

## **Estágio numa empresa de engarrafamento de água mineral natural**

Relatório de estágio apresentado para a obtenção do grau de Mestre em  
Processos Químicos e Biológicos

**Autor**

**Carlos Daniel Simões Gonçalo**

**Orientadores**

**Doutor Luís Miguel Moura Neves de Castro**

Professor Adjunto, ISEC

**Doutora Ana Cristina Araújo Veloso**

Professora Adjunta, ISEC

**Dr. Pedro Silva Paulo**

Director da Qualidade e Segurança Alimentar, *Água das Caldas de Penacova, S.A.*

Instituto Superior de Engenharia de Coimbra

**Coimbra, Dezembro, 2013**



## Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos os que contribuíram de forma decisiva para a concretização deste relatório de estágio e me acompanharam no decurso deste trabalho, com especial atenção:

À empresa *Água das Caldas de Penacova, S.A.* e ao Instituto Superior de Engenharia de Coimbra gostaria de agradecer por me terem dado a oportunidade de poder mostrar o meu valor e ao mesmo tempo enriquecer a minha experiência académica, profissional e pessoal.

Ao Professor Doutor Luís Miguel Moura Neves de Castro e à Professora Doutora Ana Cristina Araújo Veloso agradeço pela orientação científica do presente relatório de estágio, pela dedicação, tolerância, sugestões, críticas e motivações constantes.

Ao Dr. Pedro Silva Paulo um enorme agradecimento pela orientação na empresa *Água das Caldas de Penacova, S.A.*, pela paciência, sugestões, críticas, incentivo e acima de tudo pela amizade. Agradeço toda a simpatia e boa disposição de todos os colaboradores da empresa *Água das Caldas de Penacova, S.A.* por me terem acolhido, ajudado na minha integração e terem sido sempre muito prestáveis. Um agradecimento especial às técnicas de laboratório, Catarina Santos e Sónia Almeida, e à responsável do laboratório, Fátima Pimentel, por toda a amizade e ensinamentos que me prestaram ao longo de todo o estágio. Ao Sr. Urbano Marques por ter possibilitado este estágio e pelas palavras de incentivo para o meu futuro no meu último dia de estágio.

Aos meus colegas e amigos gostaria de agradecer pela amizade, camaradagem e por todo o apoio dado ao longo do meu percurso académico, sem eles seria impossível de viver uma das melhores fases da minha vida de forma tão intensa.

Por último, tendo consciência de que sem eles não teria sido de todo possível, dirijo um agradecimento impossível de quantificar aos meus pais, Amílcar Gonçalo e Isabel Lapo, ao meu irmão, Sérgio Gonçalo, à sua namorada e acima de tudo minha amiga, Susana Leonardo, por todo o apoio, amizade e paciência demonstrados e à Daniela por todo o companheirismo, ajuda, conselhos, suporte emocional, carinho e paciência nos momentos mais complicados.



### Estágio numa empresa de engarrafamento de água mineral natural

No segundo ano do Mestrado em Processos Químicos e Biológicos no Instituto Superior de Engenharia de Coimbra, existe a possibilidade de os alunos realizarem um estágio curricular. Desta forma, aproveitando esta oportunidade de realizar um estágio curricular em contexto industrial, contactou-se, por iniciativa própria, a empresa *Água das Caldas de Penacova, S.A.* que se disponibilizou para acolher o estágio nas suas instalações.

Os principais objectivos do estágio consistiram em, acompanhar actividades de controlo de qualidade do processo de fabrico, engarrafamento e do produto acabado, colaborar na implementação de um novo método analítico microbiológico, sistematizar os resultados obtidos no controlo da concentração dos desinfectantes usados no Sistema CIP, colaborar no desenvolvimento de novos métodos de análise de materiais de embalagem e, finalmente, colaborar na melhoria do programa de Gestão de Perdas, na estratégia de comunicação de resultados e na melhoria do programa de Gestão de Stocks em Armazém da empresa.

No início do estágio existiu a necessidade de me contextualizar com as normas e legislação aplicáveis à indústria alimentar, possibilitando desta forma uma maior compreensão dos vários processos da empresa.

Ao acompanhar o trabalho diariamente no Departamento da Qualidade e Segurança Alimentar, nomeadamente, as análises microbiológicas efectuadas à água como matéria-prima e como produto acabado verifica-se que a qualidade da água nunca é colocada em causa, uma vez que a concentração de microrganismos na água, desde o ponto de captação até ao engarrafamento, passando pelo armazenamento em depósitos, é muito inferior aos valores estipulados por lei, constantes do Decreto-Lei nº 156/98 de 6 de Junho.

Como principal conclusão desta actividade, pode referir-se que se verificou que nos pontos de amostragem relativos à captação e aos depósitos existe uma maior concentração de microrganismos, pois nestes pontos ocorre um maior contacto da água com factores externos. Concluiu-se também que é nestes pontos que existe uma maior oscilação de valores obtidos nas análises microbiológicas, como foi possível observar através da análise de tendência. Recorrendo à Análise de Componentes Principais com rotação Varimax e normalização de Kaiser, foi possível relacionar as diferentes variáveis que podem afectar a qualidade da água correlacionam-se essencialmente com factores externos, como é o caso da temperatura ambiente, que leva ao aumento dos microrganismos nos pontos de captação e nos depósitos onde existe maior estagnação da água. Conclui-se também que o aumento da produção juntamente com um aumento da temperatura ambiente leva a um aumento do número de

microrganismos nos filtros antes do enchimento como se observou através da correlação existente com as componentes principais.

Finalmente, na actividade de melhoria do programa de Gestão de Perdas, através de um sistema desenvolvido para contabilizar as perdas e quebras foi possível concluir que é no início de produção que as mesmas ocorrem em maior número, mas, no entanto, esse número nunca têm um valor económico directo superior a 0,20 € por 1000 embalagens, independentemente da linha de produção.

Paralelamente ao trabalho desenvolvido no estágio curricular desenvolveu-se também uma breve abordagem ao estudo da avaliação da potencialidade de reciclagem de águas cinzentas numa instalação sanitária doméstica, estudando-se a eficiência de desinfecção de águas cinzentas através da radiação ultravioleta.

A reutilização de águas cinzentas promove uma redução significativa no consumo de água potável e na produção de águas com destino o sistema de esgoto, uma vez que a água é utilizada uma segunda vez para uso não potável antes de ser descarregada no sistema de esgoto. No entanto, a sua qualidade deve garantir a segurança do utilizador, sendo assim necessário um sistema de tratamento.

O reactor desenvolvido à escala piloto com uma lâmpada de radiação ultravioleta (UV) de baixa pressão emitindo essencialmente radiação a um comprimento de onda de 253,7 nm consegue ter uma eficiência integral de desinfecção para todas as águas cinzentas estudadas necessitando de um tempo de exposição máximo à radiação UV de aproximadamente 30 segundos.

Dos estudos realizados, uma das características da água a tratar que maior influência tem no tempo de exposição à radiação UV para que se obtenha uma eficiência integral de desinfecção é a turvação. Efectivamente num estudo em que se expuseram amostras de águas com uma contaminação microbiológica inicial idêntica, diferenciando-se apenas no seu nível de turvação, à radiação UV, verificou-se que as águas que apresentavam um maior nível de turvação requereram um maior tempo de exposição à radiação UV para que ocorresse uma eficiência integral de desinfecção.

**Palavras-chave:** Água das Caldas de Penacova, água mineral natural, Sistema de Gestão da Qualidade e da Segurança Alimentar, engarrafamento de água, análise microbiológica, perdas e quebras, águas cinzentas, contaminação microbiológica, desinfecção, radiação ultravioleta, tempo de exposição e turvação.

## Abstract

### Intership in a bottling natural mineral water company

In the second year of the Master in Chemical and Biological Processes at the Superior Institute of Engineering of Coimbra, exists the possibility that students undertake a curricular internship. In this way, taking this opportunity to undertake a curricular internship in an industrial context, is contacted on its own initiative, the company *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* which made them available for the internship was done in their facilities.

The main objectives of the internship consisted of, monitor activities of quality control of the manufacturing process, bottling and finished product, collaborate on the implementation of a new microbiological analytical method to systematize the results obtained in the monitoring of the concentration of disinfectants used in the CIP system, collaborate in the development of new analytical methods of packaging materials and ultimately improve collaborate in the management losses program in communication strategy and results in improved in Warehouse Inventory Management program.

At the beginning of internship there was need for a contextualization of standards and legislation applicable for the food industry, thus enabling a greater understanding of the various business processes.

By monitoring the daily work in the Department of Quality and Food Safety, in particular, the microbiological analyses performed to water as a raw material and finished product as it appears that the water quality is not jeopardized, since the concentration of microorganisms in the water from the collection point to the bottling, through the storage tanks, is much lower than the amounts stipulated by law, contained in DL nº 156/98.

As main conclusion of this activity it was verified that the sampling points where there is a higher concentration of microorganisms is in sections relating to captation and deposits, it is at these points that there is a greater water contact with external factors. It was also concluded that at these points there is a greater oscillation of values obtained in the microbiological analysis, as observed by the trend. Through the Varimax method with Kaiser Normalization was possible to see that the different variables that can affect water quality correlate primarily with external factors such as ambient temperature, which leads to the increase of microorganisms in captation points and storage tanks where there is more water stagnation. It was also concluded that the increased production coupled with an increase in temperature leads to an increase in the number of microorganisms in filters before filling as observed through the existing correlation with the main components.

Finally, the activity of improving the management losses program through a system developed to account for losses and breakage was possible to conclude that in production's beginning they occur in greater numbers, but however, this number will never have a direct economic value exceeding € 0.20 per 1000 packs, regardless of the production line.

Alongside the work on curricular internship also developed a brief review of the study of the potentiality of recycling gray water in a domestic facility, studying the efficiency of disinfection of gray water by ultraviolet radiation.

The reuse of gray water promotes a significant reduction in the consumption of fresh water and in the production of water bound for sewer system, since the water is used a second time for non-potable uses before being discharged into the sewer system. However, their quality should ensure user safety, so it is necessary a treatment system.

The pilot scale reactor developed with an ultraviolet radiation lamp (UV) emitting low-pressure radiation essentially at a wavelength of 253.7 nm can get an integral efficiency of disinfection for all studied greywater requiring a maximum time of exposure to UV radiation of about 30 seconds.

From the studies conducted, one of the characteristics of the water to be treated that has greater influence at the time of exposure to UV radiation to obtain an integral efficiency of disinfection is the turbidity. In fact a study in that water samples were exposed to a similar initial microbial contamination, differing only in their level of turbidity, UV radiation, it was found that the water which shows greater level of turbidity require a longer exposure to UV radiation so that can occur an integral efficiency of disinfection.

**Keywords:** Water Caldas Penacova, natural mineral water, Quality and Food Safety Management System, bottling water, microbiological analysis, losses and breakages, greywater, microbiological contamination, disinfection, ultraviolet radiation, exposure time and turbidity.



## ÍNDICE

Motivação .....	xix
Estrutura do relatório de estágio .....	xx
Abreviaturas.....	xxi
1. INTRODUÇÃO .....	2
1.1. Apresentação da empresa .....	3
1.2. Caracterização de águas naturais .....	5
1.2.1. Água das Caldas de Penacova .....	7
1.3. Enquadramento legal da exploração e comercialização de águas .....	7
1.4. Sistema de Gestão da Qualidade e da Segurança Alimentar.....	9
1.5. Descrição do processo produtivo da empresa <i>Águas das Caldas de Penacova, S.A.</i> e respectivo plano HACCP associado.....	12
1.6. Linhas de produção da empresa <i>Águas das Caldas de Penacov, S.A.</i> .....	20
1.7. Processo de engarrafamento da água .....	21
2. TRABALHO REALIZADO AO LONGO DO ESTÁGIO .....	26
2.1. Controlo microbiológico efectuado aos pontos de amostragem .....	26
2.1.1. Análise da tendência .....	33
2.1.2. Análise multivariável.....	37
2.2. Controlo das perdas e quebras .....	42
3. CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES.....	50
3.1. Conclusões gerais .....	50
3.2. Sugestões para trabalhos futuros .....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
ANEXOS.....	58
A. Avaliação da potencialidade de reciclagem de águas cinzentas numa instalação sanitária doméstica.....	58
A.1. INTRODUÇÃO.....	58
A.1.1. Caracterização de águas cinzentas.....	59
A.1.2. Tratamento de águas cinzentas .....	66
A.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	70

---

A.2.1. Amostras de águas cinzentas e outras águas estudadas .....	70
A.2.2. Construção do sistema de desinfecção por UV utilizado.....	71
A.2.3. Metodologia utilizada para contagem de microrganismos.....	71
A.2.4. Estudo da eficiência de desinfecção por radiação UV.....	72
A.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS .....	73
A.4. CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES.....	81
A.4.1. Conclusões gerais .....	81
A.4.2. Sugestões para trabalhos futuros .....	82
B. Requisitos básicos e cláusulas normativas da NP EN ISO 22000:2005 e do referencial IFS – <i>International Featured Standards</i> .....	83
C. Técnica de recolha de amostras nos pontos de amostragem ao longo do processo produtivo da empresa .....	85
D. Procedimentos experimentais utilizados no controlo microbiológico .....	86
D.1. Determinação de microrganismos a 37 °C e a 22 °C .....	86
D.2. Determinação de <i>Clostrídios</i> Sulfito-Redutores .....	87
D.3. Determinação de Coliformes Totais e Coliformes Fecais .....	88
D.4. Determinação de <i>Enterococos</i> .....	90
D.5. Determinação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	92
E. Compilação de todos os resultados das análises microbiológicas .....	94
F. Análise multivariável .....	119

Figura 1.1 - Localização da empresa <i>Águas das Caldas de Penacova, S.A.</i> .....	3
Figura 1.2 - Estrutura organizacional da empresa <i>Água das Caldas de Penacova, S.A.</i> (Paulo, 2011). ....	5
Figura 1.3 - Programas de garantia da qualidade - Processos a serem considerados (adaptado Lightfoot e Maier, 2003). ....	10
Figura 1.4 - Esquema das etapas do processo produtivo da empresa <i>Águas das Caldas de Penacova, S.A.</i> .....	13
Figura 1.5 - Esquema representativo da disposição das linhas de produção na unidade fabril. ....	20
Figura 1.6 - Pontos de amostragem ao longo do processo produtivo para análises microbiológicas no laboratório interno da empresa (CP – captação; BE – bico da enchedora; IP – início de produção; DA – depois de almoço; AJ – antes de jantar; DJ – depois de jantar; DPN – depois da pausa nocturna; FP – final de produção).....	22
Figura 2.1 - Média mensal e respectivo desvio padrão dos pontos de amostragem para os meses de Janeiro, Fevereiro e Março. ....	29
Figura 2.2 - Média mensal e respectivo desvio padrão dos pontos de amostragem para os meses de Abril, Maio e Junho. ....	31
Figura 2.3 - Esquema do sistema utilizado para controlo das perdas e quebras.....	43
Figura 2.4 - Esquema do sistema que permite contabilizar a produção total, os tempos de produção, os tempos de paragem e a produtividade por turno assim como a produtividade média diária. ....	44
Figura 2.5 - Esquema do sistema que permite calcular os custos económicos das perdas e quebras para o primeiro semestre. ....	45
Figura 2.6 - Esquema do sistema que permite calcular os custos económicos das perdas e quebras para o segundo semestre.....	46
Figura A.1 - Localização no espectro electromagnético da gama do Ultravioleta (UV) (adaptado de Rouessac e Rouessac, 2007). ....	67
Figura A.2 - Efeito da radiação UV no material genético (DNA) da célula (adaptado de Goodsell, 2001).....	68
Figura A.3 - Esquema do sistema de desinfeção por UV utilizado. ....	71
Figura A.4 - Esquema dos diferentes intervalos de tempo em que foram retiradas as amostras do reactor para crescimento de microrganismos em meio YEA com o objectivo de fazer a contagem de UFC. ....	73

Figura A.5 - Microrganismos presentes nas diferentes águas cinzentas a tratar antes do tratamento de desinfecção por radiação UV.....	74
Figura A.6 - Representação gráfica das UFC/mL versus o tempo de exposição à radiação UV. ....	75
Figura A.7 - Crescimento microbiológico ao fim de 20 segundos de exposição à radiação UV de diferentes águas cinzentas a tratar: (a) água límpida (Casa de Banho (Privada)), (b) água com alguma turvação (Água rega (poço)) e (c) água com elevada turvação (Lavagem mãos (após trabalho de jardinagem)). ....	76
Figura A.8 - Comparação entre ausência de crescimento microbiológico (a) e crescimento microbiológico bastante elevado (b), ou seja, crescimento em tapete, antes do tratamento de desinfecção por radiação UV.....	77
Figura A.9 - Diminuição microbiológica expressa em UFC/mL após 10 minutos de exposição da amostra à radiação UV, para os três ensaios realizados. ....	78
Figura D.1 - Colónias características de Clostrídios Sulfito-Redutores. ....	88
Figura D.2 - Colónias características de <i>enterococos</i> . ....	91
Figura D.3 - Mudança da cor do meio de cultura. ....	91
Figura D.4 - Colónias características de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . ....	92
Figura E.1 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 1 (CP 2).....	94
Figura E.2 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 2 (CP 1).....	95
Figura E.3 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 3 (Depósito 1). ....	95
Figura E.4 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 4 (Depósito 2). ....	96
Figura E.5 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5 (Depósito 3). ....	96
Figura E.6 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5A (Depósito 4).....	97
Figura E.7 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5B (Depósito 5).....	97
Figura E.8 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5C (Depósito 6).....	98

Figura E.9 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5D (Depósito 7).....	98
Figura E.10 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5E (Depósito 8). ....	99
Figura E.11 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5F (Depósito 9). ....	99
Figura E.12 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5G (Depósito 10). ....	100
Figura E.13 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5H (Depósito 11). ....	100
Figura E.14 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5I (Depósito 12). ....	101
Figura E.15 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 6 (Filtro 1).....	101
Figura E.16 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 7 (Filtro 2). ....	102
Figura E.17 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 8 (Filtro 3). ....	102
Figura E.18 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 9 (Depósito Balanço). ....	103
Figura E.19 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 10 (Bico Enchedora 1,5 L). ....	103
Figura E.20 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 11 (Bico Enchedora 5 L)...	104
Figura E.21 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 12 (Bico Enchedora 33 cL/50 cL). ....	104
Figura E.22 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 13 (Início Produção 1,5 L). ....	105
Figura E.23 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 14 (Início Produção 5 L)...	105

Figura E.24 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 15 (Início Produção 33 cL/50 cL). .....	106
Figura E.25 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 16 (Depois Almoço 1,5 L). ..	106
Figura E.26 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 17 (Depois Almoço 5 L)... ..	107
Figura E.27 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 18 (Depois Almoço 33 cL/50 cL). .....	107
Figura E.28 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 22 (Depois Jantar 1,5 L). ..	108
Figura E.29 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 23 (Depois Jantar 5 L). .....	108
Figura E.30 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 24 (Depois Jantar 33 cL/50 cL). .....	109
Figura E.31 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 25 (Depois Pausa Nocturna 5 L). .....	109
Figura E.32 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 26 (Final Produção 1,5 L). ..	110
Figura E.33 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 27 (Final Produção 5 L)... ..	110
Figura E.34 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 28 (Final Produção 33 cL/50 cL). .....	111
Figura E.35 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 29 (Filtro 1 - 5 L). .....	111
Figura E.36 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 30 (Filtro 2 - 5 L). .....	112
Figura E.37 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 31 (CP 3). .....	112

Tabela 1.1 - Composição química típica da água das Caldas de Penacova (Pereira <i>et al</i> , 2012). .....	7
Tabela 1.2 - Valores dos parâmetros microbiológicos a controlar na comercialização de águas, estabelecidos no artigo 4º do Decreto-Lei nº 156/98 (DR, 1998).....	8
Tabela 2.1 - Número de amostras recolhidas e total de análises microbiológicas realizadas para cada ponto de amostragem no período de 3 de Janeiro a 30 de Junho de 2013.....	27
Tabela 2.2 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos pontos de captação ao longo dos seis meses de estudo. ....	33
Tabela 2.3 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos depósitos ao longo dos seis meses de estudo. ....	34
Tabela 2.4 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos filtros ao longo dos seis meses de estudo. ....	35
Tabela 2.5 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos bicos das enchedoras ao longo dos seis meses de estudo.....	35
Tabela 2.6 - Tendência dos pontos de amostragem referentes ao produto acabado ao longo dos seis meses de estudo.....	36
Tabela 2.7 - Matriz de Componentes Rodada pelo Método Varimax com normalização de Kaiser. ....	38
Tabela A.1 - Características das águas cinzentas para diferentes categorias (adaptado de a) Li <i>et al</i> , 2009; b) Al-Jayyousi, 2003 e c) Santos <i>et al</i> , 2012). ....	60
Tabela A.2 - Microrganismos encontrados nas águas cinzentas (adaptado de Eriksson <i>et al</i> , 2002). ....	65
Tabela A.3 - Microrganismos patogénicos encontrados nas águas cinzentas e dose de radiação UV necessária para obter uma eficiência de 90 % num tempo de exposição de 1 a 2 segundos (Lenntech, 2014).....	69
Tabela A.4 - Dose de radiação UV necessária fornecer para se obter uma determinada taxa de eficiência de desinfecção, num tempo de exposição de 1 a 2 segundos, relativamente à <i>E. coli</i> (Lenntech, 2014).....	70
Tabela A.5 - Características físico-químicas das águas estudadas no estudo da eficiência de desinfecção através da radiação UV. ....	70
Tabela A.6 - Composição do meio nutritivo utilizado na contagem de microrganismos. ....	72
Tabela A.7 - Crescimento de microrganismos, em placas de Petri com meio nutritivo YEA após incubação, para s tempos de exposição à radiação UV: 10, 15, 20 e 25 minutos. ....	80



Tabela B.1 - Estrutura da NP EN ISO 22000:2005. ....	83
Tabela B.2 - Estrutura do referencial IFS - <i>International Featured Standards</i> . ....	84
Tabela E.1 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Janeiro.....	113
Tabela E.2 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Fevereiro.....	114
Tabela E.3 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Março.....	115
Tabela E.4 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Abril.....	116
Tabela E.5 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Maio.....	117
Tabela E.6 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Junho. ....	118
Tabela F.1 - Matriz dos valores globais antes da rotação. ....	119
Tabela F.2 - Matriz dos valores globais após a rotação. ....	121



## Motivação

O Mestrado em Processos Químicos e Biológicos possibilita a realização de um estágio curricular numa empresa da área de ensino do mestrado. Por iniciativa própria e movido por esta oportunidade, contactou-se a empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*, a qual anuiu que o estágio curricular fosse realizado nas suas instalações. Com este estágio curricular pretendia-se contactar com a realidade de um ambiente industrial e dos processos envolventes, tendo noção que estes conhecimentos seriam bastante úteis para iniciar a vida profissional. Assim, o estágio foi realizado de acordo com os objectivos principais definidos, o que permitiu ao estagiário aprender bastante sobre a realidade industrial.

Aproveitando a participação na 9ª edição do Poliempree com o projecto intitulado “Reutilização de águas cinzentas”, a qual necessitava de uma investigação preliminar por forma a estudar e compreender os princípios básicos da influência da radiação ultravioleta no processo de desinfecção de águas cinzentas, decidiu-se integrar esta parte da investigação preliminar em anexo no relatório de estágio, de modo a completar a tese com material relacionado com uma leve abordagem à investigação científica e à inovação tecnológica. Deste modo complementou-se o trabalho iminentemente prático e empírico do estágio com este pequeno estudo de iniciação à investigação científica, que permitiu a formação em áreas como o estudo do estado da arte e o planeamento de experiências.

## **Estrutura do relatório de estágio**

Este relatório de estágio divide-se em três grandes capítulos relacionando todo o trabalho realizado ao longo do estágio curricular na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*.

No *Capítulo 1*, faz-se uma apresentação e historial da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* e uma abordagem aos conceitos relacionados com a área de produção da empresa, ou seja, com o processo de captação e engarrafamento de água mineral natural.

No *Capítulo 2*, descreve-se todo o trabalho realizado ao longo do estágio na empresa, focando-se no estudo de controlo microbiológico efectuado aos diferentes pontos de amostragem e na implementação e/ou melhoramento de sistemas que possibilitam controlar todas as perdas e quebras ao longo de todo o processo produtivo e na avaliação do seu impacto económico.

No *Capítulo 3*, apresentam-se as conclusões gerais e sugestões de trabalhos futuros relacionados com o estágio curricular realizado na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*.

De mencionar ainda que em anexo (*Anexos A*) se encontra todo o trabalho desenvolvido na investigação preliminar para o projecto “Reutilização de águas cinzentas”, com o objectivo de estudar e compreender os princípios básicos da influência da radiação ultravioleta (UV) no processo de desinfecção de águas cinzentas.

## Abreviaturas

APIAM	Associação Portuguesa dos Industriais de Águas Minerais Naturais e de Nascente
CBO	Carência Bioquímica de Oxigénio
CIP	<i>Cleaning In Place</i>
CQO	Carência Química de Oxigénio
CT	Carbono Total
DL	Decreto de Lei
HACCP	<i>Hazards Analysis and Control of Critical Points</i>
IFS	<i>International Featured Standards</i>
NP	Norma Portuguesa
NPD	<i>Non Positive Definite</i>
NT	Azoto Total
PET	Politereftalato de Etileno
PT	Fósforo Total
SGS	<i>Société Générale de Surveillance</i>
SGSA	Sistema de Gestão de Segurança Alimentar
SST	Sólidos Suspensos Totais
UFC	Unidades Formadoras de Colónias



**ESTÁGIO NUMA EMPRESA DE ENGARRAFAMENTO  
DE ÁGUA MINERAL NATURAL**





# **[CAPÍTULO 1]**

## **INTRODUÇÃO**

### 1. INTRODUÇÃO

A oportunidade de realizar estágio curricular numa empresa, oferecida pelo Mestrado em Processos Químicos e Biológicos, levou, por iniciativa própria a contactar a empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* de modo a realizar este estágio curricular, o qual foi aceite pela empresa.

Deste modo, o estágio resultou de uma parceria entre o Instituto Superior de Engenharia de Coimbra (ISEC) e a empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* com o intuito de proporcionar ao discente um contacto com o ambiente empresarial, desempenhando tarefas essencialmente associadas ao controlo de qualidade. Este estágio teve uma duração de 7 meses, iniciando-se em Janeiro de 2013 e terminando em Julho do mesmo ano.

No seu enquadramento original, teve como principais objectivos acompanhar actividades de controlo de qualidade do processo de fabrico, engarrafamento e do produto acabado, colaboração na implementação de um novo método analítico microbiológico, sistematização de resultados obtidos para as concentrações dos desinfectantes usados no Sistema CIP (*Cleaning In Place*), colaboração no desenvolvimento de novos métodos de análise de materiais de embalagem e colaboração na melhoria do programa de Gestão de Perdas, na estratégia de comunicação de resultados e na melhoria do programa de Gestão de Stocks em Armazém.

Numa fase inicial do estágio, decorreu a apresentação e integração na empresa, visitando-se todos os diferentes sectores da fábrica, desde os pontos de captação da água até à saída do produto, destacando-se o processo de enchimento e o processo de desinfecção. De modo, a adquirir determinados conceitos, existiu uma pequena formação no sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo, vulgarmente designado HACCP (das iniciais da designação inglesa *Hazards Analysis and Control of Critical Points*) e no Sistema de Gestão da Segurança Alimentar (de acordo com os referenciais NP EN ISO 22000:2005 e IFS – *International Featured Standards*), entre outros assuntos de igual importância. Foi ainda facultado todo o equipamento de protecção individual e as instruções a seguir durante o estágio por forma a respeitar as normas de higiene e segurança no trabalho da empresa.

Com a familiarização da empresa e dos processos fabris, houve um contacto mais aprofundado na área do controlo de qualidade, observando e convivendo com os procedimentos ligados a este sector. Presenciaram-se as análises físico-químicas e microbiológicas efectuadas ao produto, de modo a apreender os métodos praticados na empresa, para posteriormente praticá-los de forma correcta. Durante o estágio, sempre que necessário, também se auxiliou a produção e/ou o departamento de qualidade em diferentes sectores da fábrica, por forma a colmatar necessidades imediatas.

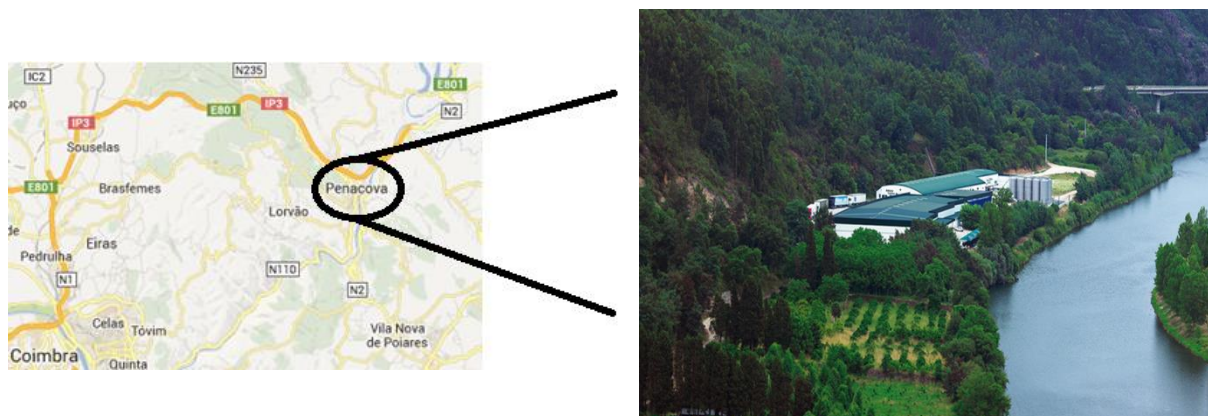
A estrutura deste capítulo comporta a introdução, onde se encontra a descrição de todos os temas de interesse deste trabalho, tais como a própria empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* e o seu produto, água mineral natural. Encontra-se ainda reportado todo o respectivo enquadramento legal e sistema de gestão, assim como todo o processo fabril.

Com estes assuntos esclarecidos seguir-se-á todo o enquadramento do estágio, mais especificamente, a apresentação da fábrica e das respectivas linhas de enchimento e todo o controlo de qualidade associado.

### 1.1. Apresentação da empresa

A empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* dedica-se ao engarrafamento de água mineral natural e localiza-se no concelho de Penacova. A região caracteriza-se por uma topografia muito acidentada de que se destaca a Serra do Buçaco, entre o Luso e Penacova, situando-se as Caldas de Penacova num dos extremos da serra e o Luso no outro extremo. O Aquífero de Água Mineral Natural da Serra do Buçaco, com circulação profunda, apresenta dois locais de extracção, um no Luso e outro nas Caldas de Penacova, sendo constituída por rochas quartzíticas muito pouco solúveis, que conferem à água uma mineralização muito baixa (Pereira *et al*, 2012).

A Figura 1.1 apresenta a localização da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*.



**Figura 1.1 - Localização da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.***

A empresa foi fundada em 1991, mas só em 1997 lhe foi atribuída a concessão de exploração de água mineral natural pelo contrato de concessão nº HM-22, celebrado em 2 de Junho de 1997, para uma área de aproximadamente 67 hectares, publicado no Diário da República, III Série, nº 162, de 16 de Julho do mesmo ano, culminando um longo processo, em que controlos físico-químicos e microbiológicos realizados em laboratórios acreditados revelaram

que as características de água mineral natural hipossalina, com reacção ácida e macia eram estáveis e aptas à exploração (Paulo, 2011).

A concessão da licença de exploração é da responsabilidade da Direcção Geral de Energia e Geologia. A Direcção Técnica da *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* tem a responsabilidade de dar resposta às exigências desta entidade licenciadora, bem como garantir o acompanhamento da estabilidade físico-química e microbiológica da água.

Em Abril de 1999 inicia a sua actividade com uma área coberta de 2000 m<sup>2</sup> e um total de 27 colaboradores produzindo 6.400.000 litros/ano. A 6 de Dezembro de 1999, mediante proposta fundamentada da empresa, foi fixado o Perímetro de Protecção desta concessão (Port<sup>a</sup> n<sup>o</sup> 1060/99) e a 7 de Março de 2000 foi publicada, no jornal Oficial das Comunidades Europeias, a lista das Águas Minerais Naturais reconhecidas por Portugal, a qual inclui as Caldas de Penacova. Tendo como actividade principal o engarrafamento de água mineral natural, inicialmente também se dedicou à produção própria de embalagens em politereftalato de etileno (PET), numa primeira fase com máquinas integradas (injecção e sopro), estando desde 2006 a proceder à sua substituição por sopradoras. Actualmente, a fábrica de engarrafamento ocupa uma área de 8000 m<sup>2</sup>, dos quais 3000 m<sup>2</sup> são afectos ao estabelecimento industrial e 5000 m<sup>2</sup> destinados ao armazém e serviços de apoio, emprega 50 trabalhadores e está equipada com linhas individuais para embalagens de 33 cL, 50 cL, 1,5 L e 5L (Paulo, 2011).

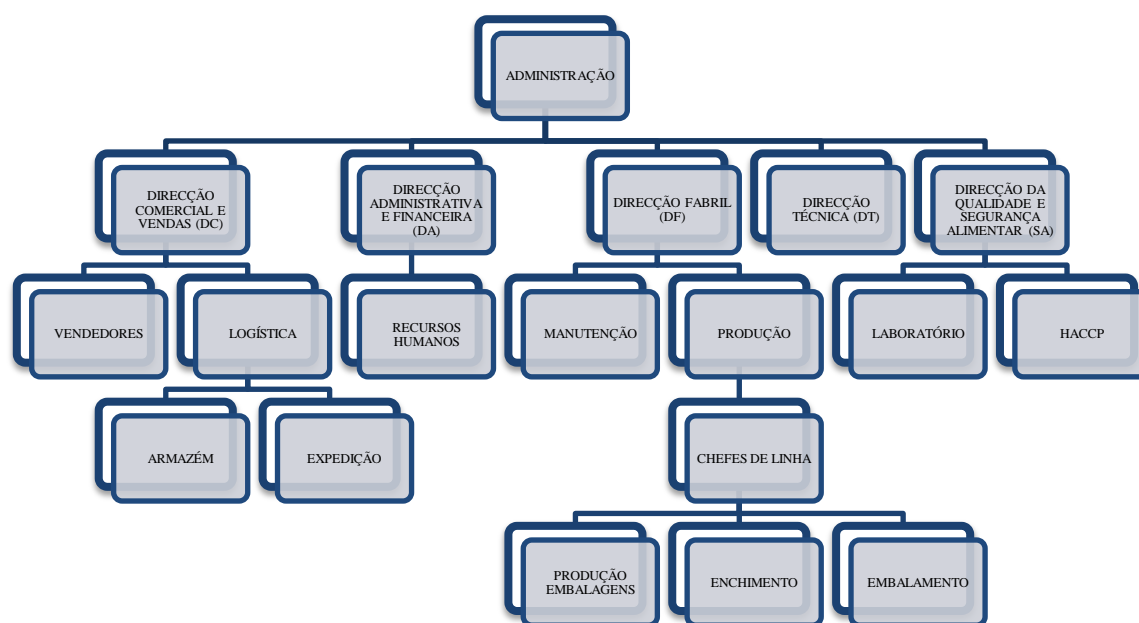
Com a preocupação de assegurar a qualidade do produto e a garantia de saúde pública a *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* tem desde do início a funcionar nas suas instalações um laboratório onde são realizadas diariamente análises microbiológicas de monitorização e acompanhamento de todo o processo fabril. Também é efectuado um controlo analítico no Laboratório do Instituto Superior Técnico, desde 24 de Março de 1994, com uma periodicidade mensal até 23 de Maio de 1995 e actualmente com uma periodicidade trimestral, o qual permite evidenciar a estabilidade do perfil físico-químico da água (Paulo, 2011).

