **Estudo Da Aplicação De Ozônio Para Pré-Tratamento De Água Para Abastecimento.** TCC – Engenharia Ambiental – CCET/PUCPR. Disponível em: [http://www.ozonio.com.br/adenilson\\_ornelas.pdf](http://www.ozonio.com.br/adenilson_ornelas.pdf). Acessado em 20 de outubro de 2011.

PITALUGA, C. M. **Análise dos Fatores que Influencia o Consumo de Água Mineral.** Campo Grande. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/ MS. 2006. Disponível em <http://repositorio.cbc.ufms.br:8080/jspui/bitstream/123456789/863/1/Christiane%20Marques%20Pitaluga.pdf>. Acessado em 25 de outubro de 2011.

PRESTE, E. B. **Avaliação da eficiência do ozônio como sanitizante em hortaliças folhosas minimamente processadas.** Tese de doutorado UNIVERSIDADE DE CAMPINAS, defendida em 27 de fevereiro de 2007.

RESENDES, A. Perfil Microbiológico da Água Mineral Comercializada no Distrito Federal. **Revista Saúde e Biologia.**, v.3, n.2, p.16-22, 2008.

RESTAINO, L.; FRAMPTON, E. W.; HEMPHILL, J. B.; PALNIKAR, P. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environment Microbiology**. 1995.

RITTER, A. C. Avaliação Microbiológica de água mineral natural e de tampas plásticas utilizadas em uma indústria da Grande Porto Alegre/RS. **Alimento e Nutrição**. v.20, n.2,p. 203-208, abr/jun. 2009

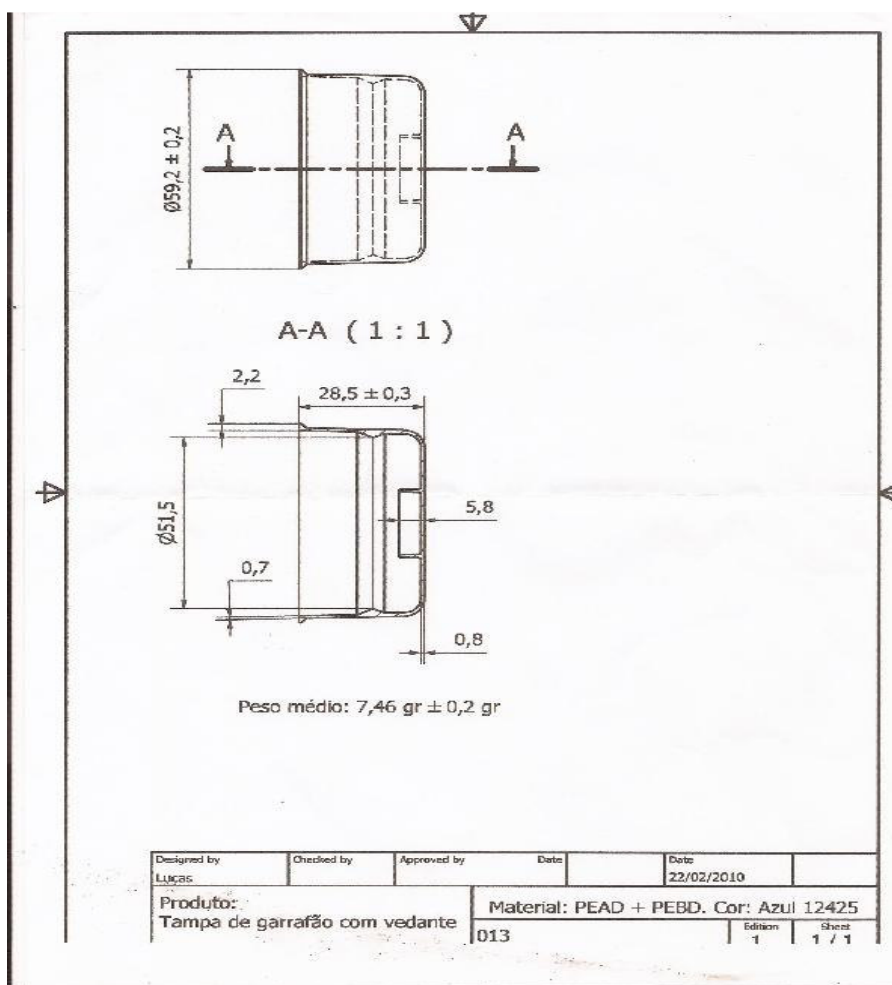
SILVA, Júnior, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em serviços de alimentação**. São Paulo: Livraria Varela, 1995.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

# ANEXOS

## ANEXO 1:

### Dimensões da Tampa



## ANEXO 2

### Especificações Da Tampa



## Especificações técnicas de produto

**Produto:** Tampa para garrafão água mineral.

**Modelo:** TG-01.

**Descrição:** Tampa para garrafões de água mineral de 10 e 20 litros, produzidas conforme norma ABNT 14328, que estabelece os requisitos mínimos de qualidade para a tampa plástica do garrafão destinado ao acondicionamento de água mineral e de mesa. Apesar de o garrafão ser usado em sistema retornável, a sua tampa plástica é um elemento descartável (de único uso).

**Matéria-Prima:** Mistura de Polietilenos de alta densidade e baixa densidade, PB-608 mais HA-7260, Vedante em EVA 3019 PE, Masterbatch Cromaster AZ 12425. Todos aprovados para contato com alimento conforme laudos em anexo.

Produtos acondicionados em sacos plásticos, embalados e contados automaticamente, sem contato manual.

Lucas Bonimasso  
Desenvolvimento

American Plast Comércio e Indústria Ltda.  
Rua Da Seda Natural, 439 - Distrito Industrial Abdo Najjar - Americana, SP  
Fone (19) 3469-2969 - Fax (19) 3469-3377