Evidenciando o cuidado em atribuir e respeitar os requisitos do produto, a empresa certificou o seu Sistema de Gestão da Segurança Alimentar (SGSA), segundo os referenciais NP EN ISO 22000:2005 e IFS – *International Featured Standards* no ano de 2009 (Paulo, 2011).

No ano de 2011 procedeu ao engarrafamento de 143.569.990 litros de água, o que representa um crescimento de aproximadamente 8% em relação a 2010, contrariando o comportamento do mercado das águas em Portugal em 2011, pois segundo os resultados apresentados pela Associação Portuguesa dos Industriais de Águas Minerais Naturais e de Nascente (APIAM), observaram uma retracção de 2,87 %. A retracção do mercado de água em Portugal no actual panorama de crise levou a empresa a uma intensificação no mercado internacional com a exportação para África (Angola, Moçambique, S. Tomé e Príncipe e Cabo Verde), Macau,

Estados Unidos da América e sobretudo para a Europa (Espanha, Alemanha e Suíça) (Paulo, 2011).

A empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* encontra-se estruturalmente organizada segundo o organograma apresentado na Figura 1.2. Sendo que as funções e responsabilidades de cada colaborador da empresa encontram-se descritas no Manual de Funções e no Manual do Sistema de Gestão da organização.



**Figura 1.2 - Estrutura organizacional da empresa *Água das Caldas de Penacova, S.A.* (Paulo, 2011).**

Durante o estágio curricular, o trabalho realizado centrou-se essencialmente no Departamento da Direção da Qualidade e Segurança Alimentar (SA), trabalho este que se repartia pelas funções desempenhadas no Laboratório e na secção do HACCP.

## 1.2. Caracterização de águas naturais

A água é o elemento mais abundante no planeta e, ao mesmo tempo, uma riqueza verdadeiramente insubstituível. A água cobre cerca de 71% da superfície do planeta, e é encontrada principalmente nos oceanos, água salgada. A água doce corresponde apenas a uma pequena parcela (de 1 a 2%) da água encontrada no planeta, encontrando-se na sua maior parte em aquíferos, glaciares e icebergs (Van der Leeden *et al*, 1990).

A água de consumo tem na sua constituição sais minerais e oligoelementos (elementos vestigiais com concentrações na ordem dos micrograma por litro) que desencadeiam reacções químicas naturais que favorecem o bom funcionamento do organismo (APIAM, 2001).

A composição química das águas naturais depende muito do tipo de solo na qual está armazenada, uma vez que as jazidas subterrâneas são formadas por águas que geralmente resultam da infiltração e que actuando sobre as rochas dissolvem elementos solúveis, mineralizando-se. Esta particularidade divide as águas em duas categorias, as águas “doces”, no caso dos sais dissolvidos terem uma concentração inferior a 0,6 g/L, ou em águas “duras”. Existem ainda as águas minerais, que designam as águas que contêm uma importante quantidade de sais que podem ter efeitos benéficos para a saúde (Van der Leeden *et al*, 1990).

As águas minerais naturais e as águas de nascente são as únicas águas globalmente naturais e que mantêm a sua pureza original (proibindo qualquer tipo de tratamento químico ou a utilização de aditivos).

As águas minerais naturais encontram-se no subsolo a grandes profundidades. São águas sem elementos de poluição e a sua composição química é totalmente natural, que resulta exclusivamente da interacção água/rocha, possuindo oligoelementos benéficos à vida humana. Por isso, esta composição química é específica, não existindo duas águas iguais, definindo um padrão químico próprio e muito estável ao longo do tempo. As águas minerais naturais para além de possuírem características e paladares distintos, algumas podem possuir gás natural (águas gasocarbónicas). Para preservar todas as suas características de qualidade e de pureza, o engarrafamento das águas minerais naturais só pode ser efectuado no local da captação e são consideradas do domínio público e exploradas através de concessão hidromineral (APIAM, 2001).

As águas de nascente, à semelhança das águas minerais naturais, são completamente naturais, diferenciando-se no tempo de circulação no subsolo, o qual é mais curto. Devido ao curto período de circulação subterrânea, a presença de sais minerais nas águas de nascente pode variar ao longo do tempo. Estas águas possuem características químicas e bacteriológicas originais, sendo obrigatório que o seu engarrafamento seja feito no local de exploração. As águas de nascente são classificadas como “doces”. São consideradas do domínio privado, exploradas através de licença de exploração e aproveitadas na vertente de comercialização para o consumo humano (APIAM, 2001).

Face ao potencial perigo de contaminação das águas subterrâneas tornou-se necessário fixar perímetros de protecção em volta das respectivas zonas de captação. Os três pontos de captação de água da empresa *Águas das Caldas de Penacova S.A.*, encontram-se num perímetro de protecção de acordo com o previsto na lei, existindo uma constante vigilância das condições ambientais nesse perímetro por parte da empresa para assegurar que o aquífero não é contaminado nem adulterado (Paulo, 2011).

### 1.2.1. Água das Caldas de Penacova

Em 1972, o médico-hidrológico, Dr. Amaro de Almeida concluiu que as águas das Caldas de Penacova possuem propriedades terapêuticas, podendo ser utilizadas no tratamento de doenças de pele, do aparelho digestivo e do aparelho urinário: *“Não é radioactiva. A sua leveza, como hipossalina e a presença de anidrido carbónico, conferem-lhe o seu lugar como água de mesa, sem desvantagens, ao lado de muitas outras de grande valor comercial”*. Já em 1971, o Instituto Superior Técnico refere no Boletim de Análise nº 31999 de 21 de Julho *“Água muito hipossalina com reacção ácida que lhe é conferida pelo apreciável teor de anidrido carbónico livre. Como consequência da sua baixa mineralização, deve possuir propriedades terapêuticas inerentes a este tipo de água”*. De acordo com a classificação do Instituto de Hidrologia de Lisboa a água das Caldas de Penacova apresenta uma natureza hipossalina, com reacção ácida e macia, silicatada (Águas das Caldas de Penacova, S.A., 2011).

Na Tabela 1.1 apresenta-se a composição química típica da água das Caldas de Penacova segundo o Boletim de Análises nº 07323-10 do Instituto Superior Técnico de Lisboa (Pereira *et al*, 2012).

**Tabela 1.1 - Composição química típica da água das Caldas de Penacova (Pereira *et al*, 2012).**

<b>pH</b>		5,5 ( $\pm$ 0,3)	
<b>Sílica (SiO<sub>2</sub>)</b>		8,9 ( $\pm$ 0,4) mg/L	
<b>Mineralização total</b>		32 ( $\pm$ 1) mg/L	
<b>Aniões</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>Catiões</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
<b>Cloreto (Cl<sup>-</sup>)</b>	9,4 ( $\pm$ 0,2)	<b>Sódio (Na<sup>+</sup>)</b>	5,7 ( $\pm$ 0,3)
<b>Bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b>	2,6 ( $\pm$ 0,5)	<b>Magnésio (Mg<sup>2+</sup>)</b>	1,0 ( $\pm$ 0,1)
<b>Sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)</b>	1,2 ( $\pm$ 0,2)	<b>Cálcio (Ca<sup>2+</sup>)</b>	0,59 ( $\pm$ 0,05)
<b>Nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b>	1,9 ( $\pm$ 0,2)		

### 1.3. Enquadramento legal da exploração e comercialização de águas

Em Portugal, o primeiro regulamento para a água mineral foi publicado em 1894, denotando a necessidade já naquela altura de proteger todas as nascentes de água mineral, de forma a que a extracção fosse feita sem perigo de esgotamento ou deterioração. Em 1928, é publicado o novo regulamento onde se reafirma a necessidade de tanto a nascente como a fonte de um complexo termal ou de uma indústria de engarrafamento incluir uma área reservada. A legislação actualmente em vigor exige que sejam respeitados parâmetros específicos por forma a proteger a qualidade da água de acordo com o uso pretendido. O enquadramento europeu é definido pela Directiva-Quadro da Água (Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Outubro de 2000), sendo o principal instrumento da Política

da União Europeia relativa à água. Esta Directiva foi transposta para o direito nacional através da Lei n.º 58/2005, de 29 de Dezembro, o qual estabelece as bases e o quadro institucional para a gestão sustentável das águas, águas de superfície interiores, de transição, costeiras e subterrâneas (Instituto da Água, 2012).

O Decreto-Lei (DL) n.º 156/98, de 6 de Junho, alterado pelo DL n.º 268/2002, de 27 de Novembro, estabelece as regras relativas à exploração, acondicionamento e comercialização de águas minerais naturais e de águas de nascente, enquadrando em termos legislativos toda a actividade da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S. A.* nomeadamente pela definição dos valores dos parâmetros microbiológicos constantes no artigo 4º do referido DL para a comercialização de águas minerais naturais que se apresentam na tabela seguinte.

**Tabela 1.2 - Valores dos parâmetros microbiológicos a controlar na comercialização de águas, estabelecidos no artigo 4º do Decreto-Lei n.º 156/98 (DR, 1998).**

Parâmetro	Valor paramétrico	Volume de amostra (mL)
Número de colónias a 37 °C (com 24 horas de incubação)	20	1
Número de colónias a 22 °C (com 72 horas de incubação)	100	
<i>Escherichia coli</i> e outros coliformes	0	250
<i>Streptococos fecais/Enterococos</i>	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	
Anaeróbios esporulados sulfito-redutores	0	50

Na análise dos parâmetros presentes na Tabela 1.2 devem ser seguidos rigorosos métodos por forma a garantir a exactidão e reprodutibilidade dos resultados.



De acordo com o DL nº 306/2007 de 27 de Agosto, os ensaios de controlo da qualidade, nomeadamente os constantes na tabela anterior, devem ser realizados com recurso aos métodos analíticos especificados nas seguintes normas (DR, 2007).

- ISO 9308-1 para a análise das bactérias coliformes e *Escherichia coli*;
- ISO 7899-2 para a análise de *Enterococos*;
- ISO 16266 para a análise de *Pseudomona aeruginosa*;
- ISO 6222 para a análise do número de colónias de microrganismos viáveis – número de colónias a 22 e a 37 °C;
- ISO 6461-2 para a análise de anaeróbios esporulados sulfito-redutores.

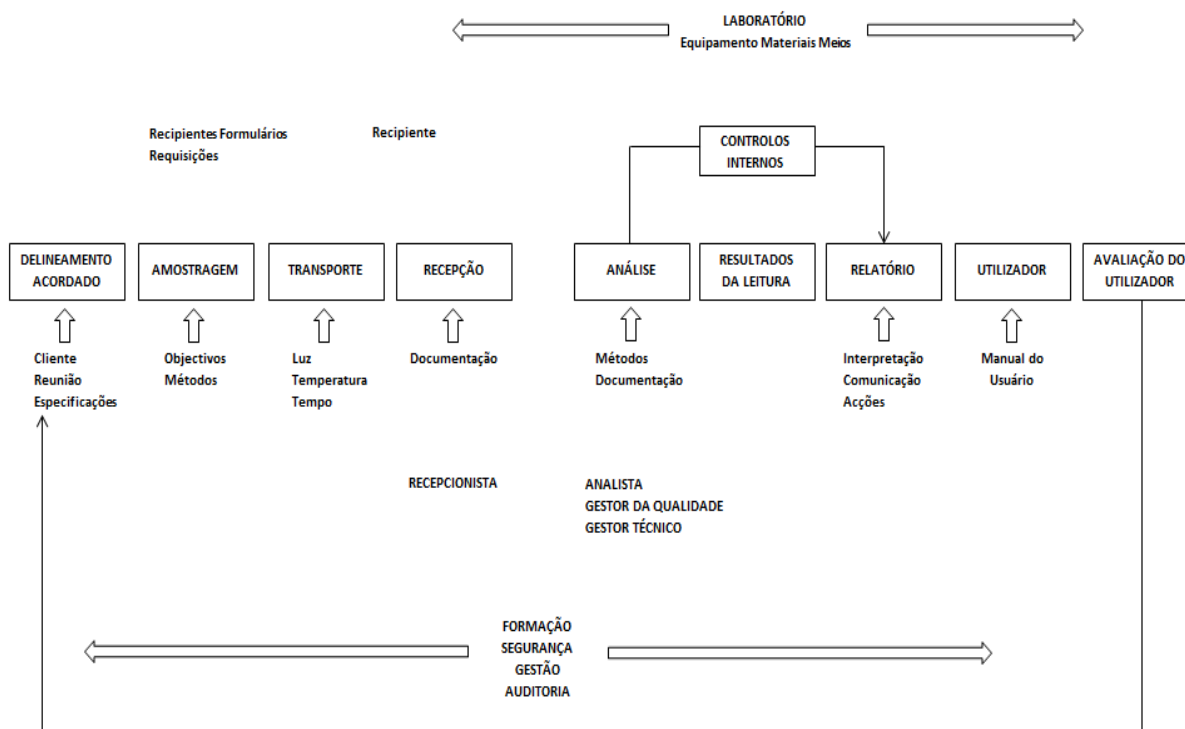
#### **1.4. Sistema de Gestão da Qualidade e da Segurança Alimentar**

Conforme referido anteriormente, para além dos requisitos de controlo e vigilância da qualidade da água para o consumo humano decorrente da legislação aplicável, a empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* tem implementado um Sistema de Gestão da Segurança Alimentar, de acordo com os referenciais NP EN ISO 22000:2005 e IFS – *International Featured Standards*, o que comprova o empenho da empresa em cumprir um rigoroso controlo da Segurança Alimentar.

O laboratório da empresa controla a qualidade microbiológica da água, a efectividade dos processos de desinfecção das linhas de produção, pontos de controlo crítico durante a produção, assim como a qualidade dos produtos finais, ou seja, todas as etapas do ciclo produtivo, desde a captação até ao ponto de expedição, por forma a garantir o cumprimento de toda a legislação e normas aplicáveis (Paulo, 2011).

Para além do controlo interno, decorrente de obrigações legais, a empresa recorre, ainda, a laboratórios externos acreditados como forma independente de garantir a qualidade da matéria-prima e do produto final.

Na Figura 1.3 apresenta-se um esquema genérico dos processos a controlar numa indústria alimentar por forma a garantir a qualidade e a segurança alimentar do produto, o qual é seguido pelo Departamento da Qualidade e Segurança Alimentar da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*.



**Figura 1.3 - Programas de garantia da qualidade - Processos a serem considerados (adaptado Lightfoot e Maier, 2003).**

A norma NP EN ISO 22000:2005 é uma norma auditável, que obriga as organizações a possuir documentos e registos que permitam a avaliação da conformidade do Sistema em vigor face aos requisitos legais e normativos. Apesar da implementação de um Sistema de Gestão da Segurança Alimentar não ser obrigatório, existe a obrigatoriedade legal da existência de um Sistema HACCP (Regulamento CE nº 852/2004) e de mecanismos que assegurem a rastreabilidade (Regulamento CE nº 178/2002), pelo que a sua implementação assegura o cumprimento destas obrigatoriedades legais, assim como acrescenta vantagens decorrentes da implementação de sistemas de gestão normativos associados às actividades da organização. A norma NP EN ISO 22000:2005 apresenta uma abordagem perfeitamente alinhada com outros referenciais de gestão, o que permite dar resposta às obrigações em termos de Segurança Alimentar aplicáveis às organizações que se encontram na cadeia alimentar ou que lhe dão suporte (IPQ, 2013).

Esta norma deve ser tratada e utilizada como mais uma das ferramentas da gestão global da organização à disposição das respectivas estruturas e não como um elemento independente

das funções de gestão da mesma. As responsabilidades entre as várias partes interessadas e a sua interligação ao nível da comunicação externa tornam esta norma uma ferramenta importante no controlo efectivo dos perigos associados à Segurança. A NP EN ISO 22000:2005 baseia-se em quatro elementos-chave presentes nos vários requisitos e que permitem uma boa interligação com outros elementos da cadeia alimentar, sendo eles:

- Comunicação interactiva;
- A gestão do Sistema;
- Os programas pré-requisito;
- Os princípios HACCP.

Os requisitos básicos da norma encontram-se alinhados com os da NP EN ISO 9001:2008 de forma a torná-las mais compatíveis e são apresentados nos *Anexos B*.

A dimensão e a complexidade do Sistema de Gestão da Segurança Alimentar, a extensão da documentação e os recursos necessários dependem da natureza, dimensão e das actividades desenvolvidas pela organização em questão (IPQ, 2013).

Como já foi mencionado anteriormente, a *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* também se encontra certificada segundo o referencial IFS – *International Featured Standards*. O objectivo do IFS é criar um sistema de avaliação consistente a ser utilizado por fabricantes de produtos alimentares de marca branca fornecidos a retalhistas alemães e franceses e aplica-se à produção, processamento e embalagem, ou seja, pretende estabelecer formulações uniformes, procedimentos de auditoria consistentes e aceitação mútua das auditorias, para permitir um nível elevado de transparência ao longo da cadeia de abastecimento global. Em 2002, no sentido de criar uma norma para a segurança alimentar comum, os distribuidores de produtos alimentares alemães do HDE (*Hauptverband des Deutschen Einzelhandels*) desenvolveram uma norma de auditoria comum conhecida como IFS – *International Featured Standards*. Em 2003, os distribuidores de produtos alimentares franceses do FCD (*Fédération des Entreprises du Commerce et de la Distribution*) aderiram ao grupo de trabalho do IFS e contribuíram para o seu desenvolvimento (IFS, 2012).

Os benefícios da certificação pelo referencial IFS passam por assegurar o cumprimento dos requisitos legais aplicáveis e por evitar auditorias múltiplas (IFS, 2012).

Os requisitos IFS englobam cinco secções principais:

1. Responsabilidade da Gestão do Topo;
2. Sistema de Gestão da Qualidade;
3. Gestão de Recursos;
4. Processos de Produção;
5. Medição, Análise e Melhoria.

Estas secções dividem-se em cláusulas normativas apresentadas no *Anexo B* e que são muito aproximadas aos requisitos normativos constantes na NP EN ISO 22000:2005.

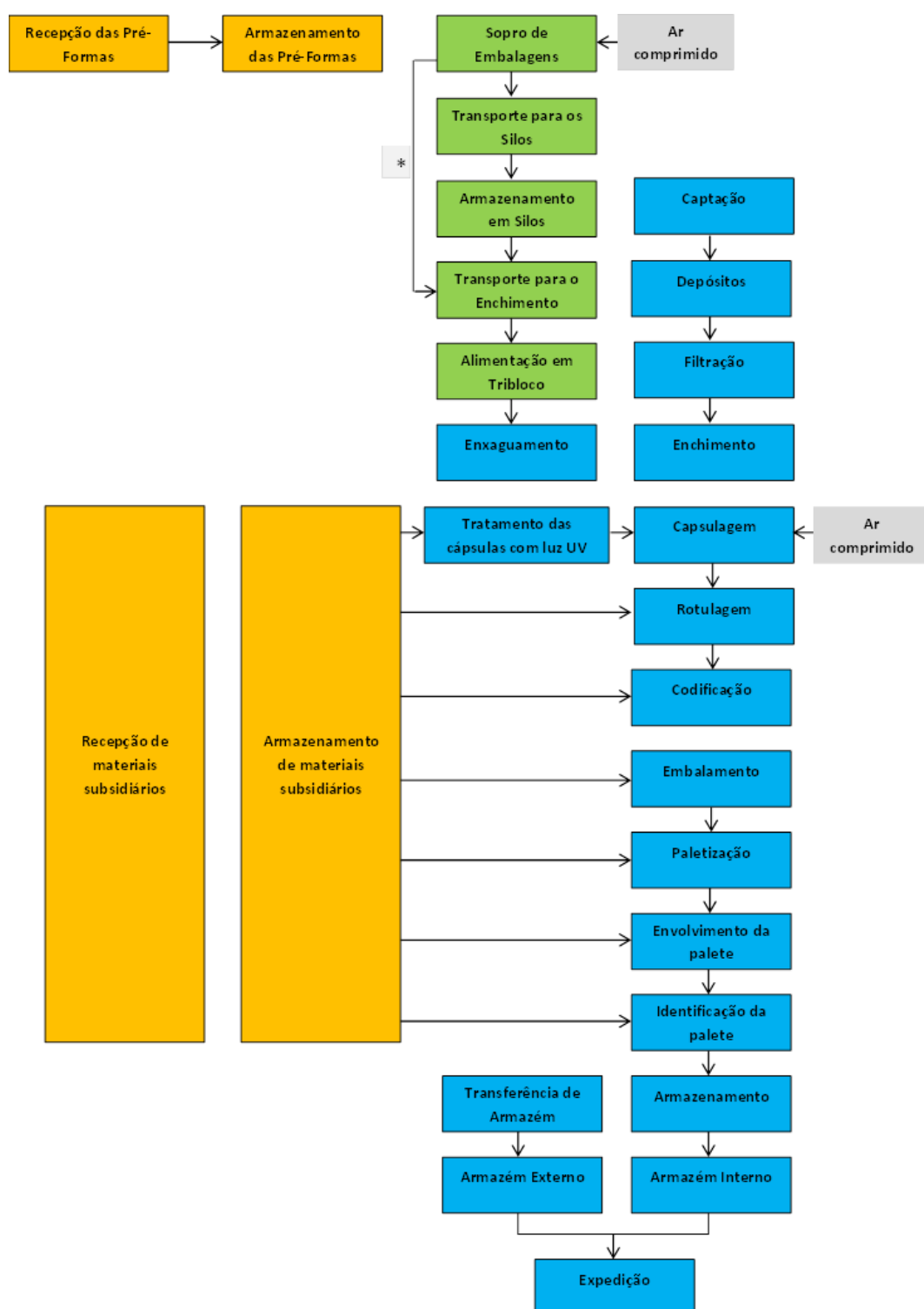
Durante o período de estágio foi realizado trabalho que contribuiu para a melhoria do Sistema de Gestão da Segurança Alimentar centrando nos requisitos da NP EN ISO 22000:2005 e do IFS – *International Featured Standards*, conforme irá ser apresentado no *Capítulo 2*.

### **1.5. Descrição do processo produtivo da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* e respectivo plano HACCP associado**

O processo de produção da empresa divide-se em quatro grandes etapas, às quais se encontram associadas um plano HACCP bem implementado, de modo a assegurar o controlo dos perigos que possam pôr em causa a inocuidade dos produtos. O plano HACCP permite identificar e registar os factores que afectam a salubridade do produto, possibilitando um melhor controlo dos riscos, ou a sua redução de uma forma mais eficaz do ponto de vista técnico e económico.

Para assegurar o plano HACCP todos os colaboradores intervenientes nas etapas de produção estão devidamente formados e conscientizados acerca do mesmo, minimizando o risco que possa colocar em causa a boa qualidade do produto.

Na Figura 1.4 estão representadas as várias etapas do processo produtivo da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*



**Figura 1.4 - Esquema das etapas do processo produtivo da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.***

\* - no caso da linha de 5 L não existe armazenamento nos silos, existindo um fornecimento contínuo de embalagens desde o sopro até ao enchimento.

O processo produtivo da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* divide-se em quatro grandes etapas, seguidamente apresentadas:

1. Inspecção à recepção e armazenagem de materiais subsidiários (etapa representada a amarelo na Figura 1.4)

Materiais subsidiários são todos os materiais adquiridos pela empresa aos seus fornecedores, os quais se destacam: pré-formas, cápsulas e rótulos.

A recepção e armazenagem destes materiais são realizadas de acordo com o procedimento descrito nas Instruções de Trabalho, sendo realizado o registo no impresso – Registo de Recepção de Materiais Subsidiários, a inspecção e o ensaio de recepção de acordo com o Plano de Inspecção e Ensaio.

As pré-formas e as cápsulas são sujeitas a um controlo microbiológico na recepção de acordo com o plano analítico – Plano Interno de Análises.

As pré-formas são armazenadas numa área coberta junto à área de sopro de embalagens. Os restantes materiais são armazenados em armazéns indicados para esse fim.

2. Sopro e transporte de embalagens (etapa representada a verde na Figura 1.4)

Esta etapa do processo produtivo divide-se em 4 fases:

### A. Elevação, transporte e sopro da pré-forma

As embalagens (garrafas/garrações em PET) são fabricadas a partir de pré-formas sujeitas a um processo de sopro. As pré-formas são elevadas e transportadas às máquinas de sopro onde é produzida a embalagem a uma temperatura na ordem dos 150 °C.

Nesta fase o cumprimento das boas práticas de higiene e fabrico para a produção de embalagens, bem como a manutenção dos filtros de ar comprimido são medidas preventivas adoptadas no sentido de garantir a qualidade da embalagem.

Visto as pré-formas serem sujeitas a temperaturas elevadas e a uma pressão da ordem dos 8 bar, permite nesta etapa reduzir bastante o perigo de contaminação microbiológica e física da embalagem primária.

### B. Transporte e armazenamento das embalagens de 1,5 L, 33 cL e 50 cL nos silos

As embalagens produzidas são transportadas em tapetes fechados até aos silos, permanecendo aí até ao momento de serem usadas no enchimento.

No caso das embalagens de 5 L não existe armazenamento em silos sendo feito o transporte directo das embalagens da sopradora à sala de enchimento.

O cumprimento dos planos e procedimentos de higienização dos transportadores e silos e o controlo de pragas são medidas de controlo adoptadas como meio de garantir a segurança e qualidade do produto acabado.

#### C. Transporte de embalagens à sala de enchimento

As embalagens são transportadas em tapetes fechados até aos posicionadores, nas linhas de 1,5 L, 33 cL/50 cL do enchimento. Na linha de 5 L as embalagens vão directos para o tribloco não passando por posicionadores. A manutenção das tampas nos transportadores, o controlo de pragas e o cumprimento e procedimentos de higienização são as medidas adoptadas para controlo dos perigos identificados.

#### D. Posicionamento e transporte das embalagens ao tribloco (enxaguadora, enchedora e capsulador)

As embalagens são colocadas em posicionadores e transportadas em transportadores até à enxaguadora. O transporte das embalagens de 1,5 L, 33 cL e 50 cL é feito por transporte aéreo. As medidas de controlo adoptadas nesta etapa são: cumprimento dos planos e procedimentos de higienização dos posicionadores e transportadores, cumprimentos dos planos de manutenção dos posicionadores e dos filtros dos ventiladores.

### 3. Captação e embalamento de água (etapa representada a azul na Figura 1.4)

Esta etapa do processo produtivo divide-se em 11 fases:

#### A. Captação

A água é captada em três furos, Penacova 1, Penacova 2 e Penacova 3 sendo depois transportada até aos 12 depósitos existentes na unidade fabril.

As medidas existentes para a protecção do aquífero, das captações e da qualidade da água captada são as seguintes:

- a) Aquisição de terrenos em redor das captações minimizando-se assim a probabilidade de existência de eventuais focos de contaminação das águas subterrâneas;
- b) Alteração ao sistema de drenagem do IP3, conduzindo as águas pluviais e escorrência através de aquedutos/conduatas fechadas para zonas a jusante das captações;
- c) Selagem do espaço anelar (espaço entre a rocha perfurada e a parte exterior do entubamento de PVC) com calda de cimento;
- d) “Bocas” dos furos isoladas com tampas de aço-inox;

- e) Instalação de filtros de ar microbiológico nas “bocas” dos furos para que as variações das colunas de água sejam compensadas com entradas e saídas de ar estéril, sem que este constitua um veículo de contaminação das captações;
- f) Construção da unidade industrial fora de qualquer zona de influência do aquífero;
- g) Tubagem de elevação e de transporte da água em aço inoxidável (AISI 316) adequado com este tipo de água.

A *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* tem em permanência um conjunto de medidas de controlo que garantem a manutenção da qualidade físico-química e microbiológica da água captada que passam por:

- a) Acesso condicionado e controlado aos terrenos imediatamente contíguos às captações;
- b) Controlo das actividades realizadas dentro dos perímetros de protecção (Portaria 106/99, de 6 de Dezembro);
- c) Vigilância e protecção das captações e das condutas. Sempre que são detectados movimentos na área circundante aos furos é accionado um alarme na unidade industrial;
- d) Vigilância e limpeza frequente das valas junto do IP3;
- e) Cumprimento do plano de higienização da casa do furo;
- f) Cumprimento do plano interno de análises microbiológicas da água captada em cada um dos furos;
- g) Controlo da temperatura e pH da água à saída das captações;
- h) Cumprimento do plano de manutenção dos filtros.

### B. Armazenamento e mistura da água captada nos depósitos

Como mencionado anteriormente, após a extracção da água nos pontos de captação, a água é armazenada em depósitos, nos quais se efectua o controlo microbiológico de acordo com o plano de análises estipulado.

O ar, antes de entrar nos depósitos, é sujeito a uma filtração, garantindo a sua qualidade pelo cumprimento do plano de manutenção dos respectivos filtros. Existe também um plano de higienização para cada depósito.



### C. Filtração da matéria-prima

A água é transportada à sala de enchimento sendo previamente filtrada. Nesta fase é realizado o controlo das pressões dos filtros e cumprido o plano de manutenção para os mesmos. É realizado, também, o controlo microbiológico de acordo com o plano de análises estipulado.

As fases D, E e F do processo produtivo da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* têm em comum as seguintes medidas de controlo:

- a) Cumprimento do plano e procedimentos de higienização;
- b) Cumprimento das boas práticas de higiene durante as intervenções na enxaguadora;
- c) Cumprimento das boas práticas de higiene e fabrico.

Estas fases do processo produtivo têm estas medidas de controlo em comum uma vez que todas mantêm um contacto directo com a água.

### D. Enxaguamento da embalagem

Nesta fase é efectuado o enxaguamento das embalagens a uma pressão mínima de 2 bar, encontrando-se implementadas as seguintes medidas de controlo além das mencionadas anteriormente:

- a) Cumprimento do plano de manutenção da enxaguadora.

### E. Enchimento

Esta fase é caracterizada pelo enchimento da embalagem e na qual outras medidas de controlo são tomadas, além das referidas anteriormente, tais como:

- a) Controlo microbiológico de acordo com o plano de análises estipulado;
- b) Cumprimento do plano de manutenção da enchedora e dos filtros.

### F. Capsulagem

Fase do processo em que se efectua a esterilização por ultravioleta das cápsulas e a capsulagem da embalagem. As medidas de controlo que se encontram nesta fase além das referidas anteriormente são:

- a) Controlo microbiológico de acordo com o plano de análises estipulado;
- b) Cumprimento do plano de manutenção do capsulador;
- c) Monitorização do funcionamento da lâmpada ultravioleta de acordo com as Instruções de Trabalho.

### G. Rotulagem

Fase do processo em que se efectua a rotulagem da embalagem. Nesta etapa a colaboradora realiza um controlo como garantia de que os rótulos vão correctamente afixados na embalagem.

### H. Codificação

Fase do processo em que se efectua a marcação da referência de produto, do lote e da validade da embalagem. Esta marcação é feita automaticamente.

### I. Embalamento secundário e paletização

Fase do processo em que se efectua o embalamento em packs e a formação de paletes. Esta fase é distinta em função do produto a embalar. Após a paletização é afixado a etiqueta que garante a rastreabilidade ao cliente.

As condições de armazenamento das matérias subsidiárias, o cumprimento do plano de higiene e o plano de controlo de pragas garantem a segurança do produto.

### J. Armazenagem das paletes

Fase do processo em que se efectua a armazenagem das paletes nas estantes. As medidas de controlo adoptadas são o cumprimento do plano de higiene, manutenção de espaço ventilado, fresco, seco e protegido da luz solar e o cumprimento do plano de controlo de pragas.

No caso de existir transferência de produto para um armazém externo dever-se-á efectuar a carga com *picking* de transferência de armazém.

O produto acabado é transportado e armazenado.

## K. Expedição

As paletes são carregadas nos veículos de transporte, sendo atribuído de forma automática o número da paleta ao cliente, pela leitura da etiqueta afixada. Estes dados são processados garantindo a rastreabilidade ao cliente.

É realizada como medida de controlo em cada carga uma avaliação da higienização dos veículos. A avaliação e qualificação dos transportadores visam garantir o cumprimento das boas práticas por parte das empresas prestadoras deste serviço.

### 4. Desinfecção e enxaguamento do circuito (etapa representada a verde e azul até à fase da capsulagem na Figura 1.4)

Fase do processo em que se procede no final da produção à desinfecção da linha e à remoção do desinfectante antes do início da produção.

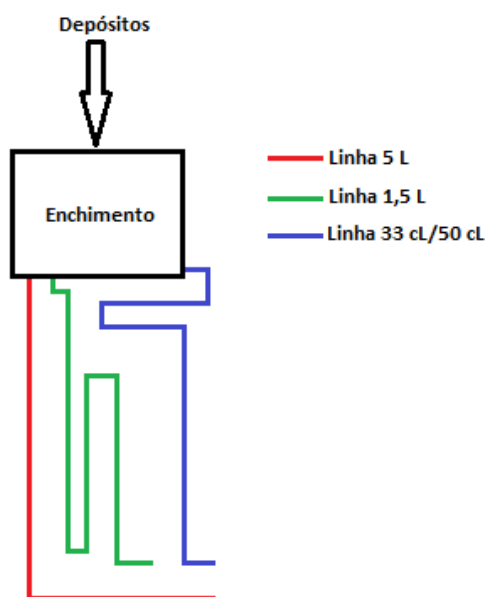
A desinfecção da linha de produção realiza-se através do Sistema CIP (*Cleaning In Place*) que consiste na circulação, distribuição, aspersão e armazenamento de produtos de higienização e água sobre superfícies a desinfectar. Este processo é de elevada importância para o bom funcionamento da empresa, exigindo o cumprimento de regras básicas, que têm de ser rigorosamente cumpridas. É necessário existir uma boa formação por parte dos envolvidos neste processo, para que haja uma boa escolha e um bom conhecimento dos métodos a usar, dos produtos envolvidos e de uma sequência de limpeza bem definida, iniciada nos locais onde a contaminação é diminuta e finalizando nos de maior contaminação. Para realizar este processo é obrigatório o uso de vestuário adequado pelos operadores, os quais devem também estar bem informados sobre os métodos de desinfecção, não deve haver acumulação de lixo e todo o equipamento de limpeza e produtos químicos devem estar devidamente identificados e acondicionados. Este processo pretende eliminar os resíduos que ficam sobre as superfícies e a eliminação de microrganismos. Os produtos químicos utilizados na desinfecção através do Sistema CIP são o Hipoclorito de Sódio (sempre que existe uma paragem dos trabalhos de aproximadamente 24 horas) e Ácido Peracético (sempre que existe uma paragem inferior a 20 horas). A concentração destes produtos químicos é pré-definida para que haja uma total eliminação dos microrganismos sem que haja um gasto muito elevado dos mesmos e actualizada sempre que necessário.

Esta etapa é monitorizada de acordo com as Instruções de Trabalho - Desinfecção do circuito de água mineral natural no final de produção e Enxaguamento do circuito de água mineral natural no início de produção.

### 1.6. Linhas de produção da empresa *Águas das Caldas de Penacov, S.A.*

As linhas de produção da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* são as linhas de 33 cL/50 cL, 1,5 L e 5 L. A linha de enchimento do produto 33 cL e de 50 cL é a mesma, mudando a cabeça da enchedora sempre que existe mudança de formato, havendo também desinfecção da linha sempre que existe mudança de formato. O engarrafamento de todos os formatos é feito em garrafas e garrafões PET.

Na Figura 1.5 apresenta-se um esquema representativo da disposição das linhas estudadas na unidade fabril. É de salientar que o esquema não se encontra à escala.



**Figura 1.5 - Esquema representativo da disposição das linhas de produção na unidade fabril.**

É retirada uma amostra de água de cada enchedora no início da produção para verificar a eficácia da desinfecção através do Sistema CIP e é retirado vários produtos acabados de cada linha ao longo do dia para verificar que não existe contaminação microbiológica. No início da produção existe um período em que o produto acabado é aberto para se fazer a medição da concentração do desinfetante utilizado, sendo este procedimento realizado até que a concentração apresentada no produto acabado seja zero, evitando assim riscos para a saúde do consumidor. Todo o produto acabado que apresenta concentrações de desinfetante diferente de zero é assinalado como não conforme e posteriormente destruído.

### **1.7. Processo de engarrafamento da água**

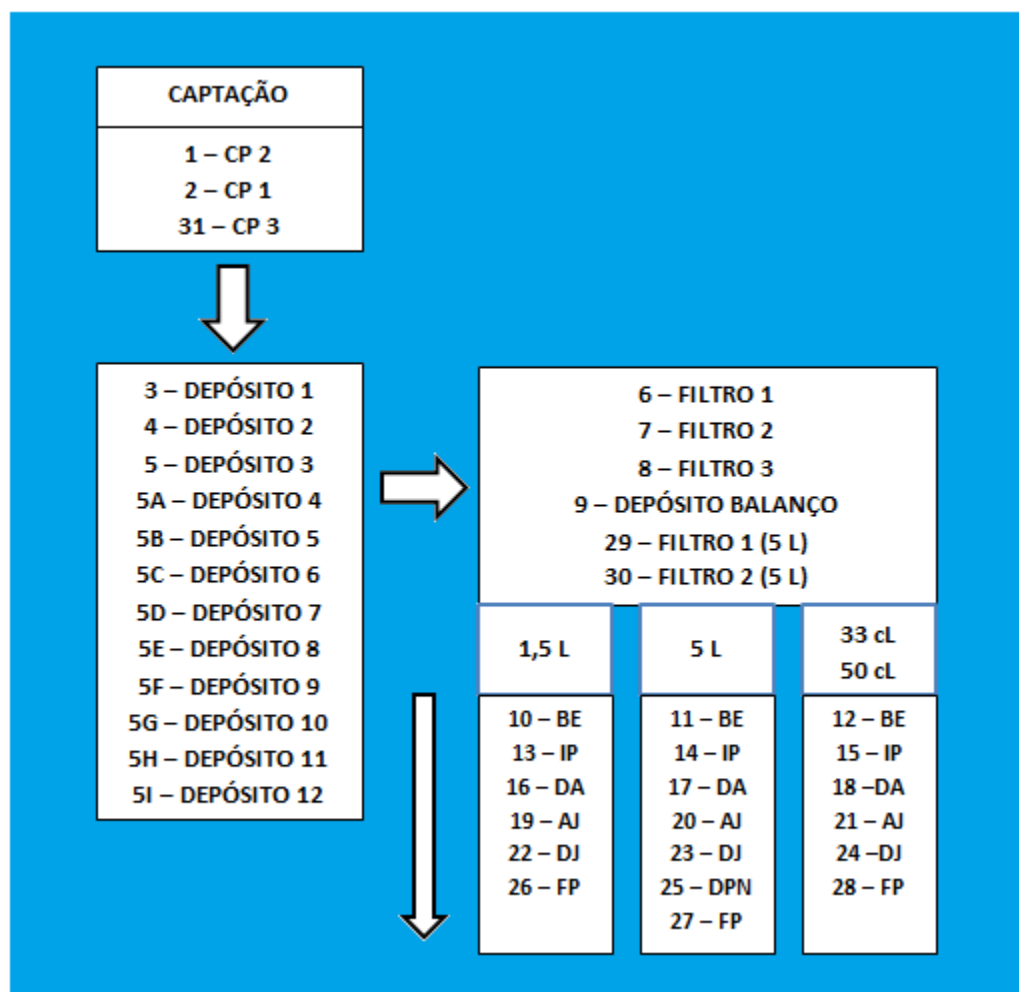
Existem várias etapas envolvidas no processo de engarrafamento de água, desde a sua captação através de furos e o seu armazenamento em depósitos. Seguindo-se o seu bombeamento por tubagens até à sala de enchimento onde a água é transformada em produto acabado e por fim transportado para o armazém. De todas estas etapas a mais importante é sem dúvida a etapa do enchimento, pois é aqui que a água contacta com mais materiais, podendo ocorrer uma contaminação.

Quer a enchedora e a capsuladora, quer a própria embalagem PET e a cápsula, podem levar à alteração da composição e qualidade do produto acabado. Como tal, existe uma elevada necessidade de higienização nesta fase do processo produtivo, mais concretamente a enchedora, visto ser esta que contacta mais tempo com a água podendo levar ao aumento de microrganismos. É na enchedora que se encontra a maior parte dos factores que podem levar ao aumento de microrganismos na água, desde zonas onde os produtos de desinfecção não chegam à probabilidade da formação de biofilme, já que não existe um escoamento contínuo.

Para que haja uma diminuição destes factores é necessário uma devida formação das operadoras da enchedora, a obrigatoriedade de vestuário adequado e processos de limpeza e desinfecção diários.

Por forma, a controlar a qualidade da água, existe um plano de análises microbiológicas realizadas ao longo de todo o processo produtivo. Este plano consiste em retirar amostras de água em diversos pontos de amostragem, ao longo de todo o processo produtivo, para análises microbiológicas realizadas no laboratório interno da empresa.

Na figura seguinte são apresentados os pontos de amostragem ao longo de todo o processo produtivo da empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*.



**Figura 1.6 - Pontos de amostragem ao longo do processo produtivo para análises microbiológicas no laboratório interno da empresa (CP – captação; BE – bico da enchedora; IP – início de produção; DA – depois de almoço; AJ – antes de jantar; DJ – depois de jantar; DPN – depois da pausa nocturna; FP – final de produção).**

O método de recolha de amostras é realizado de acordo com a técnica apresentada no *Anexo C*.

A recolha de amostras nos pontos de amostragem relativos à captação (CP) e depósitos é realizada diariamente à mesma hora no período da manhã. A recolha relativa aos pontos de amostragem desde os filtros até aos bicos da enchedora (BE) é realizada diariamente antes do início de produção. As recolhas realizadas nos seguintes pontos de amostragem correspondem a recolhas de produtos acabados para todos os formatos. O ponto de amostragem relativo ao início de produção (IP) é o primeiro produto a sair da enchedora que não apresenta desinfetante. O ponto de amostragem referente ao depois de almoço (DA) corresponde à

recolha de produto acabado para análise depois do período de almoço. Os pontos de amostragem relativos ao antes de jantar (AJ) e depois de jantar (DJ) correspondem à recolha de produto acabado para análise antes e depois do período de jantar, respectivamente. O ponto de amostragem depois da pausa nocturna (DPN) corresponde à recolha de amostra para análise depois do período de pausa nocturna, esta recolha neste ponto só acontece quando existe produção das 0 horas às 8 horas. O ponto de amostragem relativo ao final de produção (FP) corresponde à recolha de produto acabado no final de produção, ou seja, o último produto a sair da enchedora.

A recolha nos pontos de amostragem e posterior análise microbiológica dentro da captação e dos depósitos é feita de forma alternada, visto estes pontos de amostragem serem antes do tratamento por filtração não existindo assim a necessidade de fazer um acompanhamento diário.





**[CAPÍTULO 2]**

**TRABALHO REALIZADO AO LONGO DO ESTÁGIO**

## 2. TRABALHO REALIZADO AO LONGO DO ESTÁGIO

O trabalho desenvolvido ao longo do estágio na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* focou-se maioritariamente no controlo microbiológico diário da água desde o ponto de captação até ao produto final. Durante este período de estágio foi possível, ainda, participar no processo de desinfeção das linhas de produção através do Sistema CIP (*Cleaning In Place*).

No âmbito do controlo de qualidade efectuou-se, ainda, o controlo microbiológico a superfícies, manipuladores (colaboradores), ambiente, pré-formas e cápsulas. O objectivo deste controlo era tentar perceber, evitar e controlar a eventual contaminação da água pela propagação de microrganismos existentes nestes meios. Este estudo incidiu apenas num curto período de tempo de estágio, não sendo possível acompanhá-lo na totalidade e, como tal, não é apresentado neste relatório de estágio.

Paralelamente ao trabalho realizado em torno do controlo de qualidade foi também desenvolvido e melhorado o sistema que possibilita controlar o consumo de água, a produção de produto acabado e as perdas e quebras. O principal objectivo desta parte do trabalho era compreender todo o processo de produção e tentar implementar medidas que permitissem a sua optimização. Este objectivo passava por estudar a evolução da produção de produto acabado nas diferentes linhas (5 L, 1,5 L e 33 cL/50 cL) ao longo do mês e posteriormente ao longo do ano. Além disso, tentou-se também perceber em quais das secções da fábrica havia uma maior percentagem de perdas e quebras e qual o motivo para o sucedido.

### 2.1. Controlo microbiológico efectuado aos pontos de amostragem

Como foi mencionado anteriormente, na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* existe um plano de análises microbiológicas realizadas ao longo de todo o processo produtivo. Este plano consiste em retirar amostras de água em diversos pontos de amostragem ao longo do processo produtivo.

Na tabela que se segue apresenta-se o número de amostras recolhidas para cada ponto de amostragem no período de 3 de Janeiro a 30 de Junho de 2013. Para cada amostra recolhida foram realizadas análises aos microrganismos totais a 22 e 37 °C, clostrídios sulfito-redutores, coliformes totais e fecais, *Enterococos* e *Pseudomonas aeruginosa*.

**Tabela 2.1 - Número de amostras recolhidas e total de análises microbiológicas realizadas para cada ponto de amostragem no período de 3 de Janeiro a 30 de Junho de 2013.**

Ponto de amostragem	Número de amostras recolhidas	Total de análises microbiológicas realizadas
CP 1	66	396
CP 2	73	438
CP 3	86	516
Dep. 1	50	300
Dep. 2	21	126
Dep. 3	24	144
Dep. 4	25	150
Dep. 5	25	150
Dep. 6	25	150
Dep. 7	21	126
Dep. 8	24	144
Dep. 9	25	150
Dep. 10	25	150
Dep. 11	25	150
Dep. 12	21	126
Filtro 1	70	420
Filtro 2	25	150
Filtro 3	46	276
Filtro 1 (5 L)	52	312
Filtro 2 (5 L)	68	408
Dep. B	71	426
BE <sub>1,5 L</sub>	26	156
BE <sub>5 L</sub>	26	156
BE <sub>33 cL/50 cL</sub>	29	174
O plano de controlo microbiológico é igual para os pontos de amostragem IP <sub>1,5 L</sub> , IP <sub>5 L</sub> , IP <sub>33 cL/50 cL</sub> , DA <sub>1,5 L</sub> , DA <sub>5 L</sub> , DA <sub>33 cL/50 cL</sub> , DJ <sub>1,5 L</sub> , DJ <sub>5 L</sub> , DJ <sub>33 cL/50 cL</sub> , DPN <sub>5 L</sub> , FP <sub>1,5 L</sub> , FP <sub>5 L</sub> e FP <sub>33 cL/50 cL</sub> .	101*	606*

*Nota: \* refere-se ao número de amostras recolhidas para cada um dos pontos de amostragem (IP<sub>1,5 L</sub>, IP<sub>5 L</sub>, IP<sub>33 cL/50 cL</sub>, DA<sub>1,5 L</sub>, DA<sub>5 L</sub>, DA<sub>33 cL/50 cL</sub>, DJ<sub>1,5 L</sub>, DJ<sub>5 L</sub>, DJ<sub>33 cL/50 cL</sub>, DPN<sub>5 L</sub>, FP<sub>1,5 L</sub>, FP<sub>5 L</sub> e FP<sub>33 cL/50 cL</sub>).*

Conforme se pode observar na Tabela 2.1 o número de análises microbiológicas realizadas é extremamente elevado, pelo que só serão representados os gráficos com a média mensal e o respectivo desvio padrão para cada ponto de amostragem.

Optou-se, ainda, por representar apenas o número de colónias a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação, não sendo representadas as análises microbiológicas realizadas relativas aos clostrídios sulfito-redutores, coliformes totais e fecais, *Enterococos* e *Pseudomonas aeruginosa*, pois de acordo com o Artigo 4º do DL nº 156/98 as contagens de colónias nestas análises têm que ser obrigatoriamente zero, tendo-se verificado que todas as análises realizadas respeitaram este requisito.

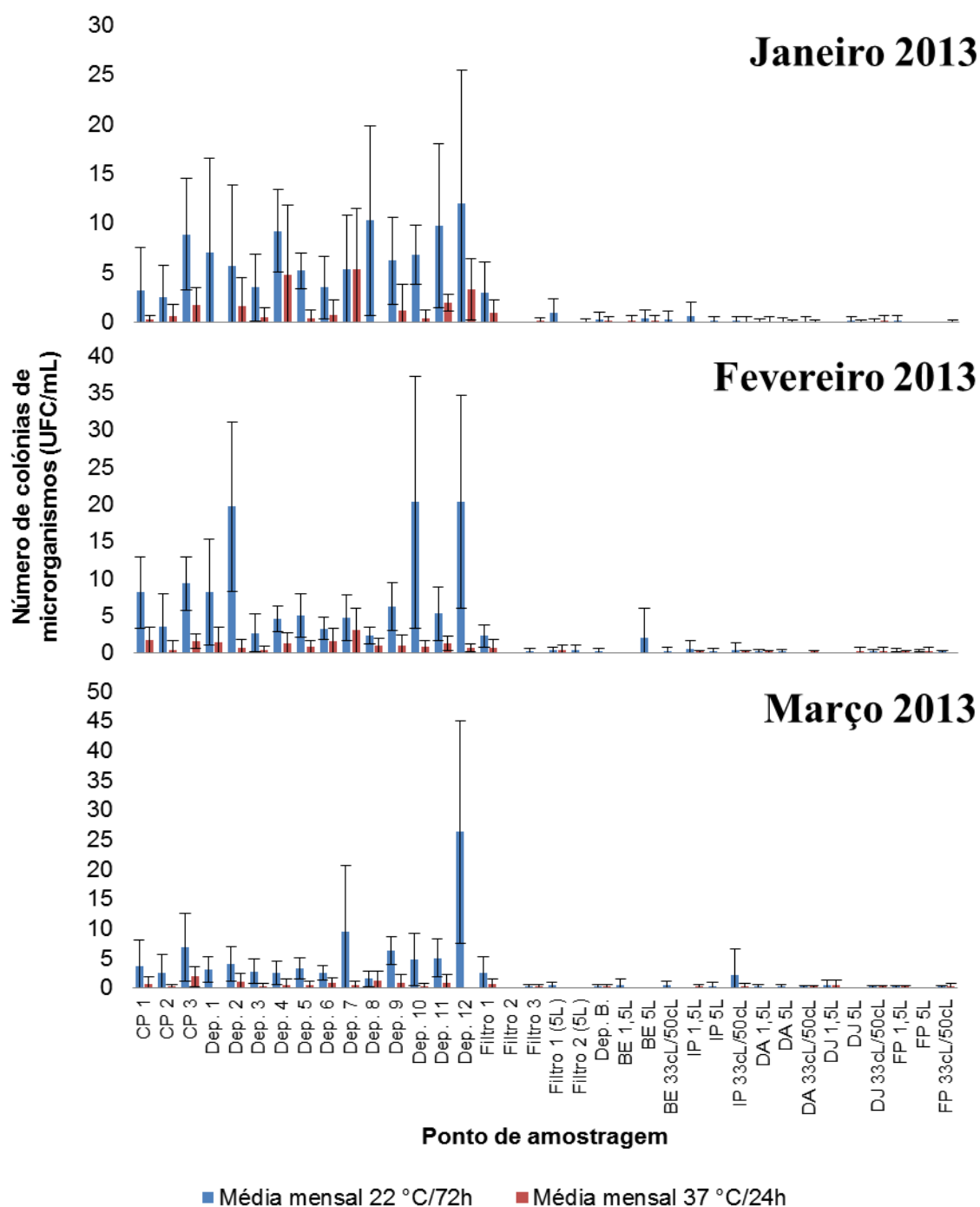
A técnica utilizada na determinação do número de colónias de microrganismos viáveis a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação baseia-se na técnica descrita na norma ISO 6222, designada sementeira por incorporação. De forma sucinta, a metodologia utilizada foi a seguinte:

- Recolha de amostras, em frascos esterilizados, com atenção para o uso de luvas e para a não exposição do frasco de recolha de amostra e do seu conteúdo ao meio ambiente;
- Introduzir 1 mL de amostra (inóculo) numa Caixa de Petri esterilizada;
- Adicionar o meio *Yeast Extract Agar*, previamente fundido e arrefecido a 47 °C. Agitar a placa, com movimentos em forma de oito, para uma boa homogeneização da amostra e deixar solidificar;
- Inverter a Caixa de Petri e colocar a incubar durante 24 horas a 37 °C para os microrganismos termófilos e durante 72 horas a 22 °C para os mesófilos;
- Efectuar a contagem do número de colónias, expressando o resultado em UFC/mL.

Nos *Anexos D* serão apresentados os restantes protocolos experimentais utilizados nas restantes análises microbiológicas.

O período de estudo abarcou os meses compreendidos entre Janeiro e Junho, como já foi mencionado anteriormente. No *Anexo E* encontram-se apresentados os gráficos e tabelas com os dados utilizados na elaboração de todos os gráficos apresentados neste capítulo. De notar que não se encontram representados os pontos de amostragem referentes aos pontos 19 (AJ<sub>1,5L</sub>), 20 (AJ<sub>5L</sub>) e 21 (AJ<sub>33cL/50cL</sub>), pois durante este período não foram feitas recolhas nestes pontos de amostragem, uma vez que o volume de produção era de tal forma elevado que deixou de se proceder à recolha desta amostra, devido a produção não ser interrompida. Também durante os meses de Janeiro, Fevereiro, Março e Abril não se encontra representando o ponto 25 (DPN<sub>5L</sub>) pois durante esse período não ocorreu produção nocturna.

Na Figura 2.1 apresentam-se os gráficos com a média mensal e respectivo desvio padrão dos pontos de amostragem para os meses de Janeiro, Fevereiro e Março.



**Figura 2.1 - Média mensal e respectivo desvio padrão dos pontos de amostragem para os meses de Janeiro, Fevereiro e Março.**

Durante os meses observados na Figura 2.1, como seria de esperar, em nenhum dos pontos de amostragem se ultrapassou os valores legais permitidos no Artigo 4º do DL nº 156/98, que é de 20 UFC/mL a 37 °C após 24 horas de incubação e 100 UFC/mL a 22 °C após 72 horas de incubação.

Os microrganismos a 22 °C exibem, na totalidade dos casos, valores médios mais elevados comparativamente com os microrganismos que se desenvolvem a 37 °C, sendo o maior número médio observado de 26 UFC/mL a 22 °C no ponto de amostragem relativo ao depósito 12 (Dep. 12) para o mês de Março e o maior número médio a 37 °C observado de 5 UFC/mL para o ponto de amostragem referente ao depósito 7 (Dep. 7) no mês de Janeiro.

Observa-se que existe um maior número de UFC/mL nos pontos de amostragem relativos à captação e aos depósitos, isto acontece porque é na captação que existe um maior contacto da água com matéria orgânica e nos depósitos onde a água se encontra parcialmente estagnada.

No mês de Janeiro, globalmente os resultados mais elevados são no depósito 8, 11 e 12. No mês de Fevereiro os resultados mais elevados são no depósito 2, 10 e 12. Nos meses de Março os resultados mais elevados observam-se no depósito 12.

Nos três meses apresentados na Figura 2.1, no geral os meses que apresentam os resultados mais elevados são os meses de Janeiro e Fevereiro, pois, foi nestes meses que existiu uma menor produção, ou seja, houve um menor consumo de água, podendo ocorrer a estagnação de água nos depósitos e até mesmo em certas secções das tubagens.

Na Figura 2.2 apresentam-se os gráficos com a média mensal e respectivo desvio padrão dos pontos de amostragem para os meses de Abril, Maio e Junho.

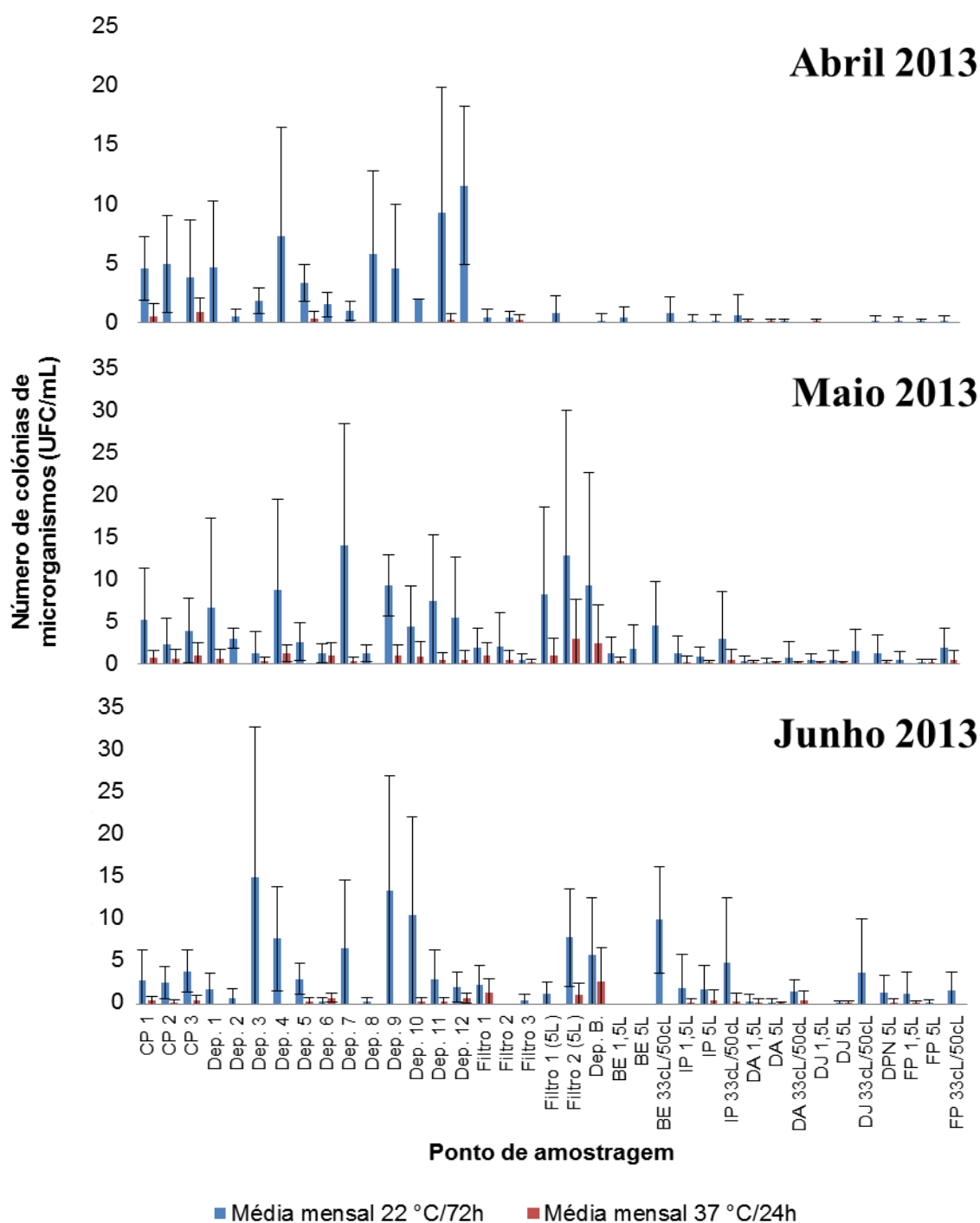


Figura 2.2 - Média mensal e respectivo desvio padrão dos pontos de amostragem para os meses de Abril, Maio e Junho.

Como aconteceu nos primeiros três meses estudados, nos meses apresentados na Figura 2.2, não se detectaram, em nenhum dos pontos de amostragem, valores superiores aos legalmente permitidos no Artigo 4º do DL nº 156/98, que é de 20 UFC/mL a 37 °C após 24 horas de incubação e 100 UFC/mL a 22 °C após 72 horas de incubação, como seria de esperar.

Verifica-se mais uma vez que os microrganismos a 22 °C exibem, na totalidade dos casos, valores médios mais elevados comparativamente com os microrganismos que se desenvolvem a 37 °C, sendo o maior número médio observado 15 UFC/mL a 22 °C no ponto de amostragem relativo ao depósito 3 (Dep. 3) para o mês de Junho e o maior número médio a 37 °C observado de 3 UFC/mL para o ponto de amostragem referente ao Filtro 2 (5L) no mês de Maio.

No mês de Abril, globalmente os resultados mais elevados são no depósito 11 e 12. No mês de Maio, os resultados mais elevados observam-se no depósito 7 e 8, no Filtro 2 (5 L) e no depósito balanço (Dep. B.). Por fim, no mês de Junho, os resultados mais elevados observam-se no depósito 3, 9 e 10 e na boca da enchedora da linha de 50 cL (BE 50 cL).

Nos três meses apresentados na Figura 2.2, como já acontecia nos primeiros três meses estudados, existe um maior número de de UFC/mL nos pontos de amostragem relativos à captação e aos depósitos, pois, na captação existe um maior contacto da água com matéria orgânica e nos depósitos existe a probabilidade da água se encontrar parcialmente estagnada.




Observa-se ainda, que quando ocorre um aumento da produção (Maio e Junho), ocorre também um aumento de UFC/mL no produto acabado comparativamente aos meses onde a produção é bastante menor (de Janeiro a Abril). Tal aumento consegue-se explicar com a eficiência dos filtros (Filtro 1, 2 e 3), ou seja, com o aumento de caudal de água consumido existe uma diminuição da eficiência dos filtros. No entanto, os filtros utilizados na empresa apresentam no geral uma eficiência bastante elevada (acima dos 90%), visto haver uma diminuição abrupta do número de UFC/mL com a passagem da água pelos filtros.

Através dos resultados obtidos nos seis meses de estudo, observou-se que a linha de produção relativa aos produtos de 33 cL e de 50 cL apresenta maior número de de UFC/mL. Tal acontece, porque esta linha contém máquinas com maior sensibilidade a manutenções e a avarias que levam a paragens e a intervenção humana.

De notar, que durante os meses estudados também houve vários factores externos que influenciaram no aumento do número de UFC/mL ao longo de todo o processo produtivo, tais como, manutenções correctivas ou preventivas. As manutenções levam a que haja intervenção humana e a paragens de produção, o que pode levar a um aumento de UFC/mL



### 2.1.1. Análise da tendência

A análise da tendência do número de UFC/mL observados em cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo produtivo para os seis meses, foi efectuada através da determinação da mediana para cada ponto de amostragem. Os resultados obtidos são apresentados nas tabelas seguintes, em que “N” corresponde ao número de análises mensais para cada ponto de amostragem e, a mediana corresponde ao valor dos 50% da distribuição de resultados das análises microbiológicas dos microrganismos a 22 °C, visto serem estes os microrganismos que aparecem em maior número e que maior indicação apresenta. O símbolo = indica que não existe alteração da tendência em relação ao mês anterior, o símbolo  indica que existe uma diminuição do valor da mediana em relação ao mês anterior, logo existe uma tendência negativa, indicando assim uma diminuição do número de microrganismos (caso que interessa), símbolo  indica que existe um ligeiro aumento do valor da mediana em relação ao mês anterior, e o símbolo  indica que existe um aumento abrupto do valor da mediana em relação ao mês anterior, indicando um grande aumento do número de UFC/mL (caso que não interessa).

Na Tabela 2.2 apresenta-se a tendência dos pontos de amostragem referentes aos pontos de captação.

**Tabela 2.2 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos pontos de captação ao longo dos seis meses de estudo.**

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho
CP 1	N	12	11	10	11	12	10
	Mediana	1	8	1,5	5	3,5	1,5
	Tendência						
CP 2	N	12	11	10	13	13	12
	Mediana	2	2	1	4	2	2
	Tendência		=				=
CP 3	N	15	13	14	15	16	13
	Mediana	7	8	5,5	2	2,5	4
	Tendência						

Na Tabela 2.3 é apresentada a tendência dos pontos de amostragem referentes aos depósitos.

**Tabela 2.3 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos depósitos ao longo dos seis meses de estudo.**

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho
Dep. 1	N	9	8	8	8	9	8
	Mediana	3	5	3	3	2	1,5
	Tendência	↘	↗	↘	=	↘	↘
Dep. 2	N	3	3	4	4	4	3
	Mediana	2	23	3,5	0,5	3	0
	Tendência	=	↗	↘	↘	↗	↘
Dep. 3	N	4	3	4	5	4	4
	Mediana	3	3	2,5	2	0	8,5
	Tendência	=	=	↘	↘	↘	↗
Dep. 4	N	5	4	4	4	4	4
	Mediana	10	4,5	3	3	5	6
	Tendência	↗	↘	↘	=	↗	↗
Dep. 5	N	5	4	4	3	5	4
	Mediana	6	5	3,5	3	2	3
	Tendência	↗	↘	↘	↘	↘	↗
Dep. 6	N	4	4	4	4	5	4
	Mediana	3,5	4	2,5	1	1	0
	Tendência	↘	↗	↘	↘	=	↘
Dep. 7	N	3	3	4	4	4	3
	Mediana	5	4	5	1	9	2
	Tendência	=	↘	↗	↘	↗	↘
Dep. 8	N	4	3	4	5	4	4
	Mediana	9	3	1,5	4	1,5	0
	Tendência	↗	↘	↘	↗	↘	↘
Dep. 9	N	5	4	4	4	4	4
	Mediana	6	5	7	3	8,5	9
	Tendência	↘	↘	↗	↘	↗	↗
Dep. 10	N	5	4	4	3	5	4
	Mediana	8	20,5	3,5	2	4	5,5
	Tendência	↗	↗	↘	↘	↗	↗
Dep. 11	N	4	4	4	4	5	4
	Mediana	8,5	4,5	4,5	6,5	4	3
	Tendência	↗	↘	=	↗	↘	↘
Dep. 12	N	3	3	4	4	4	3
	Mediana	8	17	24,5	9,5	2,5	1,0
	Tendência	↗	↗	↗	↘	↘	↘
Depósito Balanço	N	12	11	12	12	13	11
	Mediana	0	0	0	0	3	1
	Tendência	=	=	=	=	↗	↘

Na Tabela 2.4 é apresentada a tendência dos pontos de amostragem referentes aos filtros, tanto como dos filtros do tratamento físico da água como dos filtros da enchedora da linha de 5 L.

**Tabela 2.4 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos filtros ao longo dos seis meses de estudo.**

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho
<b>Filtro 1</b>	<b>N</b>	12	11	12	11	13	11
	<b>Mediana</b>	3	3	2,5	0	1	2
	<b>Tendência</b>	=	=	↘	↘	↗	↗
<b>Filtro 2</b>	<b>N</b>	4	4	4	5	4	4
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>Filtro 3</b>	<b>N</b>	8	7	7	7	9	7
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>Filtro 1 (5L)</b>	<b>N</b>	8	7	8	8	9	12
	<b>Mediana</b>	0,5	0	0	0	5	0,5
	<b>Tendência</b>	↘	=	=	=	↗	↘
<b>Filtro 2 (5L)</b>	<b>N</b>	12	10	10	12	13	11
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	6	7
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	↗

Na Tabela 2.5 é apresentada a tendência dos pontos de amostragem referentes aos bicos das enchedoras das três linhas.

**Tabela 2.5 - Tendência dos pontos de amostragem referentes aos bicos das enchedoras ao longo dos seis meses de estudo.**

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho
<b>BE<sub>1,5L</sub></b>	<b>N</b>	5	4	4	5	4	4
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0,5	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	↘
<b>BE<sub>5L</sub></b>	<b>N</b>	5	4	4	5	4	4
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0,5	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	↘
<b>BE<sub>33cL/50cL</sub></b>	<b>N</b>	6	4	4	5	6	4
	<b>Mediana</b>	0	0	0,5	0	3	11
	<b>Tendência</b>	=	=	↗	↘	↗	↗

Na Tabela 2.6 é apresentada a tendência dos pontos de amostragem referentes ao produto acabado (1,5 L, 5 L e 33 cL/50 cL) ao longo de um dia de produção.

**Tabela 2.6 - Tendência dos pontos de amostragem referentes ao produto acabado ao longo dos seis meses de estudo.**

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maiο	Junho
<b>IP<sub>1,5L</sub></b>	<b>N</b>	18	14	11	18	22	18
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	1	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	↘
<b>IP<sub>5L</sub></b>	<b>N</b>	20	17	18	19	22	19
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	1	1
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	=
<b>IP<sub>33cL/50cL</sub></b>	<b>N</b>	21	18	20	20	22	19
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	1	1
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	=
<b>DA<sub>1,5L</sub></b>	<b>N</b>	18	17	11	16	18	17
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>DA<sub>5L</sub></b>	<b>N</b>	21	16	16	17	21	18
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>DA<sub>33cL/50cL</sub></b>	<b>N</b>	19	18	20	20	21	18
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	1
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	↗
<b>DJ<sub>1,5L</sub></b>	<b>N</b>	5	7	2	6	18	5
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>DJ<sub>5L</sub></b>	<b>N</b>	20	8	14	15	20	14
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>DJ<sub>33cL/50cL</sub></b>	<b>N</b>	16	18	18	18	20	18
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	1
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	↗
<b>DPN<sub>5L</sub></b>	<b>N</b>	-	-	-	-	18	19
	<b>Mediana</b>	-	-	-	-	0	0
	<b>Tendência</b>	-	-	-	-	=	=
<b>FP<sub>1,5L</sub></b>	<b>N</b>	18	19	11	18	22	18
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>FP<sub>5L</sub></b>	<b>N</b>	20	17	18	20	19	15
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	0	0
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	=	=
<b>FP<sub>33cL/50cL</sub></b>	<b>N</b>	21	18	20	20	12	12
	<b>Mediana</b>	0	0	0	0	1	1
	<b>Tendência</b>	=	=	=	=	↗	=

Após a análise das tabelas anteriores, verifica-se que a maior variação de tendência ao longo dos seis meses de estágio foi observada nos pontos de amostragens relativos à captação, uma vez que é na captação que ocorre o contacto maior entre água com factores externos (exemplo: solo, matéria orgânica, etc.). Observa-se também uma variação nos pontos de amostragens relativos aos depósitos, sendo esta mais acentuada a partir do Depósito 9, pois são nestes que ocorre uma menor circulação de água, podendo conduzir a uma maior probabilidade de haver crescimento microbiológico. Como seria de esperar, nos filtros verifica-se uma pequena variação, no entanto não é muito significativa, uma vez que a água procede do Depósito 1, onde está constantemente a renovar-se. A partir dos filtros, não existem variações da tendência a registrar, tal facto deve-se a um tratamento físico eficaz proporcionado pelos filtros (eficiência acima dos 90 %).

### **2.1.2. Análise multivariável**

Com vista a reduzir o número de variáveis estudadas, foi aplicada a Técnica Estatística de Análise Factorial de Componentes Principais ao conjunto de resultados obtidos através das análises microbiológicas efectuadas à água ao longo do processo de engarrafamento. Esta técnica foi aplicada recorrendo ao *software* SPSS (IBM® SPSS® STATISTICS, versão 21). Não foi possível aplicar o teste de *Kaiser-Meyer-Olkin* (KMO), o qual permite medir a adequação das variáveis à técnica estatística e permite inferir a adequação da aplicação desta técnica estatística ao conjunto de amostras, porque a matriz de correlações é negativa (NPD), uma vez que apresenta mais variáveis em análise do que casos, pelo que a matriz de correlações terá dependências lineares e será negativa (Field, 2000).

As variáveis utilizadas para a análise de estatística multivariável foram o número de UFC/mL a 22 °C ao fim de 72 horas obtidos das análises microbiológicas realizadas nos pontos de amostragem ao longo de todo o processo de engarrafamento, pois são estes os microrganismos que aparecem em maior número e que maior relevo têm, a temperatura da água nos pontos de amostragem relativos aos pontos de captação e depósitos, o pH da água nos pontos de amostragem relativos aos pontos de captação, a humidade relativa (HR) e a temperatura ambiente.

A aplicação desta técnica permitiu verificar que 8 componentes principais apresentam valores próprios superiores à unidade, e que o conjunto das 8 componentes principais identificadas permite explicar 74,9 % da variância observada nos ensaios. Na Tabela 2.7 apresenta-se a matriz das 8 componentes principais consideradas, rodadas pelo método de Varimax, em que cada valor (*factor loadings*) representa a correlação entre a variável e a componente principal. Nos *Anexos F* apresentam-se os resultados globais antes e após a rotação.

Tabela 2.7 - Matriz de Componentes Rodada pelo Método Varimax com normalização de Kaiser.

	Componente								Comunalidade
	1	2	3	4	5	6	7	8	
CP 1 22 °C							<b>0,693</b>		0,866
CP 1 pH		0,495				0,542			0,901
CP 1 Temp.	0,406		<b>0,792</b>						0,908
CP 2 22 °C			-0,455						0,922
CP 2 pH		0,432						-0,554	0,849
CP 2 Temp.		<b>0,673</b>	0,593						0,965
CP 3 22 °C	-0,427						0,496		0,820
CP 3 pH									0,913
CP 3 Temp.		0,496	<b>0,698</b>						0,959
Dep. 1 22 °C			-0,539						0,820
Dep. 1 Temp.	0,453		<b>0,762</b>						0,900
Dep. 2 22 °C							<b>0,690</b>		0,904
Dep. 2 Temp.	<b>0,832</b>								0,960
Dep. 3 22 °C					<b>0,863</b>				0,922
Dep. 3 Temp.	<b>0,913</b>								0,984
Dep. 4 22 °C		<b>0,705</b>							0,848
Dep. 4 Temp.	<b>0,906</b>								0,978
Dep. 5 22 °C									0,896
Dep. 5 Temp.	<b>0,912</b>								0,936
Dep. 6 22 °C	-0,629								0,840
Dep. 6 Temp.	<b>0,952</b>								0,972
Dep. 7 22 °C								<b>0,817</b>	0,895
Dep. 7 Temp.	<b>0,875</b>								0,937
Dep. 8 22 °C									0,852
Dep. 8 Temp.	<b>0,907</b>								0,977
Dep. 9 22 °C					<b>0,755</b>				0,923
Dep. 9 Temp.	<b>0,870</b>								0,961
Dep. 10 22 °C				<b>0,811</b>					0,858
Dep. 10 Temp.	<b>0,931</b>								0,989
Dep. 11 22 °C								<b>0,603</b>	0,794
Dep. 11 Temp.	<b>0,940</b>								0,973
Filtro 2 22 °C		<b>0,907</b>							0,943
Filtro 3 22 °C				0,459				<b>0,601</b>	0,858
Filtro 2 (5L) 22 °C		<b>0,764</b>							0,952
BE <sub>1,5L</sub> 22 °C						<b>0,758</b>			0,836
BE <sub>33cL/50cL</sub> 22 °C	0,544				<b>0,685</b>				0,988
IP <sub>5L</sub> 22 °C	0,406				<b>0,713</b>				0,987
IP <sub>33cL/50cL</sub> 22 °C				0,489			-0,404		0,787
DA <sub>1,5L</sub> 22 °C				<b>0,705</b>					0,832
DA <sub>5L</sub> 22 °C					0,584				0,925
DA <sub>33cL/50cL</sub> 22 °C	0,566				0,478				0,960
DJ <sub>1,5L</sub> 22 °C									0,862
DJ <sub>5L</sub> 22 °C						<b>0,789</b>			0,959
DJ <sub>33cL/50cL</sub> 22 °C	0,543			<b>0,615</b>					0,971

**Continuação**

	Componente								Comunalidade
	1	2	3	4	5	6	7	8	
<b>FP<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,441	0,427							0,887
<b>FP<sub>5L</sub> 22 °C</b>		0,541		<b>0,623</b>					0,933
<b>FP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,570				0,411				0,976
<b>Água Cons.<sub>5L</sub></b>			<b>0,613</b>						0,903
<b>Água Cons.<sub>1,5L</sub></b>	<b>0,655</b>						0,516		0,939
<b>Água Cons.<sub>33cL/50cL</sub></b>	0,596								0,964
<b>Temp.<sub>ambiente</sub></b>	<b>0,794</b>			0,465					0,978
<b>HR</b>				-0,557					0,875
<b>Valores próprios</b>	13,93	4,71	4,22	4,01	3,82	2,88	2,72	2,63	38,93
<b>% da variância total explicada</b>	26,78	9,06	8,12	7,71	7,35	5,55	5,23	5,05	74,9

*NOTA: Apenas se apresentam os factor loadings superiores a 0,4, sendo que os mais significativos, com valor superior a 0,6, se encontram a negrito.*

Na matriz indicam-se, ainda, as comunalidades das variáveis, que indicam a proporção da variância explicada pelas componentes principais e correspondem à soma dos quadrados dos *factor loadings* de cada variável. Os valores próprios, que correspondem à soma dos quadrados dos *factor loadings*, medem a variância explicada pela respectiva componente.

Analisando os resultados da aplicação da Análise de Componentes Principais, verifica-se que à componente 1 se correlacionam essencialmente a temperatura da água nos depósitos e a temperatura ambiente, ou seja, o aumento da temperatura ambiente leva a um aumento da temperatura da água que se encontra nos depósitos, pois estes encontram-se no exterior. Verifica-se também que a temperatura da água do depósito 1 (Dep. 1 Temp.) é a menos sujeita à temperatura ambiente, pois é neste depósito que o tempo de residência da água é menor. Observa-se que a temperatura do ponto de captação 1 (CP 1 Temp.) é pouco sujeito à temperatura ambiente, isto deve-se essencialmente a uma maior circulação de água neste ponto. Contrariamente ao que era esperado, no depósito 6 e no ponto de captação 3 observou-se uma diminuição do número de UFC/mL presente na água com o aumento da temperatura ambiente. Tal facto é corroborado com as análises microbiológicas efectuadas a estes pontos de amostragem, o que leva a crer que a temperatura ambiente não é um factor crítico no aumento do número de UFC/mL. Curiosamente, na componente 1, verifica-se uma razoável correlação entre todas as análises realizadas em pontos de amostragem associados à linha de 33 cL/50 cL, o que pode ser justificado com o aumento de produção desta linha, originando um maior número de intervenções exteriores (avarias/manutenções) como se verificou no período de estágio, estas intervenções levam a uma maior probabilidade de ocorrer estagnação da água nas tubagens associadas a esta linha levando a um pequeno aumento no número de UFC/mL. Sempre que o consumo de água aumenta na linha de 1,5 L o número de

microrganismos a 22 °C tende a aumentar no final da produção (FP<sub>1,5L</sub> 22 °C), o que se verificou nas análises microbiológicas realizadas a este ponto de amostragem, denotando-se, no entanto, que este aumento não foi significativo.

A componente 2 correlaciona-se com a temperatura da água do ponto de captação 2 (CP 2 Temp.), levando a um aumento do pH da água nesse ponto (CP 2 pH), pois o aumento da temperatura conduz ao aumento do pH. Existe também uma correlação da componente 2 com o pH do ponto de captação 1 (CP 1 pH) e a temperatura do ponto de captação 3 (CP 3 Temp.), aferindo-se também que as condições da água (temperatura e pH) dos pontos de captação tendem a evoluir de forma semelhante. Observou-se também um aumento do número de UFC/mL nos pontos de amostragem relativos aos filtros (Filtro 2 22 °C e Filtro 2 (5L) 22 °C), levando conseqüentemente, a um pequeno aumento do número de UFC/mL nos pontos de amostragem relativos ao final de produção da linha de 1,5 L (FP<sub>1,5L</sub> 22 °C) e da linha de 5 L (FP<sub>5L</sub> 22 °C), isto deve-se à baixa produção, pois também existe um aumento do número de UFC/mL no depósito 4 (Dep. 4 22 °C) derivado da água se encontrar mais sujeita à estagnação devido à baixa produção.

A componente 3 correlaciona-se essencialmente com o aumento do consumo de água da linha de 5 L (Água Cons.<sub>5L</sub>), sendo que este aumento de consumo está associado a um aumento de temperatura ambiente, que se pode verificar através do aumento da temperatura da água no depósito 1 (Dep. 1 Temp.) e nos três pontos de captação (CP 1 Temp., CP 2 Temp. e CP 3 Temp.). Este aumento de consumo na linha de 5 L leva a uma diminuição do número de UFC/mL no depósito 1 (Dep. 1 22 °C) e no ponto de captação 2 (CP 2 22 °C), pois ocorre uma constante renovação da água nos depósitos e um aumento do caudal de captação no ponto de captação 2.

A componente 4 correlaciona-se com o aumento da temperatura ambiente (Temp.<sub>ambiente</sub>) e com a diminuição da humidade relativa (HR), levando a que haja um aumento do número de UFC/mL no depósito 10 (Dep. 10 22 °C), como consequência do aumento do número de UFC/mL no depósito 10, existe um aumento do número de UFC/mL no filtro 3 (Filtro 3 22 °C) e nos pontos de amostragem relativos a produto acabado (IP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C, DA<sub>1,5L</sub> 22 °C, DJ<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C e FP<sub>5L</sub> 22 °C), este aumento do número de UFC/mL foi possível de observar nas análises microbiológicas efectuadas a esses pontos de amostragem nos dias de maior temperatura ambiente e menor humidade relativa do ar.

A componente 5 correlaciona-se com o aumento do número de UFC/mL depósito 3 e 9 (Dep. 3 22 °C e Dep. 9 22 °C), a que se encontra associado o número de microrganismos no bico da enchedora da linha de 33 cL/50 cL (BE<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C) e no início de produção da linha de 5 L (IP<sub>5L</sub> 22 °C), levando a um aumento do número de UFC/mL nas análises efectuadas ao produto acabado depois do almoço e no final de produção para a linha de 33 cL/50 cL



(DA<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C e FP<sub>33cL/50Cl</sub> 22 °C) e, ainda, ao produto acabado depois de almoço na linha de 5 L (DA<sub>5L</sub> 22 °C).

A componente 6 correlaciona-se com o aumento do número de UFC/mL no bico da enchedora na linha de 1,5 L (BE<sub>1,5L</sub> 22 °C) e no produto acabado depois do jantar na linha de 5 L (DJ<sub>5L</sub> 22 °C), devendo-se possivelmente este aumento do número de UFC/mL ao pequeno aumento do pH no ponto de captação 1 (CP 1 pH), criando desta forma condições ideais na água que justifiquem o aumento de microrganismos.

A componente 7 correlaciona-se com o aumento do número de UFC/mL nos pontos de captação 1 e 3 (CP 1 22 °C e CP 3 22 °C) e consequente aumento do número de UFC/mL no depósito 2 (Dep. 2 22 °C), sendo que este aumento pode ser justificado através do aumento de caudal da captação proporcionado pelo aumento da água consumida na linha de 1,5 L (Água Cons.<sub>1,5L</sub>). Curiosamente verifica-se uma diminuição do número de UFC/mL no início de produção da linha de 33 cL/50 cL (IP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C), sendo que tal está corroborado pelas análises microbiológicas realizadas a esses pontos de amostragem.

A componente 8 correlaciona-se com a diminuição do pH da água no ponto de amostragem relativo ao ponto de captação 2 (CP 2 pH), que leva a um aumento do número de UFC/mL nos pontos de amostragem relativos ao depósito 7 e 11 (Dep. 7 22 °C e Dep. 11 22 °C), e consequentemente, no filtro 3 (Filtro 3 22 °C), podendo este aumento dever-se à diminuição do pH, proporcionando condições favoráveis à proliferação de microrganismos que crescem em águas mais ácida, mais concretamente fungos.

### 2.2. Controlo das perdas e quebras

Paralelamente ao trabalho de controlo microbiológico realizado no laboratório, foi também desenvolvido e melhorado o sistema, que possibilita observar e relacionar o consumo de água com a produção de produto acabado e com as perdas e quebras, utilizando o *software Microsoft Office Excel*. Ao trabalhar com este sistema consegue-se controlar de melhor forma todo o processo de produção e observar de onde resulta o maior número de perdas e de quebras e, consequentemente calcular os custos económicos que resultam destas perdas e quebras. Durante o período de estágio, observou-se que a maior parte das perdas e quebras relacionam-se com falhas mecânicas ao longo do processo de engarrafamento (desde o fabrico da embalagem ao final da linha). As falhas mecânicas dizem respeito principalmente a falhas que acontecem desde o armazenamento da embalagem nos silos até ao paletizador, passando pelas transportadoras, posimat (posicionador das embalagens para o enchimento), enchedoras e pelo túnel (sistema utilizado para colagem do filme no fabrico de packs, 24×50 cL, 24×33 cL, 6×1,5 L, 12×1,5 L e 2×5 L).

As perdas e quebras muitas vezes estão associadas a defeitos que resultam da transformação da pré-forma em embalagem pronta para o engarrafamento de água (exemplo: brancas, furadas, moles, bases), os quais podem ocorrer quando a máquina de sopro por ar comprimido atinja elevadas temperaturas. Podem existir também perdas e quebras associadas aos defeitos na embalagem PET que se observam ao longo de todo o processo produtivo (exemplo: gargalo; amolgadas, etc.).

As perdas e quebras que se observam em maior número resultam do posimat (devido ao mau posicionamento da embalagem), da enchedora (volume de água na garrafa/garrafão insuficiente) e do túnel da linha de 33 cL/50 cL (colagem deficiente do filme no fabrico de packs, levando à perda de filme além de muitas garrafas)

Existem também algumas perdas e quebras ao nível do capsulador e da rotuladora. As que ocorrem no capsulador devem-se principalmente a defeitos nas cápsulas enquanto que na rotuladora devem-se essencialmente à colagem do rótulo (excesso de cola ou colagem deficiente do rótulo) e à impressão defeituosa da referência de produto, lote e/ou validade.

Na Figura 2.3 apresenta-se um esquema do sistema utilizado para controlo das perdas e quebras. De notar que este controlo é feito diariamente e para cada tipo de produto produzido na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*. Este sistema possibilita ainda observar a relação percentual entre as perdas e quebras e o produto fabricado

CONTROLO DE PERDAS E QUEBRAS							
	Dia						TOTAL
QUEBRAS GARRAFAS							
Silos							0,00
Transportadores							0,00
Posimat							0,00
Enchedora							0,00
Rotuladora							0,00
Túnel							0,00
Final de Linha							0,00
Defeito Fabrico							0,00
Desinfecção/Lab							0,00
Total	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
% de Perdas	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Total Garrafas Usadas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total Garrafas Cheias	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total Paletes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
QUEBRAS CÁPSULAS							
Capsulador							0,00
Linha							0,00
Total	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
% de Perdas	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Total Cápsulas Consumidas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
QUEBRAS RÓTULOS							
Rotuladora							0,00
Linha							0,00
Total	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
% de Perdas	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Total Rótulos Consumidos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
QUEBRAS FILME							0,00

Figura 2.3 - Esquema do sistema utilizado para controlo das perdas e quebras.

Depois de contabilizadas todas as perdas e quebras, existe a necessidade de relacionar estes dados com a produção diária. Com objectivo de fazer um controlo da produção foi necessário melhorar certos aspectos no sistema já existente para tornar possível a determinação deste quociente. Este sistema possibilita contabilizar a produção de paletes e, consequentemente o número de garrafas produzidas e os litros de água consumidos, horas de produção totais e horas de produção efectiva, tempos de paragens por avaria eléctrica, avaria mecânica, falha eléctrica, falha da operadora e por falha natural (exemplo: limpezas, remoção de produtos não conformes, etc.), assim como, permite também contabilizar a produtividade de cada turno e a produtividade média diária.

Na Figura 2.4 apresenta-se um esquema do sistema que permite contabilizar a produção total, os tempos de produção, os tempos de paragem e a produtividade por turno e a produtividade média diária. O controlo deste sistema como do anterior é feito diariamente e para cada tipo de produto produzido na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.*.

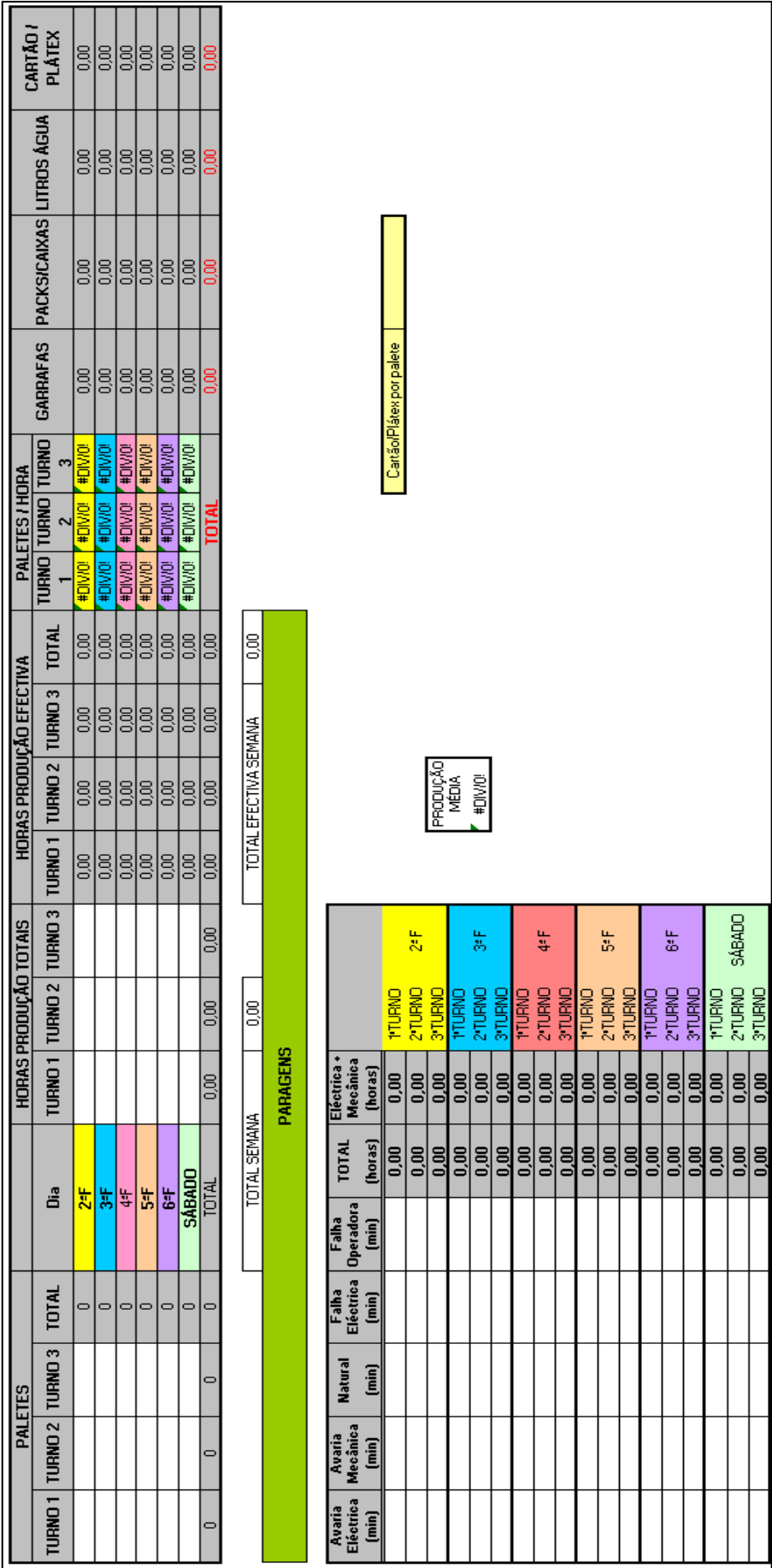


Figura 2.4 - Esquema do sistema que permite contabilizar a produção total, os tempos de produção, os tempos de paragem e a produtividade por turno assim como a produtividade média diária.

De mencionar que o sistema apresentado na Figura 2.4 varia em alguns parâmetros de produto para produto (por exemplo: no modelo utilizado para os produtos da linha de 5 L também é contabilizado o número de asas gastas).

Os custos económicos para a empresa resultantes das perdas e quebras são calculados mensalmente e estão interligados com os sistemas da Figura 2.3 e Figura 2.4. Este sistema permite fazer um acompanhamento mensal desses custos resultantes das perdas e quebras das garrafas e garrações, cápsulas e rótulos e, simultaneamente determinar a sua evolução ao longo do ano. Permite também, calcular o valor acumulado das perdas e quebras e o valor acumulado dos respectivos custos ao longo do ano.

Na Figura 2.5 é apresentado um esquema do sistema que permite calcular os custos económicos das perdas e quebras ao longo do primeiro semestre para o produto 33 cL. De mencionar que este sistema é utilizado para cada tipo de produto produzido na empresa *Águas das Caldas de Penacova, S.A.* não sofrendo alterações entre eles.

PRIMEIRO SEMESTRE													
QUEBRAS 33 cL													
	TOTAL GARRAFAS CHEIAS	TOTAL QUEBRAS	%	TOTAL QUEBRAS ACUMULADO	MÉDIA ANUAL %	TOTAL QUEBRAS	%	TOTAL QUEBRAS ACUMULADO	MÉDIA ANUAL %	TOTAL QUEBRAS	%	TOTAL QUEBRAS ACUMULADO	MÉDIA ANUAL %
JANEIRO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
FEVEREIRO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
MARÇO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
ABRIL	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
MAIO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
JUNHO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!

CUSTO QUEBRAS 33 cL				
	GARRAFAS		CÁPSULAS	
	CUSTO GARRAFAS	CUSTO GARRAFAS ACUMULADO	CUSTO CÁPSULAS	CUSTO CÁPSULAS ACUMULADO
JANEIRO	0 €	0 €	0 €	0 €
FEVEREIRO	0 €	0 €	0 €	0 €
MARÇO	0 €	0 €	0 €	0 €
ABRIL	0 €	0 €	0 €	0 €
MAIO	0 €	0 €	0 €	0 €
JUNHO	0 €	0 €	0 €	0 €

33 cL		
	CUSTO QUEBRAS MENSAL	CUSTO TOTAL QUEBRAS ACUMULADO
JANEIRO	0 €	0 €
FEVEREIRO	0 €	0 €
MARÇO	0 €	0 €
ABRIL	0 €	0 €
MAIO	0 €	0 €
JUNHO	0 €	0 €

33 cL + 50 cL + 1,5 L + 5 L		
	CUSTO QUEBRAS MENSAL	CUSTO TOTAL QUEBRAS ACUMULADO
JANEIRO	0 €	0 €
FEVEREIRO	0 €	0 €
MARÇO	0 €	0 €
ABRIL	0 €	0 €
MAIO	0 €	0 €
JUNHO	0 €	0 €

Figura 2.5 - Esquema do sistema que permite calcular os custos económicos das perdas e quebras para o primeiro semestre.

Na Figura 2.6 pode observar-se um esquema do sistema que permite calcular os custos económicos das perdas e quebras relativos ao segundo semestre.

SEGUNDO SEMESTRE													
QUEBRAS 33 cL													
	GARRAFAS					CÁPSULAS				RÓTULOS			
	TOTAL GARRAFAS CHEIAS	TOTAL QUEBRAS	%	TOTAL QUEBRAS ACUMULADO	MÉDIA ANUAL %	TOTAL QUEBRAS	%	TOTAL QUEBRAS ACUMULADO	MÉDIA ANUAL %	TOTAL QUEBRAS	%	TOTAL QUEBRAS ACUMULADO	MÉDIA ANUAL %
JULHO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
AGOSTO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
SETEMBRO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
OUTUBRO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
NOVEMBRO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!
DEZEMBRO	0	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!	0	#DIV/0!

CUSTO QUEBRAS 33 cL				
	GARRAFAS		CÁPSULAS	
	CUSTO GARRAFAS	CUSTO GARRAFAS ACUMULADO	CUSTO CÁPSULAS	CUSTO CÁPSULAS ACUMULADO
JULHO	0 €	0 €	0 €	0 €
AGOSTO	0 €	0 €	0 €	0 €
SETEMBRO	0 €	0 €	0 €	0 €
OUTUBRO	0 €	0 €	0 €	0 €
NOVEMBRO	0 €	0 €	0 €	0 €
DEZEMBRO	0 €	0 €	0 €	0 €

33 cL			33 cL + 50 cL + 1,5 L + 5 L		
	CUSTO QUEBRAS MENSAL	CUSTO TOTAL QUEBRAS ACUMULADO		CUSTO QUEBRAS MENSAL	CUSTO TOTAL QUEBRAS ACUMULADO
JULHO	0 €	0 €	JULHO	0 €	0 €
AGOSTO	0 €	0 €	AGOSTO	0 €	0 €
SETEMBRO	0 €	0 €	SETEMBRO	0 €	0 €
OUTUBRO	0 €	0 €	OUTUBRO	0 €	0 €
NOVEMBRO	0 €	0 €	NOVEMBRO	0 €	0 €
DEZEMBRO	0 €	0 €	DEZEMBRO	0 €	0 €

**Figura 2.6 - Esquema do sistema que permite calcular os custos económicos das perdas e quebras para o segundo semestre.**

Ao longo do estágio verificou-se que sempre que existiu um aumento da produção houve também um pequeno aumento das perdas e quebras, como seria de esperar, pois com o aumento da produção existe uma maior probabilidade de acontecerem perdas e quebras. Verificou-se também que as perdas e quebras acontecem em maior número no início de produção, podendo dever-se ao facto de as linhas de produção ainda não estarem a trabalhar ao melhor nível.

Visto existir um aumento das perdas e quebras vai também haver um aumento dos custos económico, no entanto, estes custos são considerados pouco importantes em comparação com o volume de produção, pois mesmo nos meses onde existe um maior número de perdas e quebras, o custo económico nunca ultrapassa os 0,20 € por 1000 embalagens, este custo económico apenas contabiliza as perdas e quebras. Sempre que existe um aumento da produção, os custos económicos por 1000 embalagens tendem a diminuir, pois existe uma

melhor diluição dos custos das perdas e quebras no volume de produção, ou seja, uma diminuição dos custos específicos.

Os baixos custos económicos associados às perdas e quebras deve-se ao bom plano de manutenção da empresa, o qual evita que haja um grande desgaste das máquinas e do material que constitui as linhas de produção e à atenção dos colaboradores no desempenho das suas funções, impedindo muitas vezes que haja problemas ao longo das linhas de produção que possam levar a perdas e quebras.





**[CAPÍTULO 3]**  
**CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES**

### 3. CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES

#### 3.1. Conclusões gerais

Face aos resultados obtidos ao longo do período de estágio, pode considerar-se que, no decorrer deste estágio, os objectivos propostos foram alcançadas com sucesso.

Ao longo deste estágio efectuou-se um acompanhamento do Sistema de Gestão de Segurança Alimentar, promovendo desta forma uma melhoria contínua deste processo. Num sentido mais pessoal, permitiu acrescentar conhecimentos no que diz respeito a normas e legislação para a indústria alimentar, visto ser necessário a contextualização da NP EN ISO 22000:2005, da IFS e do HACCP.

Das análises microbiológicas efectuadas à água, tanto como matéria-prima como produto acabado, concluiu-se que a maior contaminação microbiológica (microrganismos a 37 °C ao fim de 24 horas e microrganismos a 22 °C ao fim de 72 horas) se encontra nos pontos de amostragem relativos à captação e aos depósitos de armazenamento, dado ao maior contacto da água com factores externos. A presença de microrganismos na água durante a passagem pelos depósitos, deve-se ao facto da água se encontrar muitas vezes estagnada, pois, como se vê nos Depósitos 9, 10, 11 e 12 existe um maior número de UFC/mL em média ao longo dos meses de estágio, pois é nestes depósitos que existe uma menor circulação de água, em comparação, com o Depósito 1, o qual apresenta um menor número de UFC/mL em média, sendo neste depósito que se observa a maior circulação de água. Observou-se através das análises microbiológicas, que nos pontos de amostragem posteriores aos filtros se verifica um menor número de UFC/mL na água, sendo em muitos dos casos nulo, revelando assim, que o tratamento físico efectuado pelos filtros à água é bastante eficaz (eficiência acima dos 90 %). No entanto, com o aumento da produção, no caso dos meses de Maio e Junho, registou-se um pequeno aumento do número de UFC/mL nesses pontos. De fazer notar, que em toda a história da empresa *Águas das Caldas de Penacova; S.A.* nunca o número de UFC/mL atingiu o limite legal, ficando bastante distante do mesmo.

Através das análises microbiológicas realizadas durante o período de estágio e considerando outras variáveis (temperatura ambiente, humidade relativa, temperatura da água e o pH no momento da recolha, etc.) foi possível realizar um estudo correlacionando as variáveis com as componentes obtidas pelo Método Varimax com normalização de Kaiser, por forma a compreender melhor como evoluem todas as variáveis.

Foi também realizado um trabalho ao longo deste estágio que consistiu no desenvolvimento e melhoria do sistema que possibilita observar e relacionar o consumo de água com a produção de produto acabado e com as perdas e quebras. Verificou-se que, com o aumento da produção, aumenta também a probabilidade de acontecerem perdas e quebras, o que seria expectável. Averiguou-se também que, as perdas e quebras acontecem em maior número no início de

produção, o que poderá dever-se ao facto de as linhas de produção ainda não funcionarem ao melhor nível. Um aumento das perdas e quebras vai conduzir a um aumento dos custos económicos, no entanto, estes custos são considerados pouco relevantes quando comparados com o volume de produção, pois mesmo nos meses onde existe um maior número de perdas e quebras, o custo económico nunca ultrapassa os 0,20 € por 1000 embalagens, considerando apenas as perdas e quebras.

A realização deste estágio revelou-se bastante enriquecedor tanto a nível académico como pessoal, dando um claro exemplo de como funciona uma empresa. Graças a este estágio foi possível compreender como se dá a integração em ambiente industrial e quais os pilares que possibilitam o seu bom funcionamento. Este estágio permitiu ainda o desenvolvimento das competências, nomeadamente, a auto-aprendizagem e o relacionamento interpessoal, que foram uma mais valia na fase inicial do estágio.

### **3.2. Sugestões para trabalhos futuros**

O trabalho efectuado sugere que seria útil a existência de um plano de análises microbiológicas diário a todos os pontos de amostragem, por forma a desenvolver um estudo mais preciso de como varia o número de UFC/mL diariamente em função da temperatura e pH da água, temperatura ambiente, humidade relativa com o objectivo de compreender melhor como estes factores externos influenciam os microrganismos presentes na água.

Por outro lado, sugere-se também que seria importante realizar um estudo das concentrações dos produtos químicos de desinfecção do Sistema CIP, por forma a otimizar as suas concentrações, de modo a reduzir os custos económicos associados a este processo.



## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Águas das Caldas de Penacova, S.A. *História da Empresa: Águas das Caldas de Penacova, S. A.* 2011. <http://www.caldasdepenacova.pt/home.html> (acedido em 3 de Julho de 2013).
- Al-Jayyousi, Odeh R. “Greywater reuse: towards sustainable water management.” *Desalination* 156 (2003): 181-192.
- Almeida, M.C., Jaime Melo Baptista, Paula Vieira, Ana Moura e Silva, e Rita Ribeiro. “O uso eficiente da água em Portugal no sector urbano: que medidas e que estratégias de implementação?” *Jornadas de Engenharia Civil, Universidade do Minho, Guimarães, Guimarães, Portugal*, 2001.
- APIAM - Associação Portuguesa dos Industriais de Águas Minerais Naturais e de Nascente. *As Águas Naturais*. Vol. III. Lisboa: Editando, Edição e Comunicação, Lda., 2001.
- BSI - British Standard Institution. *BS 8525-1:2010 Greywater systems - Part 1: Code of practice*. UK: BSI, 2010.
- Coutinho, Ana. “Reutilização de Águas - Utilização de águas cinzentas in situ.” Tese de Doutoramento, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2009.
- Dixon, A., D. Butler, A. Fewkes, e M. Robinson. “Measurement and modelling of quality changes in stored untreated grey water.” *Urban Water* 1 (1999): 293-306.
- DR - Diário da República. “Decreto-Lei n.º 156/98.” *131/98 Série I-A*, 6 de Junho de 1998: 2593 a 2599.
- DR - Diário da República. “Decreto-Lei n.º 306/07.” *164/2007 Série I*, 27 de Agosto de 2007: 5747 a 5765.
- EEA - European Environment Agency. *Water resources across Europe - confronting water scarcity and drought*. Copenhagen: EEA Report N° 2/2009, 2009.
- Eriksson, Eva, Karina Auffarth, Mogens Henze, e Anna Ledin. “Characteristics of grey wastewater.” *Urban Water* 4 (2002): 85-104.
- Field, Andy. *Discovering Statistics using SPSS for Windows: advanced techniques for the beginner*. 1ª Edição. SAGE Publications, 2000.
- Finley, S., S. Barrington, e D. Lyew. “Reuse of Domestic Greywater for the Irrigation of Food Crops.” *Water Air Soil Pollution* 199 (2009): 235-245.
- Goodsell, D. S. “The Molecular Perspective: Ultraviolet Light and Pyrimidine Dimers.” *The Oncologist* 6 (2001).
- Gual, M., A. Moia, e J.G. March. “Monitoring of an indoor pilot plant for osmosis rejection and greywater reuse to flush toilets in a hotel.” *Desalination* 219 (2008): 135-140.

Hijnen, W. A. M. *Elimination of micro-organisms in water treatment*. PhD Thesis, Utrecht University, The Netherlands: KWR Watercycle Research Institute, 2008.

IFS - International Featured Standard. *IFS Food - Norma para realizar auditorías de calidad y seguridad alimentaria de productos alimenticios*. Alemanha: IFS, 2012.

Instituto da Água. *Directiva-Quadro da Água*. 14 de Fevereiro de 2012. <http://dqa.inag.pt/> (acedido em 4 de Julho de 2013).

IPQ - Instituto Português da Qualidade. *Normalização*. 24 de Novembro de 2013. <http://www1.ipq.pt/PT/Normalizacao/Pages/Normalizacao.aspx> (acedido em 25 de Novembro de 2013).

Jefferson, B., A. Laine, S. Parson, T. Stephenson, e S. Judd. "Technologies for domestic wastewater recycling." *Urban Water* 1 (1999): 285-292.

Jefferson, B., A. Palmer, P. Jeffrey, R. Stuetz, e S. Judd. "Grey water characterisation and its impact on the selection and operation of technologies for urban reuse." *Water Sci. Technol.* 50 (2004): 157-164.

Jefferson, B., JE Burgess, A. Pichon, J. Harkness, e S. Judd. "Nutrient addition to enhance biological treatment of greywater." *Water Research* 35 (2001): 2702-2010.

Lenntech. *Water Treatment Solutions*. The Netherlands, 2014.

Li, Fangyue, Knut Wichmann, e Otterpohl Ralf. "Review of the technological approaches for grey water treatment and reuses." *Science of the Total Environment* 407 (2009): 3469-3449.

Lightfoot, N. F., e E. A. Maier. *Análise Microbiológica de Alimentos e Água - Guia para a Garantia de Qualidade*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

Moreira, Anabela Marcolino. "Estudo de Tratabilidade de um Efluente Típico da Indústria de Lacticínios, por Digestão Anaeróbia." Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Química e Biológica, Instituto Superior de Engenharia de Coimbra, Coimbra, 2012.

Paulo, Pedro Silva. "Manual do Sistema de Gestão das Águas das Caldas de Penacova, S.A." Departamento da Qualidade e de Segurança Alimentar, 2011.

Pereira, Alcides J. S. C.; da Silva, Antunes; Lourenço, Carla; Rodrigues, Catarina; Gomes, Celso S. F.; Lourenço, Cristina; Rodrigues, Fernando Júlio Tavares; Teixeira, Frederico; Chaminé, Helder I.; Silva, João B. P.; Guedes, Joaquim Ferreira; Cortez, José António Simões; Marques, José Manuel; Carvalho, José Martins; Teixeira, José; Aires-Barros, Luís; Gomes, L. M. Ferreira; do Canto, Maria José; da Costa, Milton Simões; Moraes, Paula Vasconcelos. *Águas Minerais Naturais e de Nascente da Região Centro*. Mare Liberium, 2012.

Pinto, Abel, e Iolanda Soares. *Sistemas de Gestão da Qualidade - Guia para a sua implementação*. Lisboa: Sílabo, 2009.

Pinto, U., e B.L. Maheshwari. "Reuse of greywater for irrigation around homes in Australia: understanding community views, issues and practices." *Urban Water* 7 (2010): 141-153.

Rouessac, Francis, e Annick Rouessac. *Chemical Analysis - Modern Instrumentation Methods and Techniques*. England: Wiley, 2007.

Santos, C., F. Taveira-Pinto, C.Y. Cheng, e D. Leite. "Development of an experimental system for greywater reuse." *Desalination* 285 (2012): 301-305.

Shin, H. S., S. M. Lee, I. S. Seo, G. O. Kim, K. H. Lim, e J. S. Song. "Pilot scale SBR and MF operation for removal of organic and nitrogen compounds from greywater." *Water Sci. Technol.* 38 (1998): 79-88.

Siegrist, H., M. Witt, e W. C. Boyle. "Characteristics of rural household wastewater." *Journal of the Environment Engineering Division* 102 (1976): 533-548.

USEPA - United States Environment Protection Agency. *Guidelines for Water Reuse*. Washington, DC: Camp Dresser & McKee, Inc., 2004.

Van der Leeden, F., F. L. Troise, e D. K. Todd. *The Water Encyclopedia*. Second Edition. Chelsea, Michigan: Lewis Publishers, Inc., 1990.

WHO - World Health Organization. *WHO guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater - Volume IV Excreta and greywater use in agriculture*. Geneva: WHO Press, 2006.

Winward, Gideon P., Lisa M. Avery, Tom Stephenson, e Bruce Jefferson. "Chlorine disinfection of grey water for reuse: Effect of organics and particles." *Water Research* 42 (2008): 483-491.



**ANEXOS**

## ANEXOS

### A. Avaliação da potencialidade de reciclagem de águas cinzentas numa instalação sanitária doméstica

Paralelamente ao trabalho desenvolvido no estágio curricular desenvolveu-se também uma breve abordagem ao estudo da avaliação da potencialidade de reciclagem de águas cinzentas numa instalação sanitária doméstica, estudando-se a eficiência de desinfecção de águas cinzentas através da radiação ultravioleta. Este trabalho surgiu através da participação na 9ª edição do Poliempreende com o projecto intitulado “Reutilização de águas cinzentas”, levando, deste modo, a complementar-se o trabalho iminentemente prático e empírico do estágio com este pequeno estudo de iniciação à investigação científica, que permitiu a formação em áreas como o estudo do estado da arte e o planeamento de experiências.

#### A.1. INTRODUÇÃO

O *stress* hídrico é uma realidade em muitos países europeus e as mudanças do clima só irão acentuar a frequência e a intensidade de fenómenos de escassez de água no futuro, especialmente nos países do Sul (EEA, 2009). Para inverter a tendência não sustentável do aumento de extracção e consumo de águas subterrâneas para satisfazer a crescente necessidade de água potável, algumas mudanças devem ser tomadas a fim de diminuir o seu consumo. Uma das mudanças possíveis passa pela reutilização das águas residuais, que não deve contudo, comprometer os requisitos de conforto e segurança para o utilizador (Santos *et al*, 2012).

Neste âmbito, a reutilização de águas cinzentas é um processo de elevada importância e potencial, para se atingir um consumo sustentável de água em edifícios. Águas cinzentas, por definição, são águas residuais urbanas, excluindo qualquer contribuição das sanitas, que geralmente incluem as águas dos banhos, chuveiros, lavatórios, máquinas de lavar roupa, máquinas de lavar loiça e lava-loiças (Santos *et al*, 2012). As águas cinzentas podem ser classificadas como de baixa carga e de elevada carga em termos de concentração da matéria orgânica. As de baixa carga excluem as águas cinzentas provenientes dos lava-loiças, das máquinas de lavar roupa e das máquinas de lavar loiça (Winward *et al*, 2008).

A produção de águas cinzentas e o potencial de reutilização depende, entre outros factores, da actividade dos edifícios. Em edifícios habitacionais, a reutilização de águas cinzentas tratadas pode representar entre 40 a 47% de redução do consumo de água (Almeida *et al*, 2001). Em edifícios comerciais e públicos, 48 a 53% do consumo total de água potável é usado em fins não potáveis, mas a produção de águas cinzentas é menor do que no caso anterior, representando apenas cerca de 2 a 15% do consumo total de água (Santos *et al*, 2012). Além

disso, neste tipo de edifícios existem mais ganhos do que apenas a redução do consumo de água, tais como a simplicidade administrativa, associação a uma imagem verde e sustentável da organização, podendo esperar-se uma redução dos custos de tratamento dos efluentes gerados (Santos *et al*, 2012).

Uma aplicação em larga escala de um sistema de reutilização de águas cinzentas só será viável quando a opinião das pessoas sobre esta matéria se tornar positiva em resultado do acesso a informação e apoio adequados. Genericamente, as pessoas tendem a considerar um sistema de reutilização de águas cinzentas interessante e seguro e, consequentemente a aceitá-lo, especialmente para as descargas de autoclismo em sanitas (Gual *et al*, 2008). No entanto, no que diz respeito às actividades que envolvem directo contacto com a água, a aceitação do uso de águas cinzentas não é tão elevada (Jefferson *et al*, 2004), revelando alguma prudência e desconfiança sobre a qualidade da água tratada produzida ao longo do tempo de vida do equipamento de tratamento. Para alcançar a reutilização de águas cinzentas generalizada, são necessárias três medidas: apoio financeiro por parte do governo, pacotes fáceis de usar pelo utilizador, programas educacionais e também a necessidade de desenvolver unidades de tratamento de águas cinzentas domésticas de baixo custo (Pinto e Maheshwari, 2010).

#### **A.1.1. Caracterização de águas cinzentas**

As características das águas cinzentas dependem da localização geográfica e concentração demográfica, grau de utilização da água, natureza da instalação sanitária, hábitos de vida das pessoas e produtos utilizados na higiene pessoal (grande percentagem das águas cinzentas encontram-se contaminadas com sabão e outros produtos de higiene, tais como, gel de banho e pasta de dentes) (Jefferson *et al*, 1999).

Os compostos químicos presentes nas águas cinzentas são provenientes dos produtos químicos domésticos usados na cozinha, lavagem de roupa e loiça, actividade de higiene pessoal, ou ainda, de resíduos com origem nas tubagens. Em geral, as águas cinzentas, apesar de poderem apresentar características altamente variáveis, contêm níveis baixos de matéria orgânica e de nutrientes quando comparados com o esgoto comum, uma vez que urina, fezes e o papel higiénico não estão incluídos (Eriksson *et al*, 2002). Deste modo os sólidos suspensos e a turbidez destas águas são reduzidos, sendo que a maior parte da matéria orgânica nas águas cinzentas está dissolvida (Jefferson *et al*, 1999).

Na Tabela A.1 apresenta-se um resumo de intervalos de qualidade de alguns parâmetros das águas cinzentas.

**Tabela A.1 - Características das águas cinzentas para diferentes categorias (adaptado de a) Li *et al*, 2009; b) Al-Jayyousi, 2003 e c) Santos *et al*, 2012).**

	Casas de Banho	Máquina de Lavar Roupas	Cozinha	Misto
<b>pH</b>	6,4 – 8,1 <sup>a)</sup> 6,9 <sup>c)</sup>	7,1 – 10 <sup>a)</sup>	5,9 – 7,4 <sup>a)</sup>	6,3 – 8,1 <sup>a)</sup>
<b>SST (mg/L)</b>	7 – 505 <sup>a)</sup> 58 <sup>c)</sup>	68 – 465 <sup>a)</sup>	134 – 1300 <sup>a)</sup>	25 – 183 <sup>a)</sup>
<b>Turbidez (NTU)</b>	44 – 375 <sup>a)</sup>	50 – 444 <sup>a)</sup>	298,0 <sup>a)</sup>	29 – 375 <sup>a)</sup> 69 <sup>b)</sup>
<b>CQO (mg/L)</b>	100 – 633 <sup>a)</sup> 263 <sup>b)</sup> 197 <sup>c)</sup>	231 – 2950 <sup>a)</sup>	26 – 2050 <sup>a)</sup>	100 – 700 <sup>a)</sup> 371 <sup>b)</sup>
<b>CBO<sub>5</sub> (mg/L)</b>	50 – 300 <sup>a)</sup> 109 <sup>b)</sup> 129 <sup>c)</sup>	48 – 472 <sup>a)</sup>	536 – 1460 <sup>a)</sup>	47 – 466 <sup>a)</sup> 121 <sup>b)</sup>
<b>NT (mg/L)</b>	3,6 – 19,4 <sup>a)</sup> 9,6 <sup>b)</sup> 8,6 <sup>c)</sup>	1,1 – 40,3 <sup>a)</sup>	11,4 – 74 <sup>a)</sup>	1,7 – 34,3 <sup>a)</sup> 1,0 <sup>b)</sup>
<b>PT (mg/L)</b>	0,11 – >48,8 <sup>a)</sup> 2,58 <sup>b)</sup> 1,3 <sup>c)</sup>	0 – >171 <sup>a)</sup>	2,9 – >74 <sup>a)</sup>	0,11 – 22,8 <sup>a)</sup> 0,36 <sup>b)</sup>
<b>Coliformes Totais (UFC/100 mL)</b>	10 – 2,4x10 <sup>7 a)</sup>	200,5 – 7x10 <sup>a)5</sup>	>2,4x10 <sup>8 a)</sup>	56 – 8,03x10 <sup>7 a)</sup>
<b>Coliformes Fecais (UFC/100 mL)</b>	0 – 3,4x10 <sup>5 a)</sup>	50 – 1,4x10 <sup>3 a)</sup>	-	0,1 – 1,5x10 <sup>8 a)</sup>

### **Características físico-químicas**

A Tabela A.1 mostra que os parâmetros físico-químicos assumem uma grande importância na caracterização das águas cinzentas, sendo que aqueles que mais frequentemente são usados na monitorização das águas cinzentas são a temperatura, a turbidez, o conteúdo em sólidos, pH, a condutividade eléctrica, a carência química de oxigénio (CQO), a carência bioquímica de oxigénio (CBO), o carbono total (CT), o azoto total (NT), o oxigénio dissolvido e os diversos nutrientes presentes nas águas cinzentas (Dixon *et al*, 1999).

#### **Temperatura**

A temperatura das águas cinzentas varia dependendo da sua origem. O uso de água na higiene pessoal ou em fins domésticos faz com a temperatura se situe num intervalo entre os 18 e os 38°C (Siegrist *et al*, 1976). A utilização de água com elevadas temperaturas faz com que as águas cinzentas se tornem um meio propício ao crescimento microbiano.

#### **Turbidez**

A turbidez é uma propriedade física dos fluídos e que se traduz na diminuição da sua transparência devido à presença de partículas individuais (sólidos em suspensão), que geralmente são invisíveis a olho nu. A medição da turbidez permite avaliar a qualidade da água, visto indicar se uma água apresenta boa ou má qualidade (Finley *et al*, 2009).

As águas cinzentas podem conter sólidos suspensos constituídos por partículas de diversos tamanhos. Enquanto algum material suspenso será suficiente grande e pesado para sedimentar rapidamente no fundo do recipiente, as partículas muito pequenas irão sedimentar muito lentamente. Estas partículas coloidais, com diâmetro compreendido entre 1 nm a 1 µm, são responsáveis pelo aspecto turvo nas águas cinzentas (Li *et al*, 2009).

#### **Conteúdo em sólidos**

Refere-se à matéria suspensa ou dissolvida na água ou em efluentes líquidos. Os sólidos podem afectar a água ou a qualidade do efluente negativamente de diversas maneiras. Águas com muitos sólidos dissolvidos geralmente são desagradáveis ao paladar e podem tornar-se desadequadas para fins industriais. As análises a sólidos são importantes para o controlo dos processos de tratamento biológico e/ou físico de águas residuais.

Nas águas cinzentas, os sólidos são constituídos por partículas de pele, cabelos, pêlos, aglomerados de produtos de higiene e/ou limpeza e por restos de alimentos (Coutinho, 2009).

#### **pH**

Este parâmetro indica o grau de acidez ou alcalinidade de uma água. Nas águas cinzentas, o mesmo depende das características da água de abastecimento e dos produtos químicos utilizados na higiene pessoal e em outros fins domésticos, apresentando, normalmente, um pH que pode oscilar entre 4 e 9 (Li *et al*, 2009).

**Condutividade eléctrica**

A condutividade eléctrica refere-se à capacidade de uma substância conduzir a corrente eléctrica e está relacionado com a quantidade de iões dissolvidos na água. Quanto maior for a quantidade de iões dissolvidos numa água maior irá ser a condutividade eléctrica da mesma.

A condutividade eléctrica depende da temperatura e do pH, aumentando, quanto maior for a temperatura da água, uma vez que aumenta a solubilidade dos iões na água. Valores intermédios de pH (4 – 9) farão com que a condutividade seja maior, pois facilitam a presença de iões dissolvidos na água.

Nas águas cinzentas as principais causas do aumento da condutividade eléctrica são os produtos químicos resultantes da higiene pessoal e da lavagem de roupa e loiça, pois, a presença de matéria orgânica na maioria das vezes, não provoca um aumento da condutividade eléctrica (Coutinho, 2009).

**Carência química de oxigénio (CQO) e carência bioquímica de oxigénio (CBO)**

A carência química de oxigénio mede a quantidade de substâncias orgânicas e inorgânicas susceptíveis de serem oxidadas por acção de agentes oxidantes fortes, em meio ácido. Este parâmetro está ligado ao risco de depleção do oxigénio devido à degradação da matéria orgânica durante o processo de transporte e armazenamento das águas cinzentas, e indica também o risco de produção de gás sulfídrico ( $H_2S$ ). A carência bioquímica de oxigénio permite determinar o oxigénio necessário à oxidação da matéria orgânica degradável através da acção bioquímica aeróbia. Como o CQO, a CBO está ligado ao risco de depleção do oxigénio devido à degradação da matéria orgânica durante o processo de transporte e armazenamento da água cinzenta. A maior parte da carência química de oxigénio e a carência bioquímica de oxigénio tem origem nos produtos químicos usados na higiene pessoal ou em outros fins domésticos (Coutinho, 2009).

**Carbono total (CT)**

O carbono total refere-se à quantidade de gás carbónico produzido quando uma amostra é oxidada por completo, o carbono total inclui a matéria orgânica dissolvida e o carbono inorgânico. De uma forma geral o carbono total é dado pela Equação (1):

$$CT = COT + CI \quad (1)$$

em que  $CT$  é o carbono total,  $COT$  é o carbono orgânico total e  $CI$  é o carbono inorgânico.

No fundo o carbono total é um indicador da qualidade da água e permite determinar o cumprimento da legislação das descargas de efluentes líquidos no meio hídrico. Quanto maior for o valor do carbono total menor irá ser a qualidade da água (Moreira, 2012).

**Azoto total (NT)**

O azoto total representa a soma dos compostos de azoto orgânicos e inorgânicos. Elevadas concentrações de azoto nas águas sugere uma fraca qualidade, ou seja, uma elevada concentração de azoto total pode levar à eutrofização do meio hídrico, impedindo desta forma a existência de seres vivos dependentes de oxigénio, pois a concentração de oxigénio dissolvido é muito baixa (inferior a 2 mg/L). Nas águas cinzentas uma elevada concentração de azoto total sugere a existência de microrganismos anaeróbios, visto a concentração de oxigénio dissolvido ser muito baixa. Estes microrganismos são muitas vezes os principais responsáveis pelos maus odores (Lenntech, 2014).

**Oxigénio dissolvido (OD)**

O oxigénio dissolvido pode funcionar como indicador da quantidade de substâncias orgânicas biodegradáveis presentes na água, uma vez que os microrganismos responsáveis pela sua degradação utilizam o oxigénio na sua respiração. Logo, quanto maior for a quantidade de substâncias orgânicas biodegradáveis, maior será o número de microrganismos aeróbios decompositores destas substâncias, o que levará a um maior consumo de oxigénio (Shin *et al*, 1998).

As águas cinzentas que apresentam uma baixa concentração de oxigénio dissolvido sugerem que têm uma elevada concentração microbiológica, ou então, uma elevada concentração de azoto total, ambos indicadores de baixa qualidade da água.

**Nutrientes**

A presença de macronutrientes e nutrientes nas águas cinzentas deve-se essencialmente a partículas que se libertam do corpo e/ou da confecção de alimentos. As águas cinzentas resultantes dos banhos são pobres em azoto e fósforo nos casos em que se excluem águas cinzentas contaminadas por fezes e urina. As águas cinzentas resultantes da cozinha são ricas em N e P, com origem em matéria orgânica biodegradável e nitrogénio particulado fruto dos alimentos (Li *et al*, 2009).

Os nutrientes que se encontram em maior concentração nas águas cinzentas são N, P, S, Ca, K, Fe, Mg, Mn, Cu, Al, Zn, Mo e Co (Jefferson *et al*, 2001).

**Características microbiológicas**

Os vírus patogénicos, bactérias, protozoários e helmintas escapam dos corpos de pessoas infectadas através dos seus excrementos e podem ser passados para outras pessoas usando como meio de transporte as águas cinzentas. Estes microrganismos podem ser introduzidos nas águas cinzentas ao lavar as mãos, após o uso da sanita, lavagem de bebés e crianças aquando da mudança de fraldas, bem como a partir da lavagem de vegetais crus e carne crua. O conhecimento sobre a introdução, sobrevivência e transformação de microrganismos nas águas cinzentas é uma questão fulcral a avaliar aquando do dimensionamento de um sistema de reutilização de águas cinzentas (Eriksson *et al*, 2002).

*Eschericia coli* é comumente utilizada como um indicador de contaminação fecal e a análise da sua quantidade nas águas cinzentas fornece informações valiosas sobre os riscos para a saúde. Alguns vírus, como por exemplo os enterovírus, podem ser transmitidos por águas contaminadas com fezes.

Particular cuidado na tomada de decisão acerca da implementação do sistema de tratamento e reutilização de águas cinzentas deve ser considerado quando se tratam de instalações em que as pessoas são extremamente susceptíveis a infecções, por exemplo lar de idosos, pessoas com o vírus da SIDA e pessoas com transplantes de coração. Também os casos em que as pessoas possam ter tido contacto com infecções especiais, refugiados, imigrantes que tenham visitado os seus países de origem e pessoas que tenham viajado para países com especiais problemas de saúde, podem trazer microrganismos patogénicos quando regressam desses países. Entre os microrganismos relevantes encontram-se as bactérias *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, parasitas e alguns vírus especiais como a *Hepatitis* e enterovírus (Eriksson *et al*, 2002).



Na Tabela A.2 apresentam-se as bactérias, protozoários, helmintas e vírus que normalmente se encontram nas águas cinzentas.

**Tabela A.2 - Microrganismos encontrados nas águas cinzentas (adaptado de Eriksson *et al*, 2002).**

Bactérias	Protozoários	Helmintas	Vírus
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i>	Adenoviruses
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Necator americanus</i>	Coxsackieviruses
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Echoviruses
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Encephalitozoon hellem</i>	<i>Clonorchis sinensis</i>	Hepatitis A vírus
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Diphyllobothrium latum</i>	H. E vírus
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterocytozoon bienusi</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>	H. F vírus
<i>Eubacterium</i> spp.	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Fasciola hepatica</i>	Polioviruses
Coliformes Fecais	Neagleria	<i>Fasciolopsis buski</i>	Reoviruses
<i>Helicobacter pylori</i>		<i>Gastrodiscoides hominis</i>	Rotaviruses
<i>Lactobacilli</i>		<i>Heterophyes heterophyes</i>	
<i>Legionella pneumophila</i>		<i>Hymenolepis</i> spp.	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Metagonimus yokogawai</i>	
<i>Salmonella typhi</i>		<i>Optisthorchis felinus</i>	
<i>S. paratyphi</i>		<i>O. viverrini</i>	
<i>Shigella sonnei</i>		<i>Paragonimus westermani</i>	
<i>Streptococcus bovis</i>		<i>Schistosoma haematobium</i>	
<i>S. durans</i>		<i>S. japonicum</i>	
<i>S. equines</i>		<i>S. mansoni</i>	
<i>S. faecalis</i>		<i>Strongyloides stercoralis</i>	
<i>S. faecium</i>		<i>Taenia saginata</i>	
<i>Vibrio cholerae</i>		<i>T. solium</i>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>		<i>Trichuris trichiura</i>	

### **A.1.2. Tratamento de águas cinzentas**

Para que as águas cinzentas possam ser reutilizadas devem ser cumpridos quatro critérios fundamentais: higiene, estética, tolerância ambiental e viabilidade económica. A falta de normas ou orientações técnicas oficiais tem dificultado bastante a implementação de sistemas de reutilização de águas cinzentas. Deve-se, ter também, em consideração que diferentes aplicações para as águas cinzentas requerem diferentes especificações de qualidade das águas e, assim, exigem tratamentos distintos, variando quanto ao desenvolvimento tecnológico utilizado.

As poucas normas e orientações disponíveis centram-se essencialmente nos impactos ambientais e de saúde pública e são normalmente estabelecidos pelas autoridades nacionais. Em 2006, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou um guia (WHO, 2006) para a reutilização de águas cinzentas na irrigação agrícola. O guia refere apenas os requisitos microbiológicos sem considerar os parâmetros físico-químicos.

Embora a maioria das normas de reutilização de água publicados sejam aplicadas à reutilização de efluentes domésticos, estas normas podem ser usadas como uma base para estabelecer uma linha de orientação na reutilização de águas cinzentas. As normas publicadas para a reutilização de águas residuais (BSI, 2010) indicam que parâmetros como pH, sólidos suspensos totais (SST), CBO, turbidez, coliformes totais e coliformes fecais devem ser incluídos para o estabelecimento de uma linha de orientação na reutilização de águas cinzentas. Ocasionalmente, algumas normas contêm também limites para parâmetros como a amónia, o fósforo, o azoto e o cloro residual (USEPA, 2004).

Em Portugal, a existe ainda uma carência de normas técnicas específicas para a reutilização de águas cinzentas. Existe no entanto, directivas para a reutilização das águas da chuva sem qualquer tipo de tratamento nas descargas de autoclismo (Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de Agosto, que transpõe a Directiva n.º 76/160/CEE, do Conselho, de 8/12) e directivas para a reutilização de águas cinzentas para rega de jardins privados (Norma Portuguesa 4434:2005) não se recomendando que as águas resultantes da cozinha sejam aproveitadas. No entanto, estes instrumentos de gestão de águas cinzentas, apenas mencionam os requisitos microbiológicos que as águas devem respeitar.

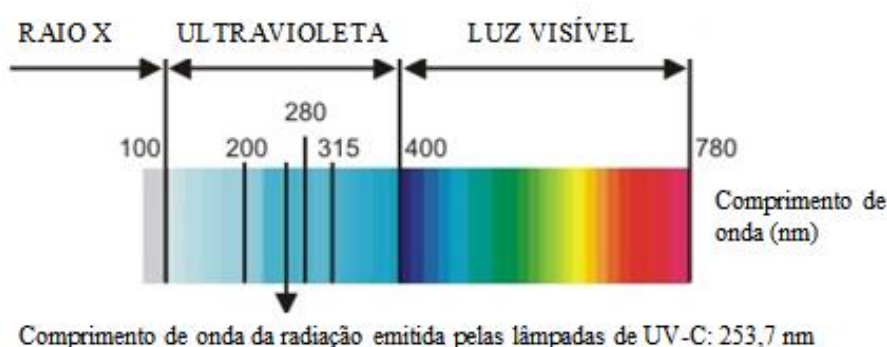
Tecnologias aplicadas ao tratamento de águas cinzentas incluem sistemas físicos, sistemas químicos e sistemas biológicos. A maioria dessas tecnologias é precedida por um pré-tratamento (separação sólido-líquido) e é seguida por um pós-tratamento (desinfecção). Para evitar o entupimento do equipamento, no pré-tratamento são utilizados filtros com o objectivo de reduzir a quantidade de partículas e óleos. A desinfecção é utilizada para que os limites microbiológicos sejam respeitados (Li *et al*, 2009).

De todos os parâmetros a ter em conta aquando do tratamento das águas cinzentas, os que requerem maior atenção são os parâmetros microbiológicos. Estes parâmetros colocam em causa a viabilidade da reutilização das águas cinzentas, visto que a presença de microrganismos, particularmente os patogénicos, nas águas cinzentas colocam em causa a saúde pública, podendo levar à propagação de doenças infecciosas.

De modo a prevenir as consequências da presença de microrganismos na água para os seus utilizadores e para o meio ambiente é necessário a existência de um mecanismo de desinfecção, considerando-se como desinfecção a inactivação/destruição dos microrganismos patogénicos.

### **Tratamento por radiação ultravioleta (UV)**

A radiação ultravioleta (UV) pode ser usada para tratamento de águas cinzentas, substituindo o cloro, ozono e outros oxidantes na sua desinfecção. A radiação UV como técnica de desinfecção tem sido utilizada com segurança em hospitais, clínicas, laboratórios, indústrias alimentares, farmacêuticas, cosméticas, entre outras, há mais de cinquenta anos. Aparelhos domésticos de radiação UV, na Europa e EUA, tornaram-se populares devido à sua utilização na desinfecção da água das piscinas, substituindo, dessa forma, o cloro que está associado à possível formação de cloraminas, subprodutos da reacção incompleta entre o cloro e compostos de amónia. Estes contaminantes são os responsáveis pelo conhecido “cheiro de piscina” e por irritações nas vias respiratórias e olhos.

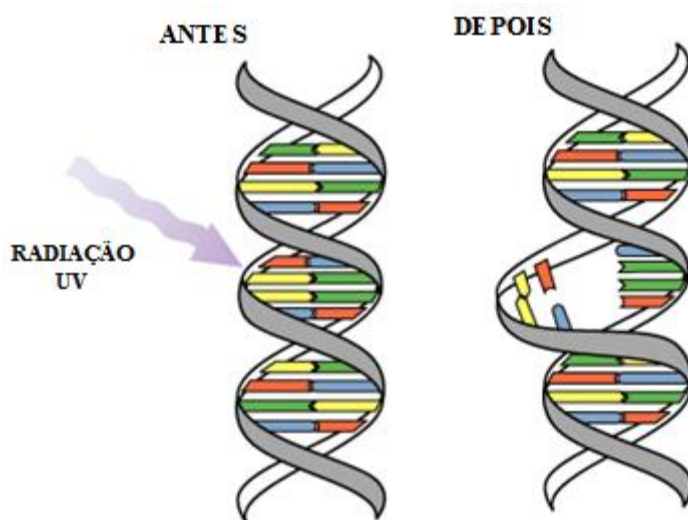


**Figura A.1 - Localização no espectro electromagnético da gama do Ultravioleta (UV) (adaptado de Rouessac e Rouessac, 2007).**

A radiação UV (Figura A.1) é formada por gamas de radiação com características e aplicações práticas específicas. A UV-A (caracterizado por um comprimento de onda de 315 a 400 nm), conhecida como luz negra, representa a maior parte dos raios UV emitidos pelo Sol sendo responsáveis pelo bronzear da pele. Não é prejudicial à saúde e é usada no tratamento médico de certas doenças de pele. A UV-B (280 a 315 nm) representa uma pequena parte dos

raios UV emitidos pelo Sol, é perigosa, sendo parcialmente absorvida pela camada do ozono atmosférico. A exposição prolongada à radiação UV-B pode provocar cancro de pele e cataratas nos olhos. A UV-C (200 a 280 nm) é a causadora do avermelhamento da pele e irritação dos olhos, no entanto, não causa cancro de pele. É a gama mais efectiva na inactivação de vírus e bactérias, sendo por isso usada nos sistemas de desinfecção no tratamento de água. A UV-V (100 a 200 nm) é fortemente absorvido pela água e ar e só se pode transmitir no vazio (Rouessac e Rouessac, 2007).

O sistema de desinfecção por ultravioleta (UV-C) transfere energia electromagnética de uma lâmpada de arco de mercúrio para o material genético do microrganismo (DNA e RNA). Quando a radiação UV penetra a parede celular do organismo destrói a capacidade reprodutora da célula, ou seja, a radiação UV, gerada por descarga eléctrica no vapor de mercúrio, provoca um rearranjo da informação genética que interfere com a capacidade de reprodução da célula. Os microrganismos são inactivados pela radiação UV, resultado de uma alteração fotoquímica no material genético (Figura A.2), impedindo a reprodução celular, levando à sua morte, inibindo, por isso, a capacidade de causar doenças (Hijnen, 2008).



**Figura A.2 - Efeito da radiação UV no material genético (DNA) da célula (adaptado de Goodsell, 2001).**

A eficiência de um sistema de desinfecção por radiação UV depende das características da água a tratar (turbidez, temperatura e depósitos de materiais que se acumulam sobre a lâmpada), da dose e intensidade da radiação UV e do tempo de exposição dos microrganismos à radiação, entres outros factores. Aquando do dimensionamento de um reactor de tratamento por radiação UV tem que se ter em conta os seguintes parâmetros: o tempo de exposição ( $t = [s]$ ) e a dose de radiação UV emitida pela lâmpada ( $D = [mJ/cm^2]$ ).

A eficiência de desinfecção por UV pode atingir, no caso de águas límpidas, taxas de 99,99 %. O comprimento de onda óptimo que conduz a uma eficaz inactivação dos microrganismos encontra-se no intervalo de 250 a 270 nm. A intensidade da radiação emitida pela lâmpada diminui à medida que a distância à lâmpada aumenta.

Normalmente, os sistemas de desinfecção por radiação UV são projectados para proporcionar uma dose de radiação UV entre 25 a 30 mJ/cm<sup>2</sup>, dose esta que é suficiente para destruir 99,9 % da maioria dos microrganismos presentes na água a tratar, com um tempo de exposição de 1 a 2 segundos (Lenntech, 2014). Como se pode observar na Tabela A.3, com doses de UV entre 2 a 12 mJ/cm<sup>2</sup> já se obtém taxas de eficiência de desinfecção de 90 % para os alguns dos microrganismos patogénicos encontrados nas águas cinzentas a tratar.

**Tabela A.3 - Microrganismos patogénicos encontrados nas águas cinzentas e dose de radiação UV necessária para obter uma eficiência de 90 % num tempo de exposição de 1 a 2 segundos (Lenntech, 2014).**

Microrganismo	Dose de radiação UV (mJ/cm <sup>2</sup> )
<i>Bacillus subtilis</i> (esporo)	12,0
<i>Clostridium tetani</i>	4,9
<i>Escherichia coli</i>	5,4
<i>Legionella Pneumophilla</i>	2,0
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	5,5
<i>Saccharomyces cervisiae</i>	6,0
<i>Streptococcus faecalis</i>	4,5

No entanto, para se obter eficiências de desinfecção na ordem dos 99,999 % é necessário fornecer doses de radiação UV muito superiores às mencionadas na Tabela A.3. No caso da bactéria *E. coli*, que se encontra em maior número nas águas e, uma vez que é utilizada muitas vezes como parâmetro indicador da qualidade da água, terá de ser fornecido cinco vezes mais radiação para se obter 99,999 % de eficiência de desinfecção, conforme se pode observar na Tabela A.4, em que se apresenta a dose de radiação UV necessária fornecer para se obter uma determinada eficiência de desinfecção relativamente à *E. coli*, pressupondo um tempo de exposição de 1 a 2 segundos.

**Tabela A.4 - Dose de radiação UV necessária fornecer para se obter uma determinada taxa de eficiência de desinfecção, num tempo de exposição de 1 a 2 segundos, relativamente à *E. coli* (Lenntech, 2014).**

Dose de radiação UV (mJ/cm <sup>2</sup> )	Taxa de eficiência de desinfecção (%)
5,4	90,0
10,8	99,0
16,2	99,9
21,6	99,99
27,0	99,999

## A.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Neste capítulo será apresentado o procedimento experimental realizado para estudar a eficiência de desinfecção por radiação UV.

### A.2.1. Amostras de águas cinzentas e outras águas estudadas

Para avaliar a eficiência de desinfecção da radiação UV foram estudadas amostras de água de várias origens por forma a conhecer uma gama alargada de águas potencialmente utilizáveis em sistema de recuperação *in situ* nas quais é habitual ocorrer contaminação microbiológica.

Na Tabela A.5 apresentam-se as características físico-químicas das águas estudadas na determinação da eficiência de desinfecção através da radiação UV. Foram efectuadas aproximadamente 25 análises por água estudada de forma a ser possível compreender da melhor como variam as características físico-químicas de água para água e de que forma essas características influenciam a eficiência de desinfecção através da radiação UV.

**Tabela A.5 - Características físico-químicas das águas estudadas no estudo da eficiência de desinfecção através da radiação UV.**

	Lavatório (Oficinas do Departamento de Mecânica)	Casa de Banho (Privada)	Casa de Banho (Lar de Idosos)	Lavagem mãos (após trabalho de jardinagem)	Água rega (poço)
<b>pH</b>	6,7 - 6,8	5,6 - 7,0	6,1 - 6,6	6,1 - 6,2	6,2 - 6,4
<b>SST (mg/L)</b>	410 - 630	165 - 495	270 - 1050	855 - 960	380 - 710
<b>NT (mg/L)</b>	7,5 - 13,4	1,6 - 20,2	3,7 - 31,1	5,1 - 5,3	6,4 - 12,5
<b>CT (mg/L)</b>	245,0 - 260,6	93,1 - 160,8	36,1 - 495,1	315,5 - 345,2	48,6 - 301,7
<b>CQO (mg/L)</b>	575,0 - 1241,7	128,3 - 591,7	1218,1 - 1233,5	1810,0 - 2073,7	74,5 - 91,8
<b>Condutividade Eléctrica (µS/cm<sup>2</sup>)</b>	832 - 1074	370 - 798	471 - 547	850 - 897	448 - 490

### A.2.2. Construção do sistema de desinfecção por UV utilizado

Para testar a eficiência da radiação UV no tratamento de águas cinzentas utilizou-se um reactor à escala piloto, de material polimérico resistente à radiação UV, com um volume máximo de 2 L, onde se fez circular um volume de aproximadamente 1,5 L de águas cinzentas com origens diferentes, como referido anteriormente. Como fonte da radiação UV utilizou-se uma lâmpada UV de arco de mercúrio de baixa pressão (*Philips UV PL 18W*), a qual emite essencialmente radiação monocromática a um comprimento de onda de 253,7 nm, proporcionando uma dose de radiação de 25 a 30 mJ/cm<sup>2</sup>. Estas lâmpadas são as mais comuns em sistemas de desinfecção e possuem um tubo de quartzo que contém 60 mg de mercúrio à pressão de aproximadamente 10 Torr e dois filamentos de tungsténio. Para manter a água dentro do reactor constantemente agitada (homogeneizada) utilizou-se uma placa de agitação magnética (*Agitador magnético, VWR série VS-C*). Na figura que se segue apresenta-se um esquema do sistema de desinfecção por UV utilizado.

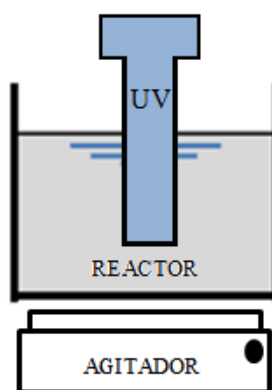


Figura A.3 - Esquema do sistema de desinfecção por UV utilizado.

### A.2.3. Metodologia utilizada para contagem de microrganismos

A contagem de microrganismos foi realizada segundo o método de contagem de microrganismos viáveis em placa em meio nutritivo *Yeast Extract Agar* (YEA). Este método consistiu em inocular um volume de 1 mL das amostras de água em meio YEA numa placa de Petri, deixando a incubar a 37 °C durante 24 horas. No fim desse tempo procedeu-se à contagem dos microrganismos expressando os resultados em Unidades Formadoras de Colónias por mL de amostra (UFC/mL).

Na tabela seguinte apresenta-se a composição do meio nutritivo utilizado na contagem de microrganismos.

**Tabela A.6 - Composição do meio nutritivo utilizado na contagem de microrganismos.**

Reagente	Yeast Extract Agar (YEA)		
	Concentração (g/L)	Marca	Número CAS*
<b>Tryptona</b>	6	Panreac	91079-40-2
<b>Extracto de Levedura</b>	3	Fisher Scientific	8013-01-2
<b>Ágar-Ágar</b>	10	José M. Vaz Pereira, S.A.	9002-18-0

\* É um número de registo único de um composto químico, polímero, sequência biológica e liga no banco de dados do *Chemical Abstracts Service* (CAS), uma divisão da *Chemical American Society*.

#### **A.2.4. Estudo da eficiência de desinfeção por radiação UV**

De modo a estudar a eficiência de desinfeção por radiação UV foi estudado a alteração em termos de contagem de UFC antes e após o contacto das amostras de água em estudo com a radiação UV e ao longo de um determinado período de tempo até se obter uma eficiência de desinfeção integral.

Posteriormente, foram realizadas duas experiências com o intuito de avaliar a eficiência de desinfeção por radiação UV em águas cinzentas, em que se fez modificar a turvação da água.

##### **Experiência 1: Avaliação do processo de desinfeção por radiação UV na reutilização de águas cinzentas**

De modo a testar a eficiência de desinfeção através da radiação UV no reactor à escala piloto, utilizaram-se diferentes amostras de águas cinzentas. Para verificar a eficiência de desinfeção por radiação UV procedeu-se à contagem de UFC antes e após o contacto das amostras de água em estudo com a radiação UV, conforme mencionado anteriormente.

O tempo de exposição das amostras de água à radiação UV inicialmente estipulado foi de 1 minuto, retirando-se ao fim deste tempo, cada amostra de água do reactor procedendo-se, novamente, ao método de contagem de microrganismos em placa.

Posteriormente, realizaram-se experiências em que se pretendeu variar o tempo de exposição das amostras de água à radiação UV, de modo a determinar qual o tempo óptimo para obter uma eficiência integral de desinfeção.



## Experiência 2: Estudo da influência da turvação da água no processo de desinfecção por radiação UV

Por forma a averiguar a influência da turvação no processo de desinfecção por radiação UV realizou-se uma experiência, na qual uma solução de suspensão de *E. coli* com uma concentração de 0,336 g<sub>E.coli</sub>/L foi colocada no reactor, tendo sido posteriormente adicionado um líquido tensoactivo (shampoo da marca *Continente*), que ao turvar a amostra, permite diminuir a sua transmitância. A adição do tensoactivo foi efectuada em diferentes concentrações (10 e 100 g/L) em dois ensaios distintos, sendo realizado ainda um novo ensaio onde não foi adicionado líquido tensoactivo à solução. O volume final de líquido a tratar no reactor para os três ensaios foi de 1,5 L, perfazendo-se os volumes iniciais de todos os ensaios com água destilada

O volume final de líquido foi então exposto à radiação UV no reactor, do qual se retiraram amostras de líquido de 5 mL ao longo de 25 minutos do reactor em intervalos de tempo determinados conforme se descreve na Figura A.4 e foram submetidas a um ensaio de crescimento microbiológico em meio nutritivo YEA, tendo sido efectuada a contagem de UFC, após incubação ao final de 24 horas a 37 °C, como descrito anteriormente.

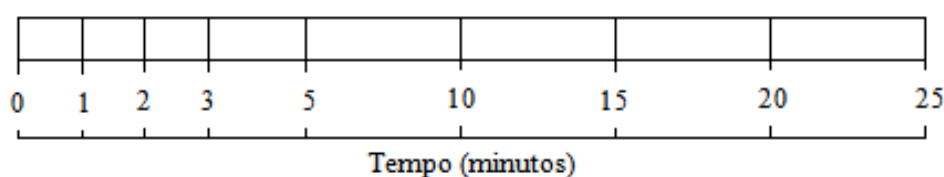


Figura A.4 - Esquema dos diferentes intervalos de tempo em que foram retiradas as amostras do reactor para crescimento de microrganismos em meio YEA com o objectivo de fazer a contagem de UFC.

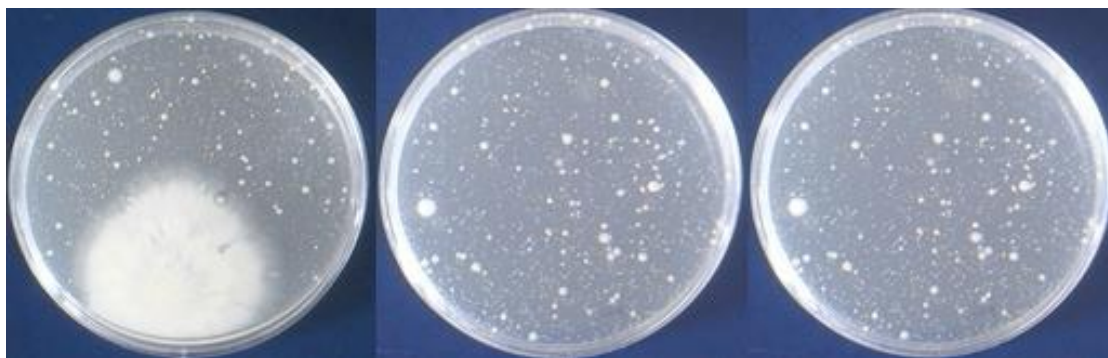
### A.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

O estudo da eficiência de desinfecção por radiação UV no tratamento de águas cinzentas neste trabalho laboratorial, passou por colocar diferentes amostras de águas cinzentas expostas a radiação UV, num reactor. A contagem de UFC/mL antes e após o contacto das diferentes amostras de água em estudo à radiação UV permitiu determinar a eficiência da desinfecção por radiação UV na eliminação de microrganismos.

Os resultados que serão apresentados correspondem às duas experiência realizadas, nas quais se atendeu a dois factores importantes que influenciam este processo, tais como o tempo de exposição das amostras à radiação UV e as características da água, mais concretamente, a turvação.

**Experiência 1: Avaliação do processo de desinfecção por radiação UV na reutilização de águas cinzentas**

Antes de proceder ao processo de desinfecção por radiação UV nas águas estudadas, verificou-se que todas as amostras de águas a tratar utilizadas no reactor tinham uma grande contaminação microbiológica inicial através da contagem de microrganismos numa placa de Petri com meio nutritivo YEA (Figura A.5), tendo-se observado a formação de várias espécies de microrganismos, indetectáveis através da sua morfologia.



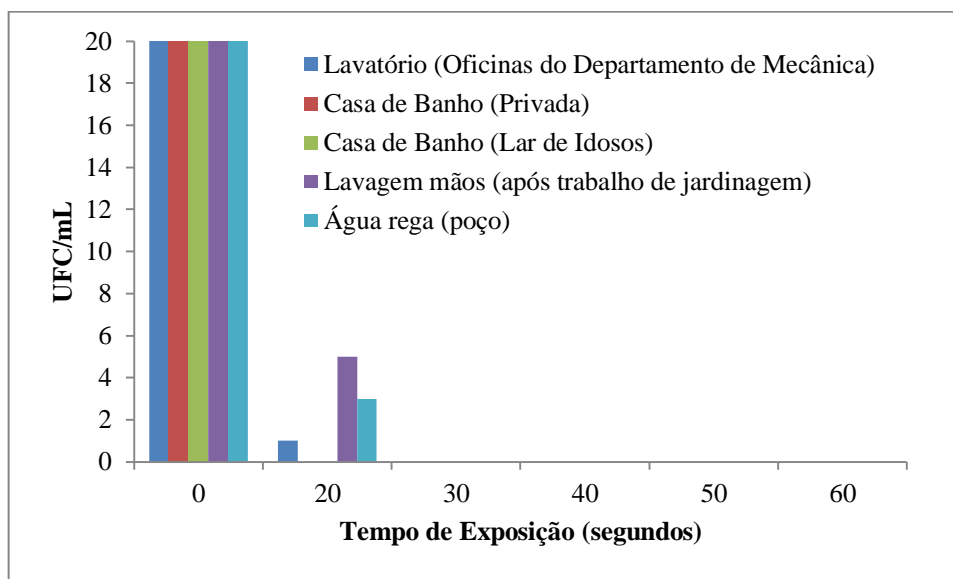
**Figura A.5 - Microrganismos presentes nas diferentes águas cinzentas a tratar antes do tratamento de desinfecção por radiação UV.**

Para avaliar a capacidade de desinfecção do sistema estudado, as amostras de água foram expostas à radiação UV, a um comprimento de onda de 253,7 nm proporcionando uma dose de radiação UV entre 25 a 30 mJ/cm<sup>2</sup>.

Num primeiro ensaio sujeitaram-se as amostras de água a um tempo de exposição de 1 minuto, pois, as diferentes águas a tratar possuíam diferentes características (turbidez, sólidos em suspensão, etc.). Verificou-se, contudo, que as águas estudadas não apresentaram crescimento de microrganismos ao fim deste tempo de exposição à radiação UV. Desta forma, realizou-se um segundo ensaio em que o tempo de exposição à radiação UV foi diminuído para 30 segundos. Uma vez mais, observou-se que este tempo de exposição eliminou os microrganismos presentes na água, não havendo qualquer crescimento microbiológico. Então, estipulou-se um tempo de exposição à radiação UV de apenas 20 segundos (o valor mais baixo que o sistema permite operacionalizar), tendo-se verificado que ao fim deste tempo de exposição as águas mais turvas não apresentavam uma eficiência de desinfecção total, registando algumas UFC/mL no final do período de incubação.

Como se observa na Figura A.6 verifica-se que existe diferentes eficiências de desinfecção através da radiação UV. Ao final 20 segundos de exposição à radiação UV verificou-se que as águas com origem no Lavatório (Oficinas do Departamento de Mecânica), Lavagem de mãos (após trabalho de jardinagem) e Água de rega (poço) ainda apresentam crescimento

microbiológico, no entanto, as restantes já não apresentavam qualquer crescimento. Após 30 segundos de exposição à radiação UV já nenhuma água estudada apresentava crescimento microbiológico no final do período de incubação em meio nutritivo YEA.



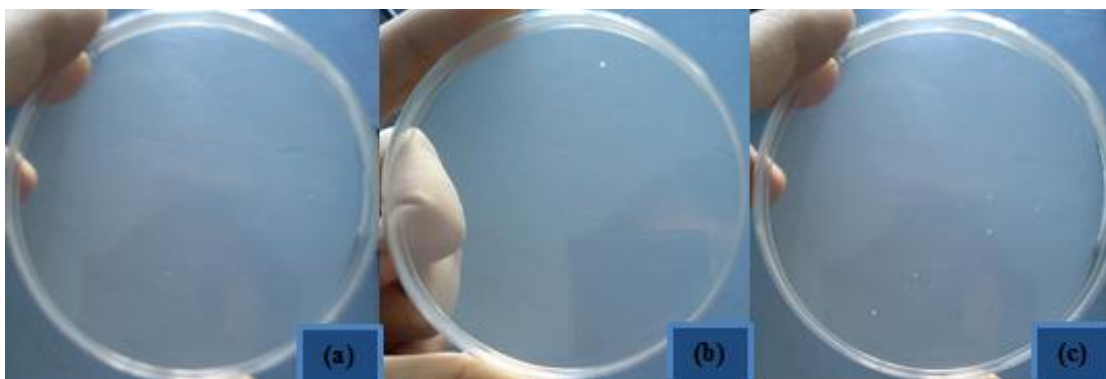
**Figura A.6 - Representação gráfica das UFC/mL versus o tempo de exposição à radiação UV.**

*Nota: No momento inicial (0 segundos) todas as águas estudadas apresentam UFC/mL superiores a 300, no entanto, para uma possível representação gráfica assumiu-se como valor máximo 20 UFC/mL.*

De acordo com a Figura A.6, pode-se concluir que um tempo de exposição de 30 segundos garante a integral desinfecção de todos tipos de águas estudadas.

Além disso, averiguou-se também, que a característica da água que mais influenciou o tempo de exposição da radiação UV foi a turvação. Foi notável que a desinfecção em águas que inicialmente apresentavam maior contaminação microbiológica ao fim de 20 segundos foi total, enquanto que águas com menor contaminação microbiológica inicial, mas com um aspecto mais turvo, ao fim de 20 segundos ainda apresentavam contaminação microbiológica. Este resultado aponta para o facto da turvação da água ser um parâmetro crítico no processo de desinfecção por radiação UV de águas cinzentas.

Na Figura A.7 apresentam-se três crescimentos microbiológicos numa placa de Petri contendo meio nutritivo YEA de diferentes águas cinzentas após 20 segundos de exposição à radiação UV.



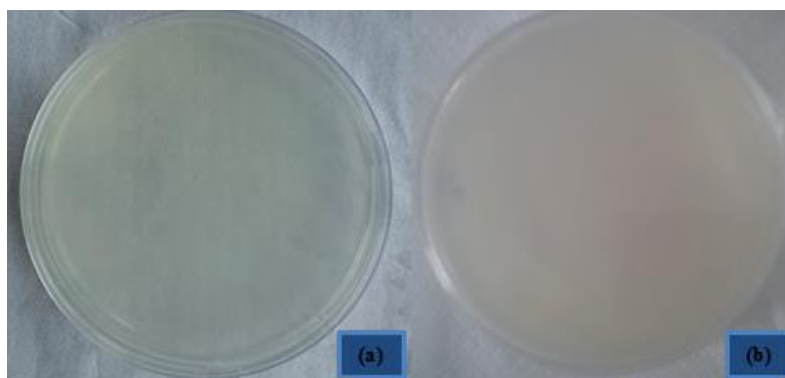
**Figura A.7 - Crescimento microbiológico ao fim de 20 segundos de exposição à radiação UV de diferentes águas cinzentas a tratar: (a) água límpida (Casa de Banho (Privada)), (b) água com alguma turvação (Água rega (poço)) e (c) água com elevada turvação (Lavagem mãos (após trabalho de jardinagem)).**

Como se observa pela Figura A.7, no caso da água límpida (a) ao fim de 20 segundos de exposição não existe nenhum crescimento microbiológico. Quanto à água que apresenta uma certa turvação (b) já foi possível observar crescimento ao fim de 20 segundos de exposição à radiação UV. A amostra de água com elevada turvação (c) evidenciou um crescimento microbiológico superior aos casos (a) e (b) ao fim de 20 segundos de exposição à radiação UV. De notar, que as águas dos três casos apresentados na Figura A.7 apresentavam um crescimento microbiológico inicial aparente muito semelhante.

#### **Experiência 2: Estudo da influência da turvação da água no processo de desinfecção por radiação UV**

Nesta segunda experiência foram realizados três ensaios para avaliar a influência da turvação na eficiência de desinfecção por radiação UV nas águas cinzentas a estudar. Como já referido anteriormente, na avaliação deste tratamento de desinfecção foi efectuado a contagem de microrganismos antes e após as amostras a estudar serem submetidas a diferentes tempos de desinfecção por radiação UV.

Como seria de esperar, em todos os ensaios realizados, para o momento inicial observou-se um crescimento microbiológico muito elevado após incubação ao final de 24 horas a 37 °C em placa com meio nutritivo YEA. O crescimento microbiológico foi de tal maneira elevado que a placa estava completamente preenchida, apresentado desta forma um tom baço, ou seja, crescimento em tapete como se apresenta na Figura A.8.

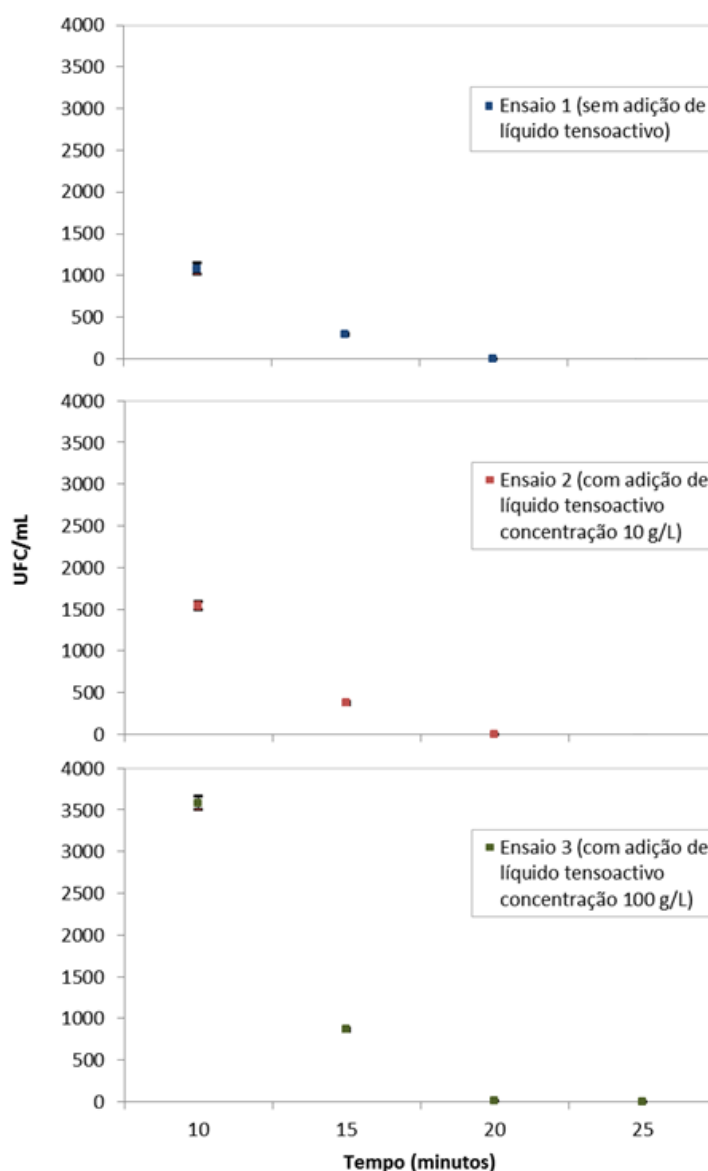


**Figura A.8 - Comparação entre ausência de crescimento microbiológico (a) e crescimento microbiológico bastante elevado (b), ou seja, crescimento em tapete, antes do tratamento de desinfecção por radiação UV.**

Para os três ensaios realizados sem adição de líquido tensoactivo e com a adição de de líquido tensoactivo por forma a obter uma solução com uma concentração de 10 e 100 g/L de tensoactivo, observou-se crescimentos microbiológicos distintos nas amostras retiradas ao longo do tempo.

Nos primeiros 5 minutos após o início da exposição à radiação UV observou-se um elevado crescimento microbiológico, apesar de ser possível observar uma tendência de diminuição microbiológica, no primeiro e segundo ensaio (sem e com 10 g/L de líquido tensoactivo). No terceiro caso (100 g/L de líquido tensoactivo) não foi possível observar uma redução no crescimento microbiológico.

Com o decorrer do tempo de exposição à radiação UV, só é possível observar uma diminuição acentuada na contagem de UFC nas amostras retiradas após 10 minutos de exposição. Na Figura A.9 apresenta-se a diminuição microbiológica expressa em UFC/mL ao longo do tempo de exposição à radiação UV, após os 10 minutos para os três ensaios realizados, pois antes deste tempo ainda não é possível observar colónias isoladas, impossibilitando desta forma a sua contagem.



**Figura A.9 - Diminuição microbiológica expressa em UFC/mL após 10 minutos de exposição da amostra à radiação UV, para os três ensaios realizados.**

No primeiro ensaio aos 10 minutos de exposição à radiação UV foi possível observar colónias isoladas, apesar de o número de UFC ser ainda bastante elevado, aproximadamente 1081 UFC/mL. Após 15 minutos de exposição de exposição à radiação UV, apesar de ainda apresentar elevado crescimento microbiológico, foi obtido um menor número de microrganismos após incubação, cujo valor foi de 295 UFC/mL. Após 20 minutos de exposição à radiação UV já não se verificou qualquer crescimento microbiológico.

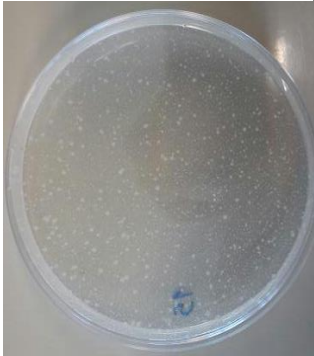
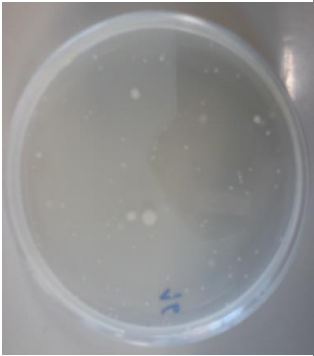
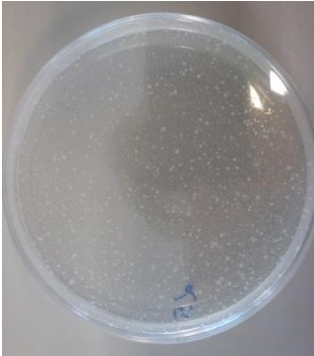
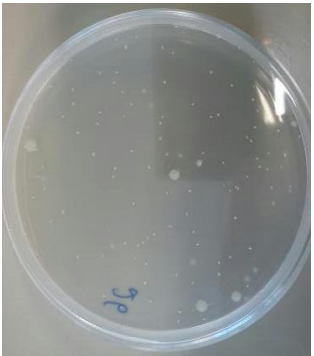
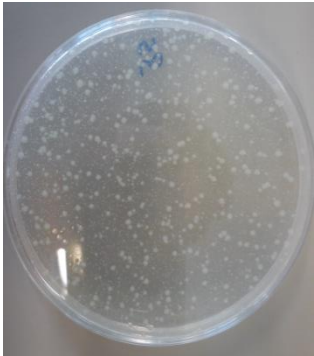


No segundo ensaio, após a adição de uma solução de líquido tensoactivo por forma a obter uma concentração de 10 g/L, à suspensão de *E. coli*, houve um aumento da turvação do volume de líquido comparativamente ao primeiro ensaio. Durante os primeiros minutos de exposição à radiação UV observou-se uma pequena diminuição da densidade microbiológica,

apesar, de ser um decréscimo relativamente ao primeiro ensaio. A partir dos 10 minutos de exposição à radiação verificou-se, então, uma diminuição acentuada do número de UFC, sendo, no entanto, um valor ainda muito elevado, 1545 UFC/mL. Aos 15 minutos de exposição à radiação UV, apesar de ainda se observar um crescimento microbiológico elevado, foi obtido um menor número de UFC após incubação, o qual foi de 376 UFC/mL. Ao final de 20 minutos de exposição da amostra à radiação UV, já não se registou crescimento de microrganismos.

No terceiro ensaio foi efectuada a adição de um volume de líquido tensoactivo com uma concentração de 100 g/mL à suspensão de *E. coli*, aumentando, deste modo significativamente a turvação observada do volume de líquido comparativamente ao primeiro e segundo ensaio. Nas amostras retiradas do reactor até aos 5 minutos de exposição à radiação UV, não se observou uma tendência de diminuição do crescimento dos microrganismos como se havia verificado nos outros ensaios. À semelhança dos ensaios anteriores, aos 10 minutos de exposição à radiação UV, já se observou uma diminuição acentuada no número de UFC, sendo no entanto, um valor ainda muito elevado, 3584 UFC/mL. Aos 15 minutos de exposição à radiação UV, o número de UFC/mL era de 868. Ao contrário dos ensaios anteriores, aos 20 minutos de exposição à radiação UV ainda se verificou crescimento microbiano, salientando contudo, que já era observável um crescimento bastante reduzido (8 UFC/mL) de tal forma que após 21 minutos de exposição à radiação UV já não ocorria crescimento de microrganismos.

Na tabela que se segue apresenta-se o crescimento de microrganismos, em placas de Petri com meio nutritivo YEA após incubação, para os tempos de exposição à radiação UV de 10, 15, 20 e 25 minutos.

Tabela A.7 - Crescimento de microrganismos, em placas de Petri com meio nutritivo YEA após incubação, para s tempos de exposição à radiação UV: 10, 15, 20 e 25 minutos.

Ensaio	Tempo de exposição à radiação UV (minutos)			
	10	15	20	25
1 - Sem adição de líquido tensoactivo			(não apresenta crescimento)	(não apresenta crescimento)
2 - Com adição de líquido tensoactivo concentração 10 g/L			(não apresenta crescimento)	(não apresenta crescimento)
3 - Com adição de líquido tensoactivo concentração 100 g/L				(não apresenta crescimento)



Como se observa na Tabela A.7, quanto maior for a turvação da solução contendo *E. coli* menor vai ser a diminuição de UFC/mL ao longo do tempo de exposição à radiação UV.

Nos três ensaios realizados para analisar a influência da turvação da água a tratar na eficiência de desinfecção da radiação UV, verificou-se que o ensaio onde se adicionou uma solução de líquido tensoactivo com uma concentração de 100 g/L requeria um maior tempo de exposição à radiação UV para se conseguir observar uma tendência de diminuição dos microrganismos.

Nos três ensaios realizados, só se observa uma tendência de diminuição acentuada aos 10 minutos de exposição à radiação UV. Tanto no primeiro e segundo ensaio foram precisos aproximadamente 20 minutos de exposição à radiação UV para haver uma eficiência integral de desinfecção. No entanto, no segundo ensaio, averiguou-se sempre um maior número de UFC ao longo do tempo de exposição. No terceiro ensaio, no qual se adicionou uma solução de líquido tensoactivo com uma concentração de 100 g/L, existiu sempre um maior número de UFC/mL ao longo do tempo de exposição comparativamente aos outros ensaios, precisando de um maior tempo de exposição à radiação UV para haver uma eficiência integral de desinfecção (21 minutos).

Pode-se então concluir que a turvação da água será crítico na diminuição de microrganismos na reutilização de águas cinzentas.

## **A.4. CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES**

### **A.4.1. Conclusões gerais**

A reutilização de águas cinzentas é um potencial método para reduzir o consumo de água potável em edifícios e desta forma reduzir as descargas de esgotos nos saneamentos municipais e reduzir os custos das estações de tratamento (ETAR's). Os benefícios ambientais e económicos dos sistemas de reutilização de águas cinzentas são significativos. No entanto, os sistemas de reutilização de águas cinzentas devem cumprir diferentes critérios, tais como, segurança, confiabilidade e custo.

Observou-se que o reactor desenvolvido à escala piloto com uma lâmpada UV de baixa pressão, emitindo essencialmente radiação a um comprimento de onda de 253,7 nm, consegue ter uma eficiência integral de desinfecção (inactivação/destruição de microrganismos) para todas as águas cinzentas e de rega (poços) estudadas para tempos de exposição iguais ou superiores a 30 segundos.

Após os três ensaios para analisar a influência da turvação da água a tratar é possível concluir que o aumento da turvação leva a uma menor eficiência de desinfecção por radiação UV. Neste estudo, verificou-se uma diminuição mais lenta do número de UFC/mL quanto maior fosse a turvação da amostra para a mesma concentração inicial de suspensão de *E. coli*. Além

disso, averiguou-se também que a amostra com maior turvação (100 g/L de solução de líquido tensoactivo) requereu aproximadamente 21 minutos para eliminar todos os microrganismos, contrariamente aos outros ensaios, no qual o tempo de exposição à radiação UV final foi de aproximadamente 20 minutos.

Em suma, conclui-se que a turvação leva a uma menor eficiência de desinfecção por radiação UV. De modo a manter uma eficiência integral de desinfecção é necessário aumentar o tempo de exposição da amostra à radiação UV, ou seja, aumentar o tempo de circulação da amostra.

#### **A.4.2. Sugestões para trabalhos futuros**

O trabalho efectuado sugere que seria útil fazer um estudo com uma gama maior de amostras de água com origens diferentes para verificar se o tempo de exposição à radiação UV se mantém idêntico (30 segundos).

Por outro lado, sugeriu também que seria importante realizar um estudo com gamas superiores de concentrações iniciais de microrganismos assim como variar as concentrações de líquido tensoactivo que se adiciona. Reduzindo também o tempo de amostragem para contagem de UFC após incubação de modo a observar o tempo óptimo de exposição à radiação UV onde se observa uma eficiência integral de desinfecção. Como o processo de recolha de amostras não é totalmente fiável, sugere-se o estudo de um novo método de recolha das amostras, para melhor controlo do processo de desinfecção por radiação UV.

## B. Requisitos básicos e cláusulas normativas da NP EN ISO 22000:2005 e do referencial IFS – *International Featured Standards*

Na Tabela B.1 é apresentada a estrutura base da NP EN ISO 22000:2005.

**Tabela B.1 - Estrutura da NP EN ISO 22000:2005.**

<b>Estrutura da NP EN ISO 22000:2005</b>	
<b>Secção</b>	<b>Cláusulas</b>
<b>4. Sistema de Gestão da Segurança Alimentar</b>  A organização deve estabelecer, documentar, implementar e manter um Sistema de Gestão da Segurança Alimentar eficaz e melhorar continuamente a sua eficácia de acordo com esta norma (IPQ, 2013).	4.1 Requisitos gerais 4.2 Requisitos da documentação
<b>5. Responsabilidade da gestão</b>  Esta secção tem como objectivo assegurar o comprometimento e envolvimento activo da gestão de topo no desenvolvimento e implementação do Sistema de Gestão da Segurança Alimentar e na melhoria da sua eficácia (Pinto e Soares, 2009).	5.1 Comprometimento da gestão 5.2 Política da segurança alimentar 5.3 Planeamento do sistema de gestão da segurança alimentar 5.4 Responsabilidade e autoridade 5.5 Responsável da equipa da segurança alimentar 5.6 Comunicação 5.7 Preparação e resposta à emergência 5.8 Revisão pela gestão
<b>6. Gestão de recursos</b>	6.1 Provisão de recursos 6.2 Recursos humanos 6.3 Infra-estrutura 6.4 Ambiente de trabalho
<b>7. Planeamento e realização de produtos seguros</b>  A organização deve lanear e desenvolver os processos necessários à realização do produto (IPQ, 2013).	7.1 Generalidades 7.2 Programas pré-requisitos (PPR's) 7.3 Etapas preliminares à análise de perigos 7.4 Análise de perigos 7.5 Estabelecimento de programas pré-requisitos operacionais 7.6 Estabelecimento do plano HACCP 7.7 Actualização da informação preliminar e dos documentos que especificam os PPR's e o plano HACCP 7.8 Planeamento da verificação 7.9 Sistema de rastreabilidade 7.10 Controlo da não conformidade
<b>8. Validação, verificação e melhoria do Sistema de Gestão da Segurança Alimentar</b>	8.1 Generalidade 8.2 Validação das combinações das medidas de controlo 8.3 Controlo da monitorização e medição 8.4 Verificação do sistema de gestão da segurança alimentar 8.5 Melhoria

Na Tabela B.2 apresenta-se a estrutura do referencial IFS – *International Featured Standards*.

**Tabela B.2 - Estrutura do referencial IFS - *International Featured Standards*.**

<b>Estrutura do referencial IFS – <i>International Featured Standards</i></b>	
<b>Secção</b>	<b>Cláusula</b>
<b>1. Responsabilidade da Gestão do Topo</b>	1.1 Política da Organização/Princípios da Organização 1.2 Estrutura Organizacional 1.3 Focalização no Cliente 1.4 Revisão pela Gestão
<b>2. Sistema de Gestão da Qualidade</b>	2.1 Gestão da Qualidade 2.2 Gestão da Segurança Alimentar
<b>3. Gestão de Recursos</b>	3.1 Gestão de Recursos Humanos 3.2 Recursos Humanos 3.3 Formação 3.4 Instalações sanitárias, equipamento para a higiene pessoal e instalações sociais
<b>4. Processos de Produção</b>	4.1 Análise do Contrato 4.2 Especificações do Produto 4.3 Desenvolvimento do Produto 4.4 Compras 4.5 Embalagem do Produto 4.6 Envolvente da Fábrica 4.7 Limpeza e Higiene 4.8 Resíduos/Depósitos de lixo 4.9 Risco de corpos estranhos, metais, pedaços de vidro e madeira 4.10 Monitorização de pragas/Controlo de pragas 4.11 Recepção e armazenamento de mercadorias 4.12 Transporte 4.13 Manutenção e reparação 4.14 Equipamentos 4.15 Processo de validação 4.16 Rastreabilidade 4.17 Organismos geneticamente modificados 4.18 Condições específicas de produção
<b>5. Medição, Análise e Melhoria</b>	5.1 Auditorias internas 5.2 Inspecções na produção 5.3 Controlo do Processo 5.4 Calibração e Verificação dos Equipamentos de Monitorização e Medição 5.5 Verificação de Quantidade (controlo de quantidade/enchimento) 5.6 Análise do Produto 5.7 Quarentena e Liberação do Produto 5.8 Tratamento de Reclamações de Autoridade e Clientes 5.9 Gestão de Incidentes, bloqueio e retirada do produto 5.10 Gestão do Produto Não Conforme 5.11 Acções correctivas

### **C. Técnica de recolha de amostras nos pontos de amostragem ao longo do processo produtivo da empresa**

No processo de amostragem existem cuidados a ter, pois qualquer erro pode levar à influência dos resultados. O ponto de amostragem é uma torneira no local onde se pretende analisar.

A técnica de recolha de amostras utilizada é a seguinte:

1. Abrir a torneira e deixar correr água durante 1 a 2 minutos a fim de desprezar a água que estava retida na canalização;
2. Passar com álcool na torneira e flamejar de modo a esterilizar a torneira;
3. Abrir de novo a torneira e deixar correr água cerca de 2 minutos;
4. Efectuar a colheita, mantendo o frasco em posição oblíqua, com a ponta da torneira dentro do frasco, para evitar penetração de ar contaminado no seu interior (o frasco é previamente esterilizar em autoclave);
5. Rolhar o frasco e rotular de imediato a amostra.

Esta técnica refere-se apenas aos pontos de amostragem anteriores ao produto acabado.

As amostras são transportadas em recipientes próprios e mantidas entre 4° a 8°C até ao momento da análise, que deve ser efectuada até 6 horas após a recolha da amostra.

## **D. Procedimentos experimentais utilizados no controlo microbiológico**

De seguida serão apresentados os protocolos experimentais utilizados no controlo microbiológico efectuado à água, desde a captação até ao produto final, passando pelo armazenamento nos depósitos.

### **D.1. Determinação de microrganismos a 37 °C e a 22 °C (técnica baseada na descrita na ISO 6222)**

Na determinação de microrganismos a 37 °C e a 22 °C utiliza-se a técnica de sementeira por incorporação.

#### **1. Objectivo e campo de aplicação**

Todo o tipo de água contém uma variedade de microrganismos, sendo provenientes do solo ou da vegetação, a estimativa dos números globais dos mesmos fornece informações úteis para a avaliação e vigilância da qualidade da água.

Esta contagem é feita normalmente através de microrganismos capazes de crescer e formar colónias em meio agar nutritivo a 37 °C e a 22 °C. A contagem das colónias é útil como indicador para demonstrar a integridade da água.

O método baseia-se na técnica de sementeira por incorporação num meio gelosado selectivo (*Yeast Extract Agar*).

#### **2. Definições**

Entende-se por mesófilos, organismos que se desenvolvem melhor em condições de temperatura moderada, entre os 15 °C e os 40 °C. Termófilos são organismos que se desenvolvem melhor em condições de temperaturas elevadas, entre os 30 °C e os 80 °C.

#### **3. Procedimento:**

- i. Introduzir 1 mL de inóculo numa Caixa de Petri;
- ii. Adicionar o meio *Yeast Extract Agar*, previamente fundido e arrefecido a 47 °C. Agitar a placa, com movimentos em forma de oito, para homogeneizar a amostra e deixar solidificar;
- iii. Inverter a Caixa de Petri e colocar a incubar durante 24 horas a 37 °C para os termófilos e durante 72 horas a 22 °C para os mesófilos;

Efectuar a contagem do número de colónias expressando os resultados em UFC/mL.

## D.2. Determinação de *Clostrídios* Sulfito-Redutores (técnica baseada na descrita na ISO 6461-2)

Na determinação de esporos de *Clostrídios* Sulfito-Redutores recorre-se à técnica de filtração por membrana.

### 1. Objectivo e campo de aplicação

O método para a pesquisa de bactérias denominadas *Clostrídios* em águas não tratadas (águas naturais) baseia-se na filtração através de membrana com subsequente cultura num meio gelosado selectivo (TSC).

### 2. Definições

Entende-se por *Clostrídios*, bactérias anaeróbias sulfito-redutoras, saprófitas, gram-positivas, produtoras de esporos que pertencem à família *Bacillaceae* e ao género *Clostridium*. Encontram-se no solo, intestino animal e locais sem higiene.

### 3. Procedimento

- i. Medir 50 mL da amostra para o frasco estéril. Aquecer até à temperatura de  $75 \pm 5$  °C. Quando for atingida essa temperatura efectua-se um tratamento térmico durante 15 minutos, de modo a inactivar as formas vegetativas das bactérias presentes;
  - a) Preparação das placas: fundir um frasco de *Sulphito Cycloserine Agar* (TSC) a 47 °C e deitar em Caixas de Petri e deixar solidificar.
- ii. Efectuar a filtração de 50 mL da amostra inactivada, utilizando filtros estéreis com diâmetro de poro 0,22 µm;
- iii. Retirar o filtro e colocar sobre uma Caixa de Petri com meio *Sulphito Cycloserine Agar* (TSC). Se as placas não forem preparadas no dia da utilização devem ser conservadas no frio ( $5 \pm 3$  °C) e em anaerobiose;
- iv. Inverter as placas e colocar numa jarra de anaerobiose, adicionar um gerador de anaerobiose e uma fita indicadora de anaerobiose. Encerrar a jarra imediatamente a seguir à colocação da fita indicadora de anaerobiose;
- v. Efectuar a incubação a 37 °C durante 24 horas;

- vi. Efectuar a contagem de todas as colónias cinzentas e/ou negras (Figura D.1);



**Figura D.1 - Colónias características de Clostrídios Sulfito-Redutores.**

- vii. Expressar o número de colónias características por volume filtrado (50 mL).

### **D.3. Determinação de Coliformes Totais e Coliformes Fecais (técnica baseada na descrita na ISO 9308-1)**

Na determinação de coliformes totais e coliformes fecais recorre-se à técnica de filtração por membrana. Utiliza-se a *Escherichia coli* como indicadora de coliformes fecais.

#### **1. Objectivo e campo de aplicação**

O método para a pesquisa e quantificação de bactérias coliformes totais e *E. coli* em águas não tratadas (águas naturais) baseia-se na filtração através de membrana com subsequente cultura num meio gelosado selectivo e cálculo do número de organismos alvo na amostra.

#### **2. Definições**

Coliformes totais compõem os grupos de bactérias gram-negativas que podem ser aeróbias ou anaeróbias dependendo do ambiente e da bactéria, não originam esporos e fermentam a lactose, produzindo ácido e gás a uma temperatura de  $37 \pm 2$  °C. *E. coli* é uma bactéria coliforme que fermenta a lactose e produz indol a partir de triptofano a  $44 \pm 0,5$  °C em  $21 \pm 3$  horas e hidrolisam o MUG (*4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide*) apresentando fluorescência à luz ultravioleta.



### 3. Procedimento:

- i. Agita-se a amostra por fim a promover uma distribuição homogénea dos microrganismos;
- ii. Filtra-se 250 mL de amostra de água, através de uma membrana filtrante estéril de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$ , suficiente para reter os microrganismos;
- iii. Coloca-se uma membrana num meio de cultura gelosado lactosado selectivo (MLSA) depositado numa Caixa de Petri e solidificado previamente, certificando-se que não fica ar retido entre a membrana e o meio, incubando-se a Caixa de Petri de forma invertida a  $36\pm 2$  °C por  $24\pm 3$  horas.

#### *Coliformes totais*

Contam-se as colónias incubadas à temperatura de  $36\pm 2$  °C por  $24\pm 3$  horas, qualquer que seja o seu aspecto, que mostrem um desenvolvimento de cor amarela no meio por baixo da membrana e é feita uma subcultura de cinco dessas colónias para um agar não selectivo, que se incuba mais uma vez a  $36\pm 2$  °C por  $24\pm 3$  horas. A partir das culturas desenvolvidas efectua-se o teste da oxidase. Consideram-se coliformes, todas as colónias que nestas condições apresentam uma reacção oxidase negativa.

No caso de apresentarem desenvolvimento de colónias de cor laranja no meio por baixo da membrana é feita uma subcultura dessas colónias, seleccionadas ao acaso, para os testes de confirmação (fermentação da lactose por mudança de cor para amarelo do *DEV fluorocult* ao colocar as colónias a  $36\pm 2$  °C por  $24\pm 3$  horas, fazendo por fim o teste da oxidase). Consideram-se coliformes todas as colónias que nestas condições apresentam uma reacção oxidase negativa e mudança de cor do meio para amarelo.

*Escherichia coli*

Efectuam-se testes de confirmação a partir das colónias de coliformes totais (caso o número de colónias seja superior a dez deve-se efectuar a confirmação em cinco colónias seleccionadas ao acaso) em meio *DEV fluorocult*, que se colocam a incubar na estufa ou banho à temperatura de  $44\pm 0,5$  °C durante  $21\pm 3$  horas.

Após a incubação dos tubos observa-se a fermentação da lactose pela mudança de cor do meio de cultura para amarelo, a produção de indol a partir do triptofano, pelo desenvolvimento de cor vermelha cereja à superfície do meio de confirmação após a adição de 0,2 mL de reagente de *Kovac* ou desenvolvimento de fluorescência sob luz ultravioleta.

Contam-se como *E. coli* as colónias que são oxidase negativa, lactose positiva e apresentam fluorescência ou indol positivo.

#### 1. Expressão de resultados

A partir do número de colónias quantificadas na membrana e tendo em conta os resultados dos ensaios de confirmação efectuados, calcula-se o número de organismos coliformes totais e *E. coli* presentes no volume de amostra filtrado, por aplicação da seguinte equação:

$$C = N \times \frac{A}{B} \quad (2)$$

em que *C* é o número de colónias confirmadas, *A* é o número de colónias realmente confirmadas, *B* é o número de colónias cultivadas para confirmação e *N* é o número de colónias características sob membrana. O resultado é expresso em unidades formadoras de colónias (UFC) por 250 mL.

### D.4. Determinação de *Enterococos* (técnica baseada na descrita na ISO 7899-2)

Na determinação de *enterococos* recorre-se à técnica de filtração por membrana.

#### 1. Objectivo e campo de aplicação

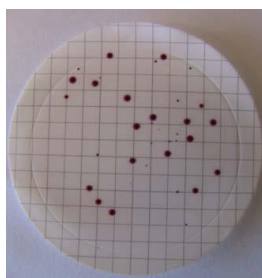
O método para a pesquisa e quantificação de *enterococos* em águas não tratadas (águas naturais) baseia-se na filtração através de membrana com subsequente cultura num meio gelosado selectivo (*Slanetz and Bartley Agar Base*).

#### 2. Definições

Entende-se por *enterococos* bactérias que pertencem ao grupo de bactérias lácticas que podem provocar alterações do tracto intestinal. É importante a avaliação da virulência e desempenho como indicadores de higiene.

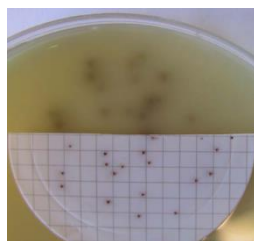
### 3. Procedimento:

- i. Filtrar um volume conhecido da água a analisar (250 mL) através de uma membrana filtrante estéril com uma porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ , onde ficam retidas as bactérias a quantificar;
- ii. Colocar a membrana sobre o meio de cultura selectivo (*Slanetz and Bartley Agar Base*) para a detecção do grupo específico de microrganismos indicadores, contido numa Caixa de Petri. A manipulação das membranas é efectuada utilizando uma pinça metálica apropriada e esterilizada à chama. Ao colocar a membrana filtrante sobre o meio deve-se ter cuidado para não deixar ar retido entre a membrana e o meio;
- iii. Incubar a Caixa de Petri, de forma invertida, durante 48 horas a 37 °C;
- iv. Observar e contar as colónias formadas sobre a membrana (Figura D.2);



**Figura D.2 - Colónias características de *enterococos*.**

- v. Caso existam colónias em tons *bordeaux* é necessário proceder à confirmação, transferindo a membrana para um Caixa de Petri com meio *Bile Esculin Azide* (BEA) e vai a incubar com a Caixa de Petri de forma invertida durante 2 horas a 44 °C;
- vi. A mudança de cor do meio para preto ou castanho indica a presença de *enterococos* na amostra (Figura D.3);



**Figura D.3 - Mudança da cor do meio de cultura.**

- vii. Expressar o número de colónias características por volume de filtrado.

### **D.5. Determinação de *Pseudomonas aeruginosa* (técnica baseada na descrita na ISO 16266)**

Na determinação de *Pseudomonas aeruginosa* recorre-se à técnica de filtração por membrana.

#### **1. Objectivo e campo de aplicação**

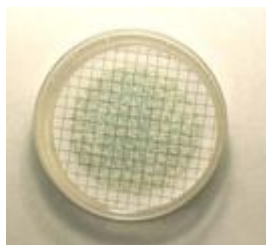
O método para a pesquisa e quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* em águas não tratadas (águas naturais) baseia-se na filtração através de membrana com subsequente cultura num meio gelosado selectivo (CN agar).

#### **2. Definições**

Entende-se por *Pseudomonas* bactérias aeróbias, de oxidase positiva, gram-negativas. Encontrando-se no solo e locais sem higiene.

#### **3. Procedimento:**

- i. Filtrar um volume conhecido de água a analisar (250 mL) através de uma membrana filtrante estéril com uma porosidade de 0,45 µm, onde ficam retidas células de possíveis bactérias contaminantes;
- ii. Colocar a membrana sobre o meio de cultura CN agar para a detecção do grupo específico de microrganismos indicadores, contido numa Caixa de Petri. A manipulação das membranas é efectuada utilizando uma pinça metálica apropriada e esterilizada à chama. O colocar da membrana sobre o meio é efectuado com o cuidado de evitar deixar retido ar entre a membrana e o meio;
- iii. Incubar a Caixa de Petri, de forma invertida, durante 24 horas a 37 °C, se positivas, voltar a incubar por mais 24 horas a 37 °C;
- iv. Observar e contar todas as colónias formadas sobre a membrana de cor azul ou verde e efectuar a sua confirmação. Contar todas as colónias castanhas ou avermelhadas e efectuar a sua confirmação (Figura D.4).



**Figura D.4 - Colónias características de *Pseudomonas aeruginosa*.**

- v. Repicar para PCA e incubar durante 24 horas a 37 °C;

- vi. As colónias que produzem um pigmento azul-verde (piocianina) serão contadas como *Pseudomonas aeruginosa* confirmadas. As colónias que não produzem piocianina, mas com um fluorescência à luz ultravioleta, serão consideradas como suspeita de *Pseudomonas aeruginosa*. Colónias que mostram uma pigmentação castanho avermelhado sem fluorescência serão também consideradas suspeitas de *Pseudomonas aeruginosa*;
- vii. Efectuar a confirmação bioquímica através da realização do teste da oxidase. Considerar como *Pseudomonas aeruginosa* as colónias oxidase positivas;
- viii. As colónias oxidase positivas devem ser repicadas para *King B* e incubadas até cinco dias a 37 °C. Verificar diariamente se existe produção de fluorescência. Devem ser consideradas *Pseudomonas aeruginosa* as colónias que produzirem fluorescência, que só visível com luz ultravioleta;
- ix. As colónias oxidase positivas devem ser repicadas para meio de acetamida e incubar a 37 °C durante 24 horas. Adicionar uma ou duas gotas de reagente de *Nessler* e verificar a produção de amónia que se caracteriza por formação de cor que pode ir desde o amarelo alaranjado ao vermelho;

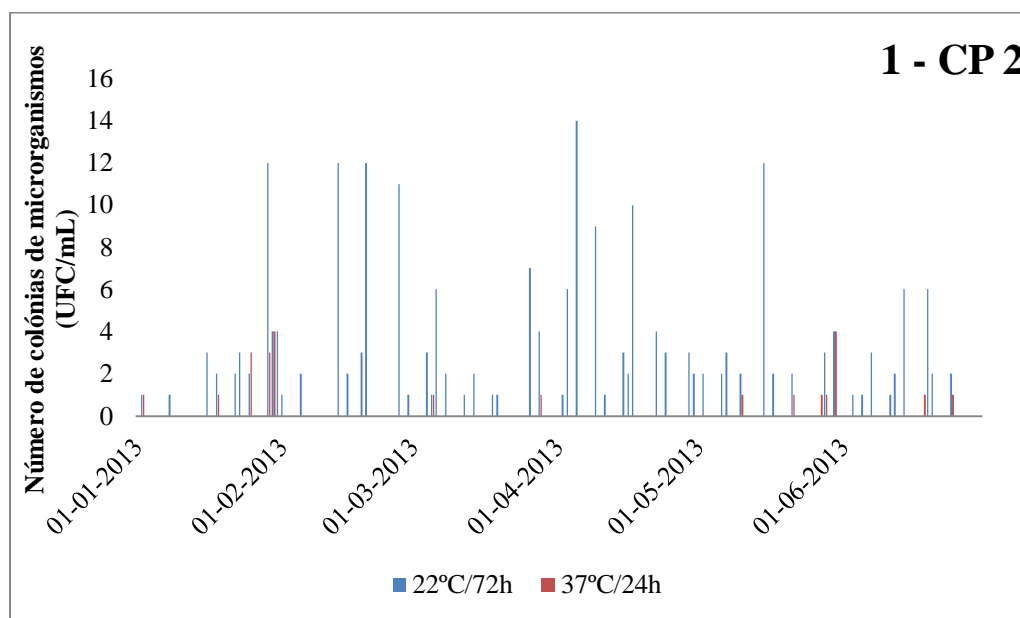
Contar como *Pseudomonas aeruginosa* as colónias que se desencilveram em CN agar que são de oxidase positiva que apresentam fluorescência à luz ultravioleta e que produzem amónia a partir de acetamida.

## E. Compilação de todos os resultados das análises microbiológicas

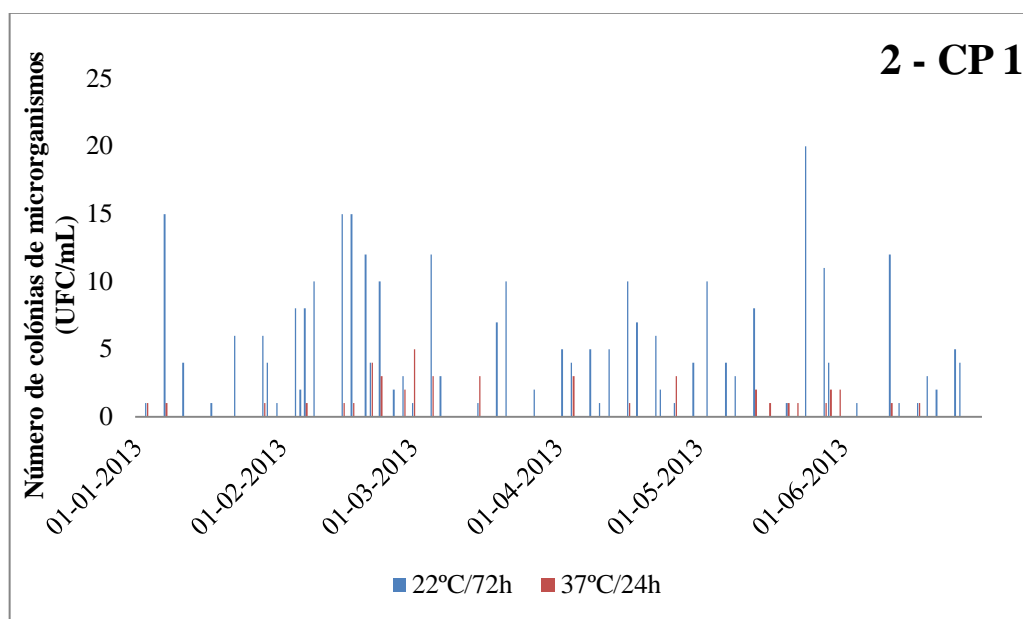
De seguida serão apresentados os gráficos e as tabelas com todos os resultados obtidos no decorrer do estágio, que foram usados para obter os resultados e discussões apresentados ao longo deste relatório de estágio.

De mencionar que só serão apresentados os resultados relativos ao número de colónias a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação. Não serão representadas as outras análises microbiológicas efectuadas pois através do Artigo 4º do Decreto-Lei nº 158/98 as contagens de colónias dessas análises têm que ser obrigatoriamente zero.

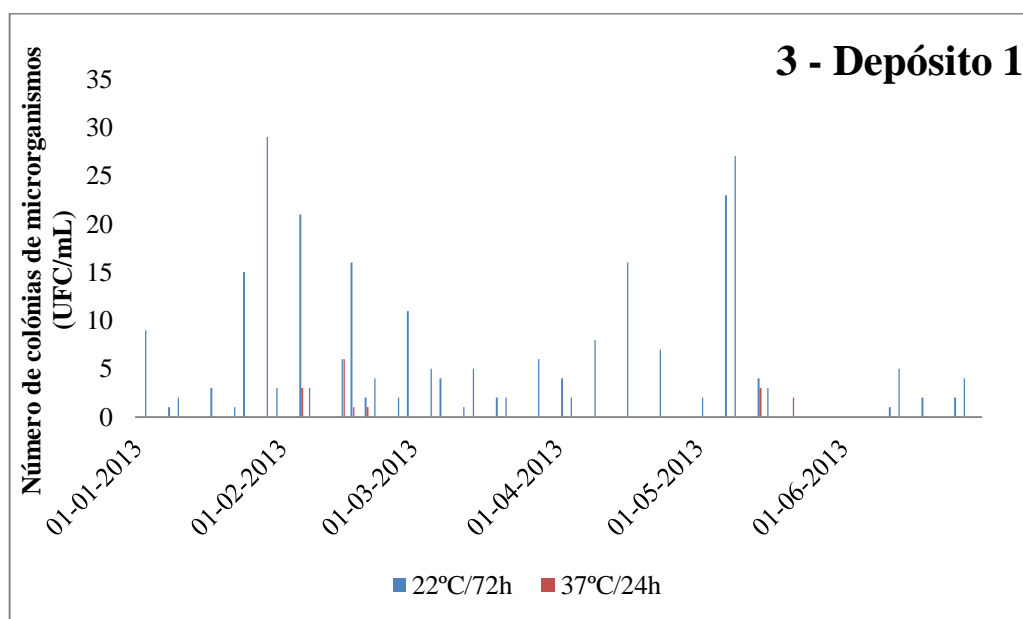
Nas figuras seguinte estão representadas as evoluções do número de colónias a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação durante o período de estágio para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento.



**Figura E.1 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 1 (CP 2).**



**Figura E.2 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 2 (CP 1).**



**Figura E.3 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 3 (Depósito 1).**

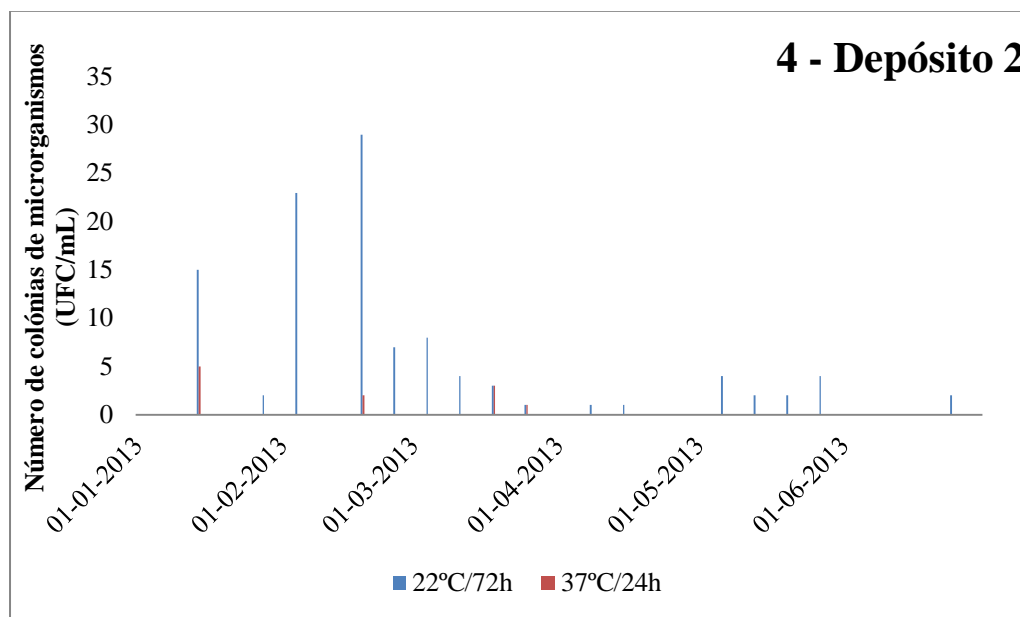


Figura E.4 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 4 (Depósito 2).

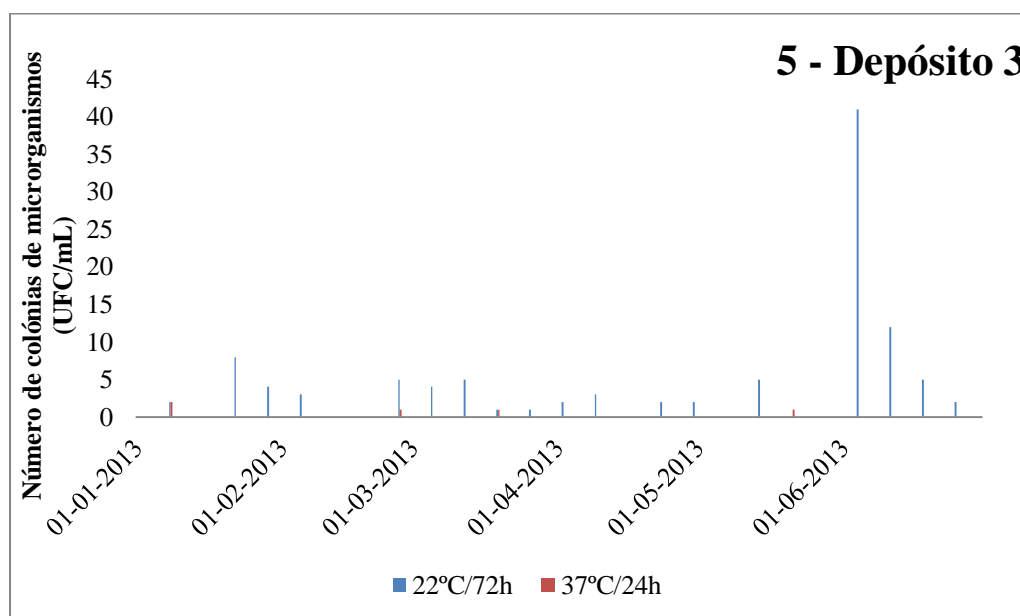
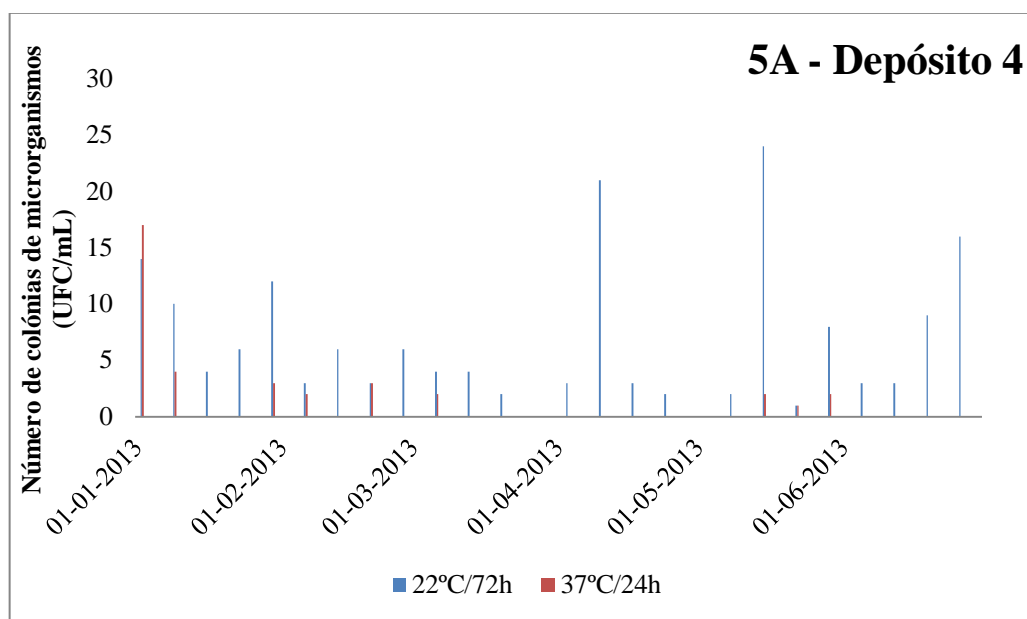
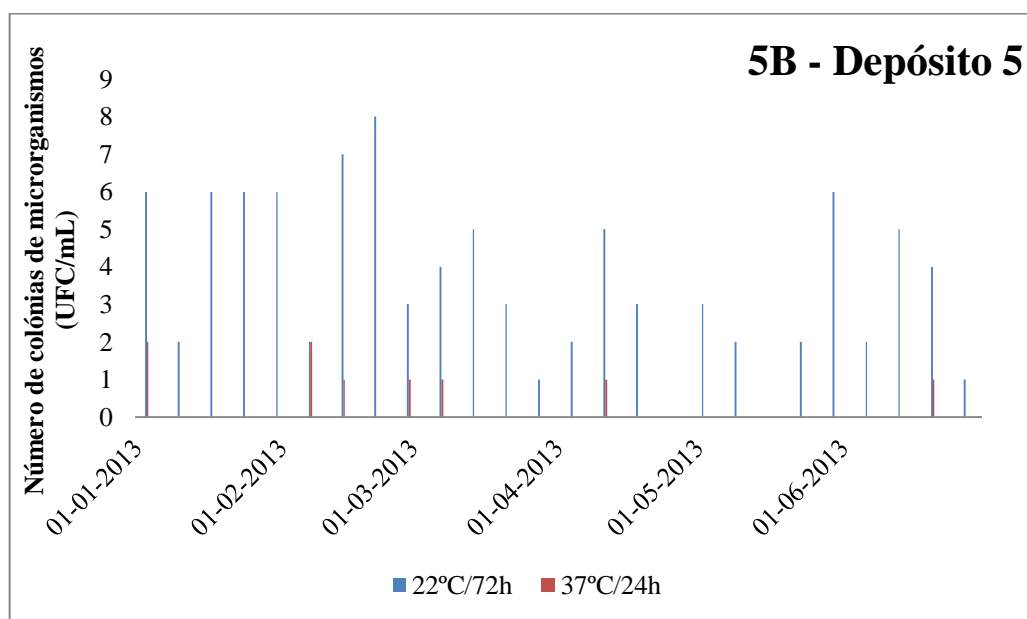


Figura E.5 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5 (Depósito 3).

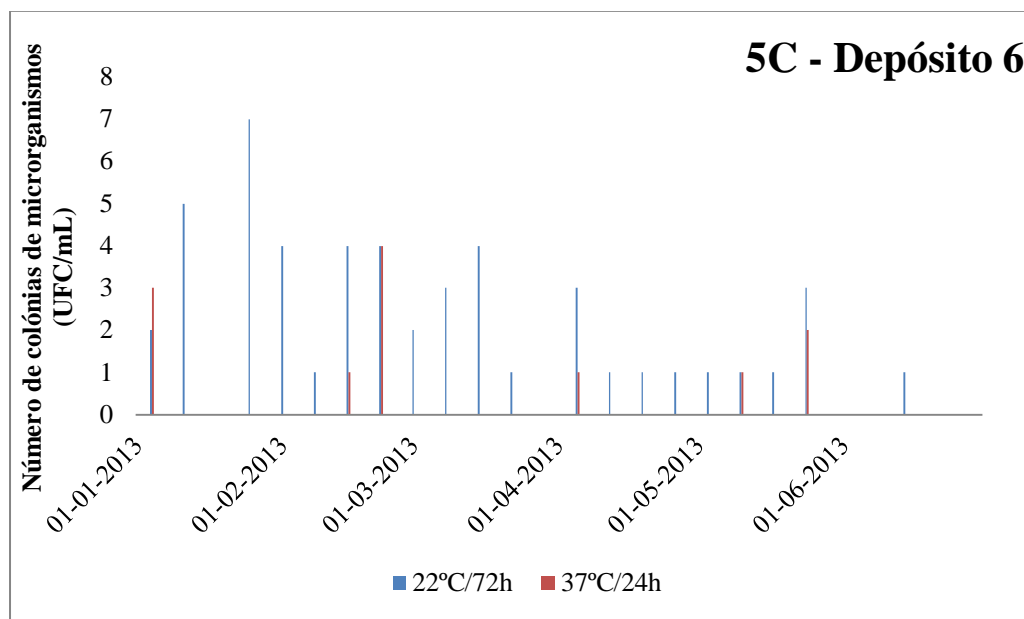




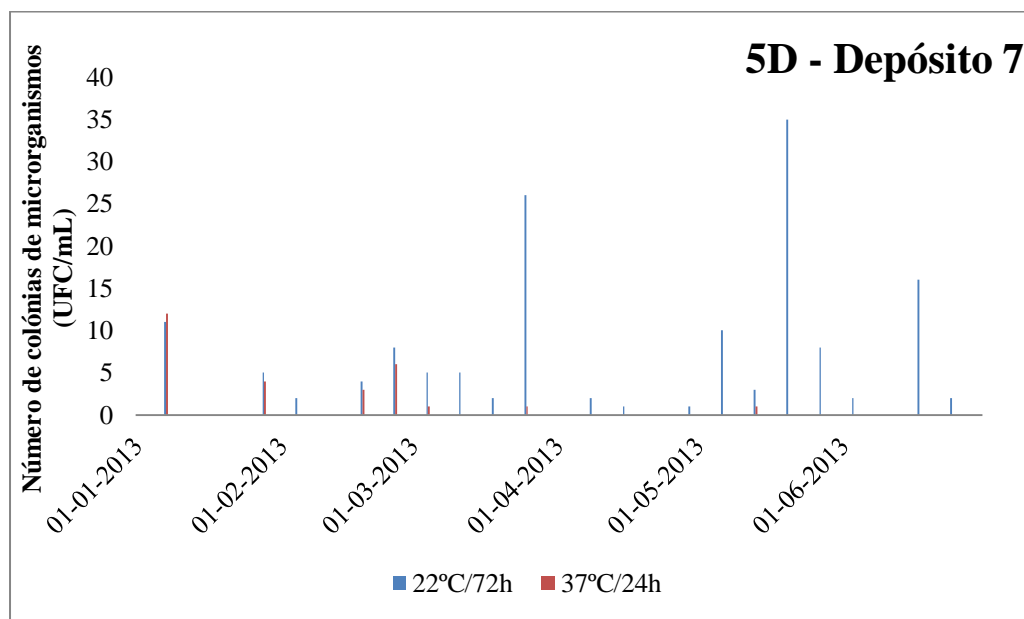
**Figura E.6 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5A (Depósito 4).**



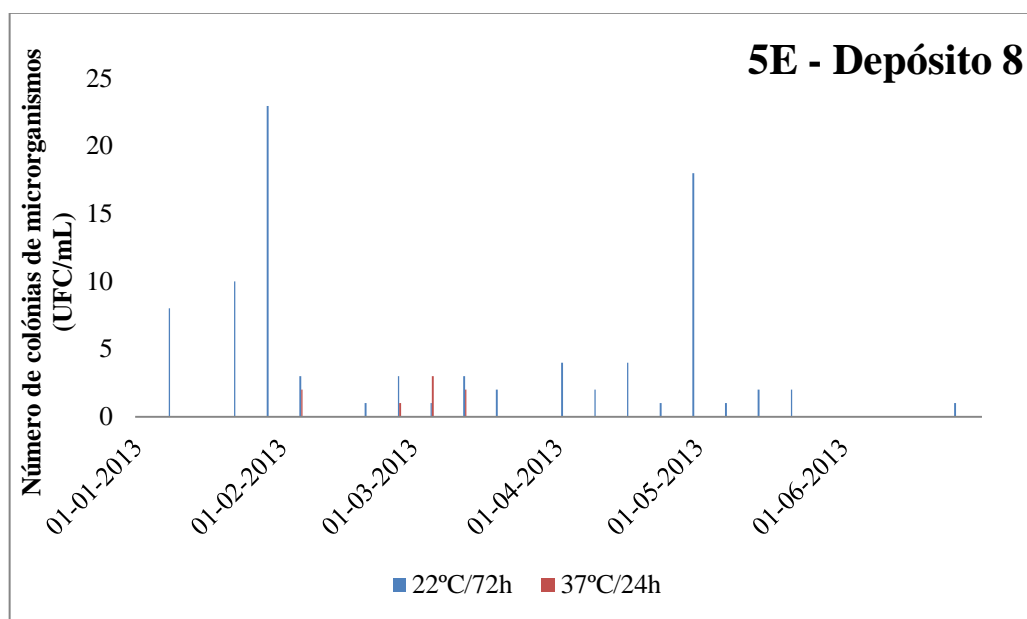
**Figura E.7 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5B (Depósito 5).**



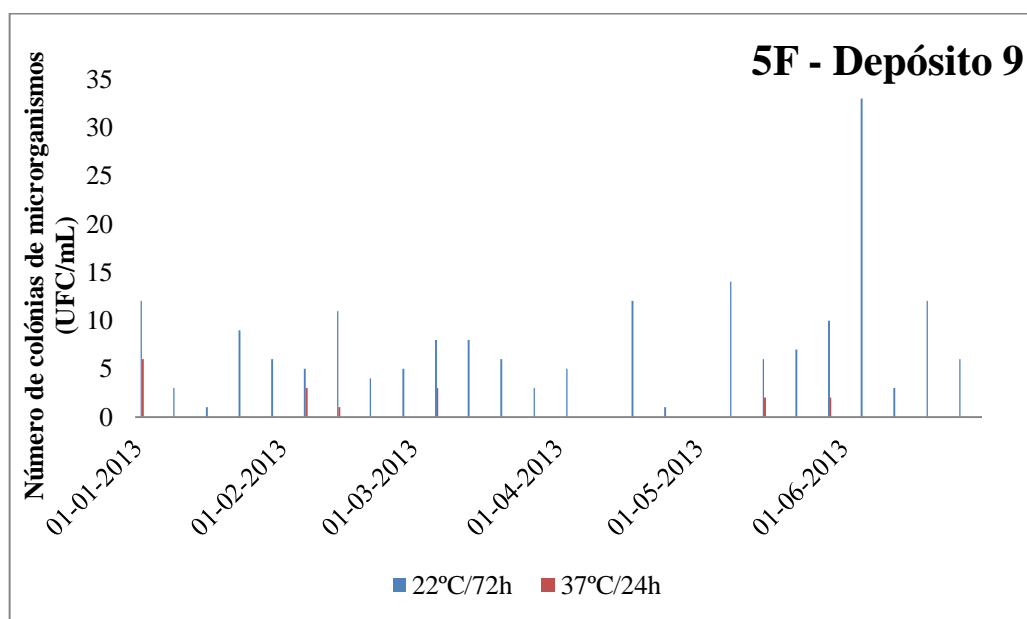
**Figura E.8 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5C (Depósito 6).**



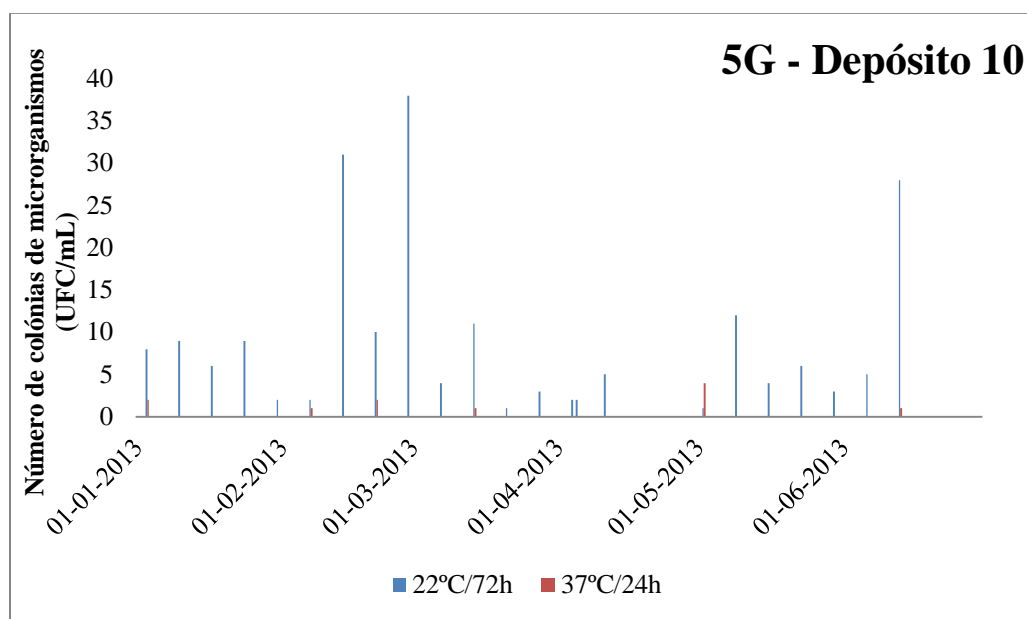
**Figura E.9 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5D (Depósito 7).**



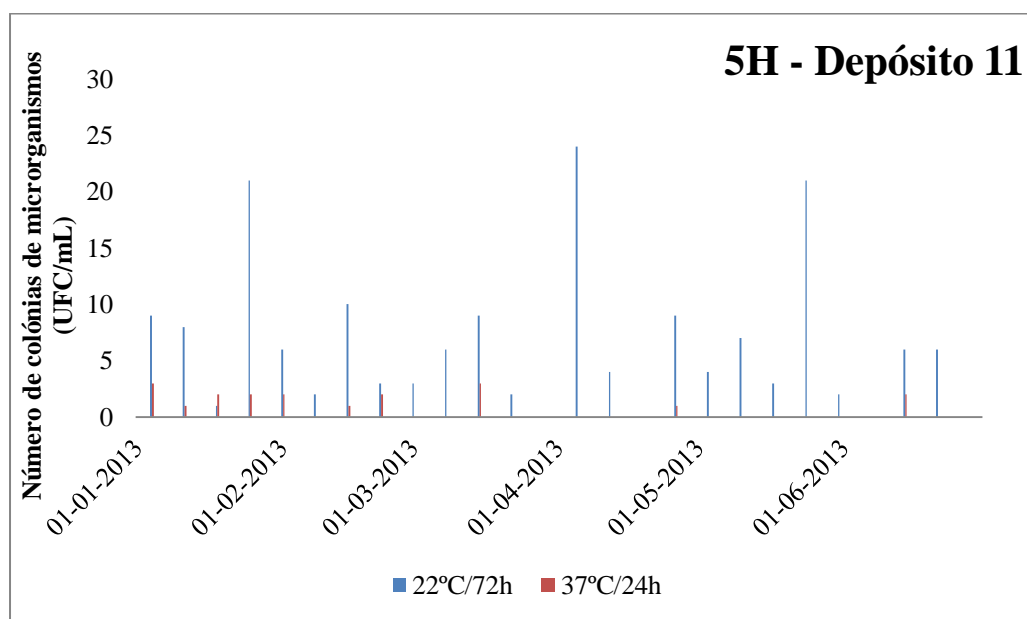
**Figura E.10 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5E (Depósito 8).**



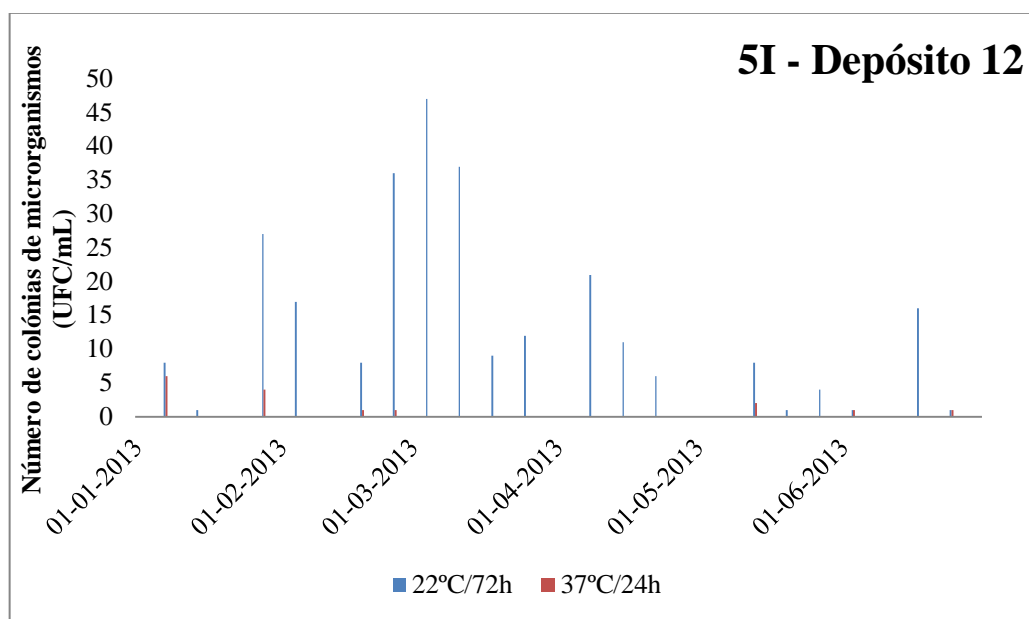
**Figura E.11 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5F (Depósito 9).**



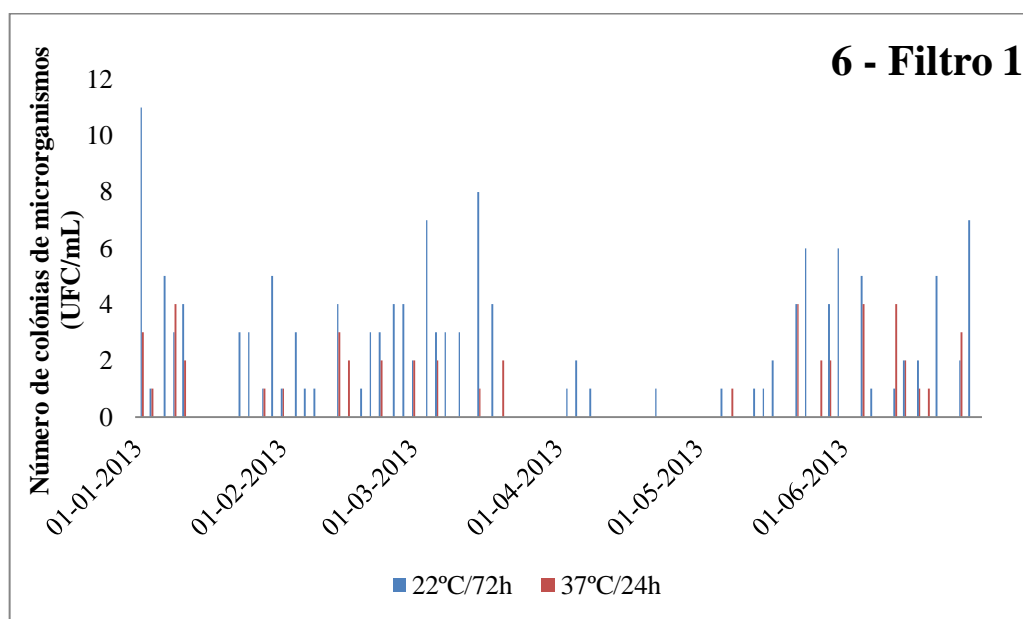
**Figura E.12 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5G (Depósito 10).**



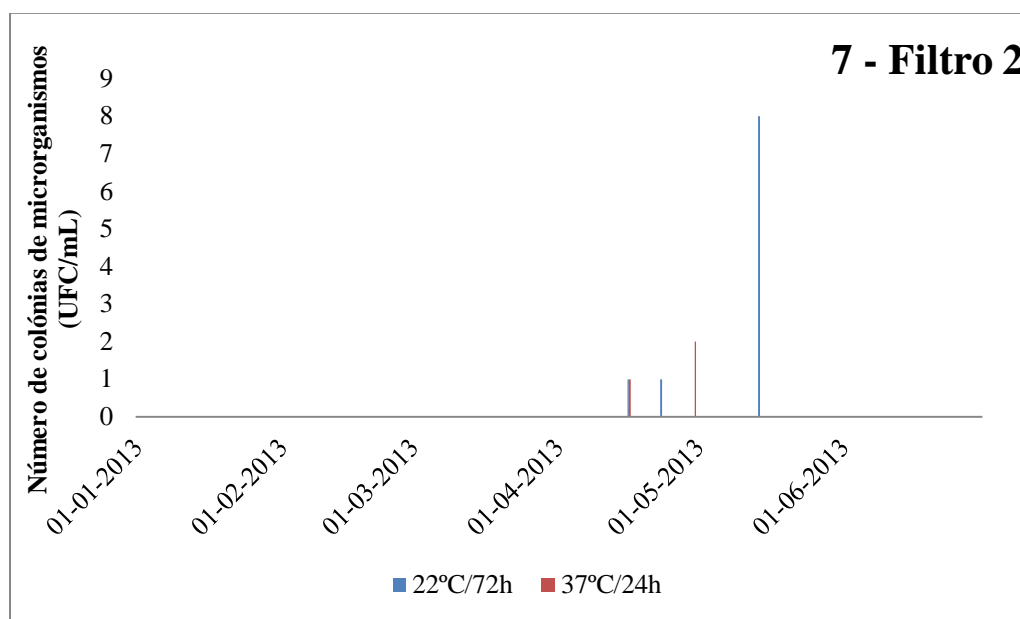
**Figura E.13 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5H (Depósito 11).**



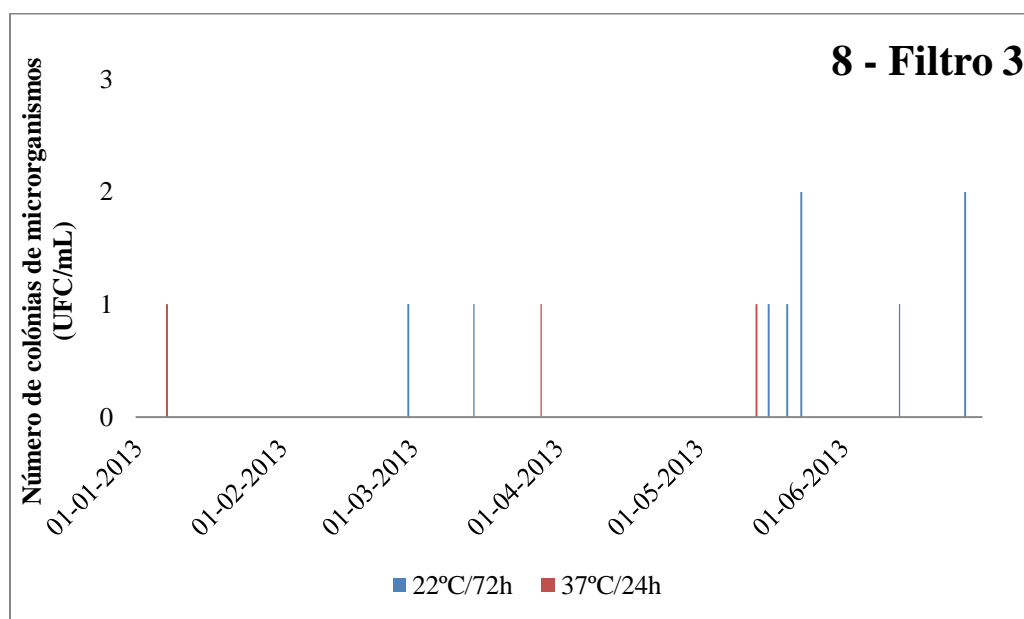
**Figura E.14 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 5I (Depósito 12).**



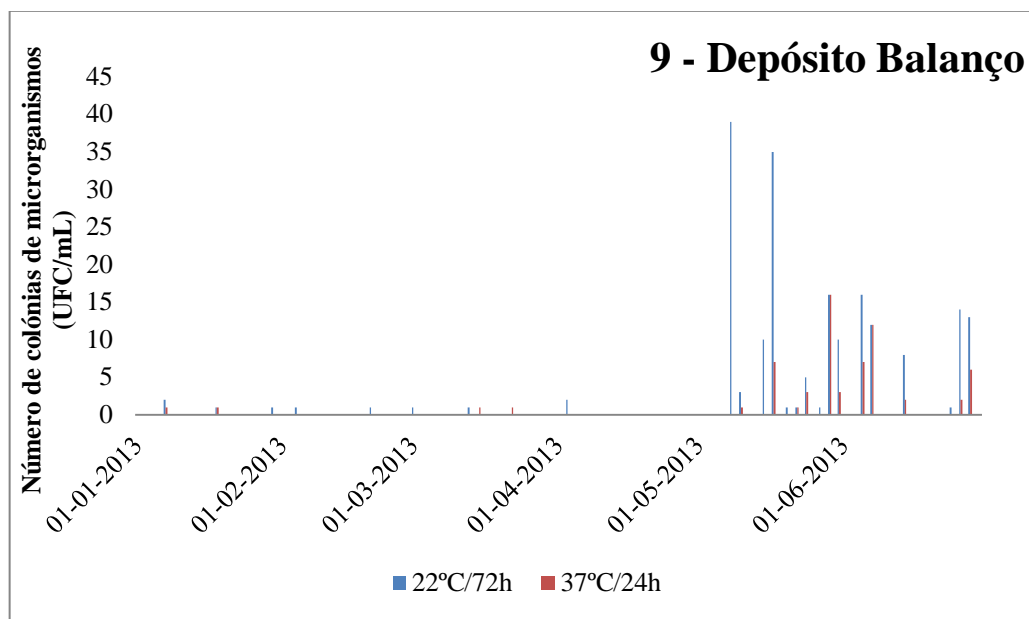
**Figura E.15 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 6 (Filtro 1).**



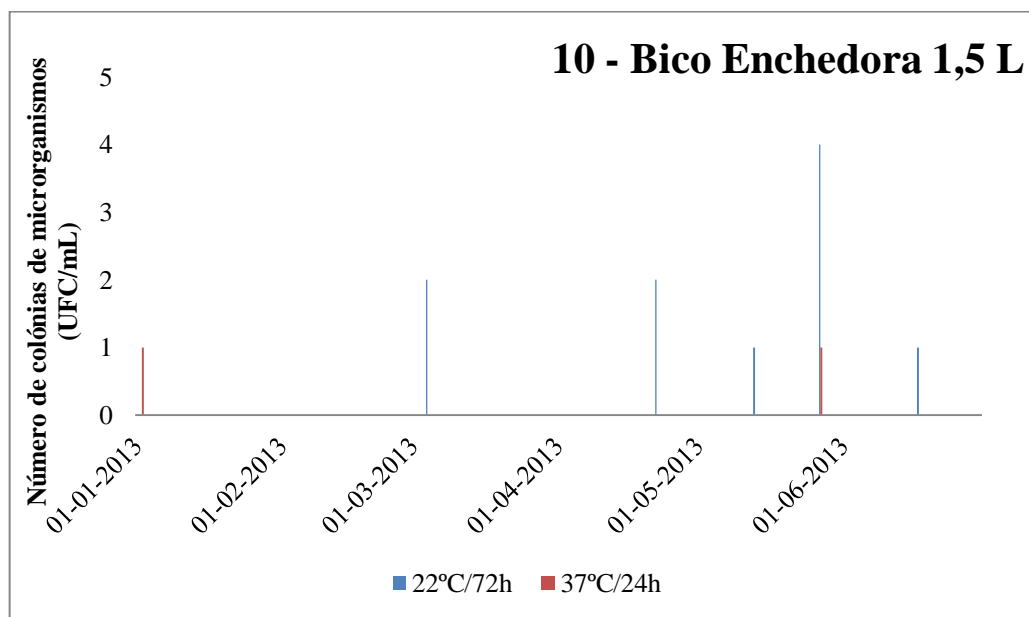
**Figura E.16 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 7 (Filtro 2).**



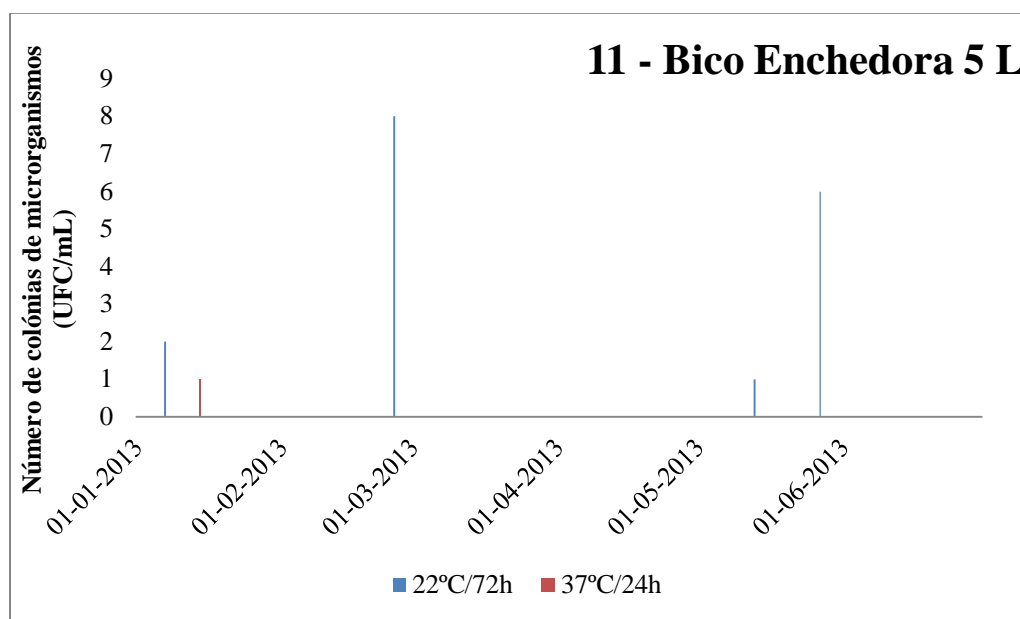
**Figura E.17 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 8 (Filtro 3).**



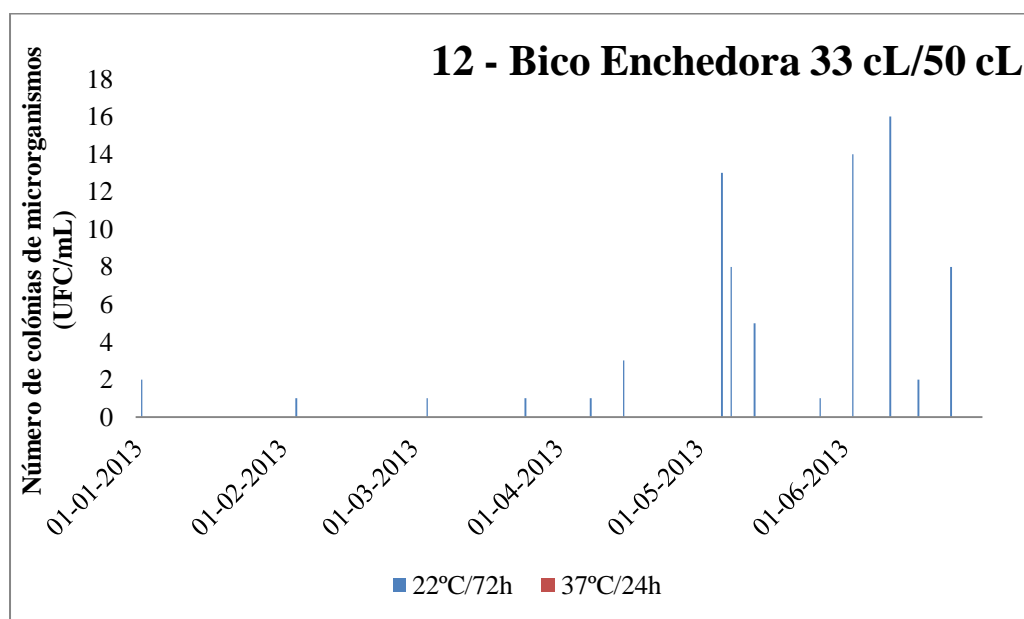
**Figura E.18 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 9 (Depósito Balanço).**



**Figura E.19 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 10 (Bico Enchedora 1,5 L).**

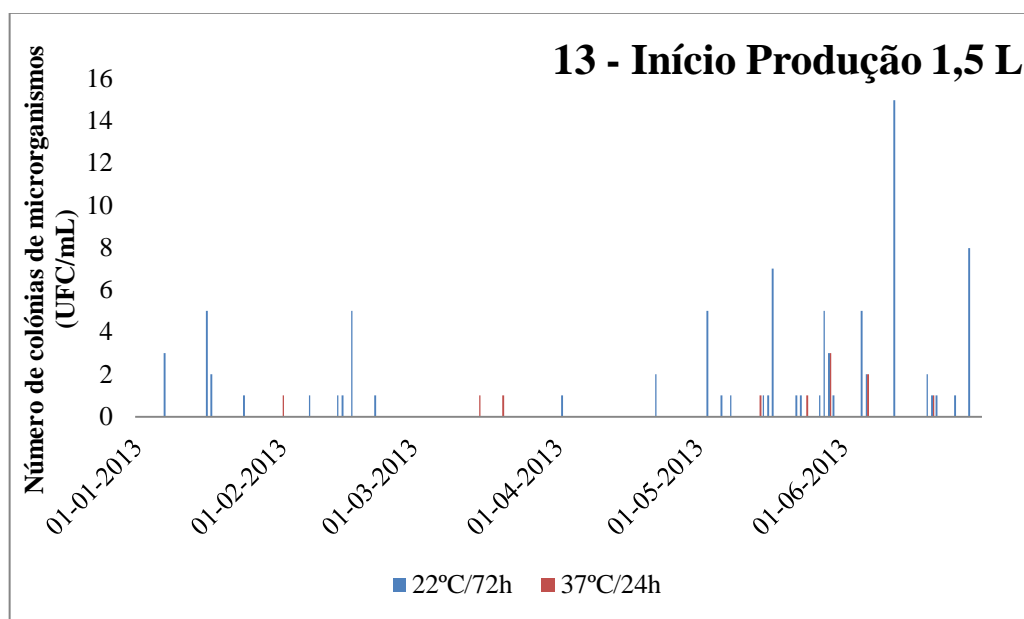


**Figura E.20 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 11 (Bico Enchedora 5 L).**

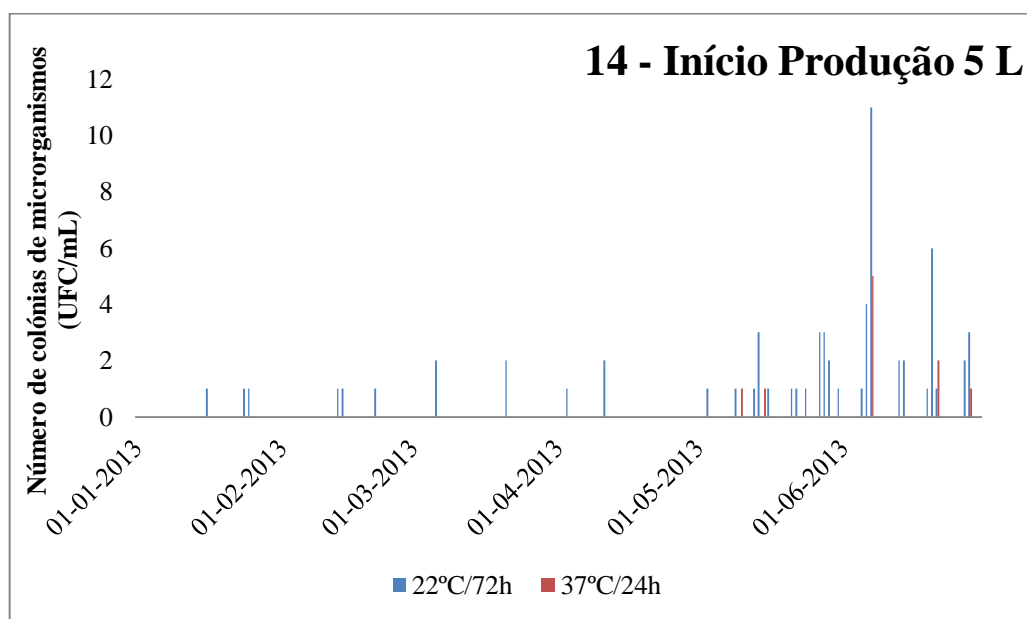


**Figura E.21 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 12 (Bico Enchedora 33 cL/50 cL).**

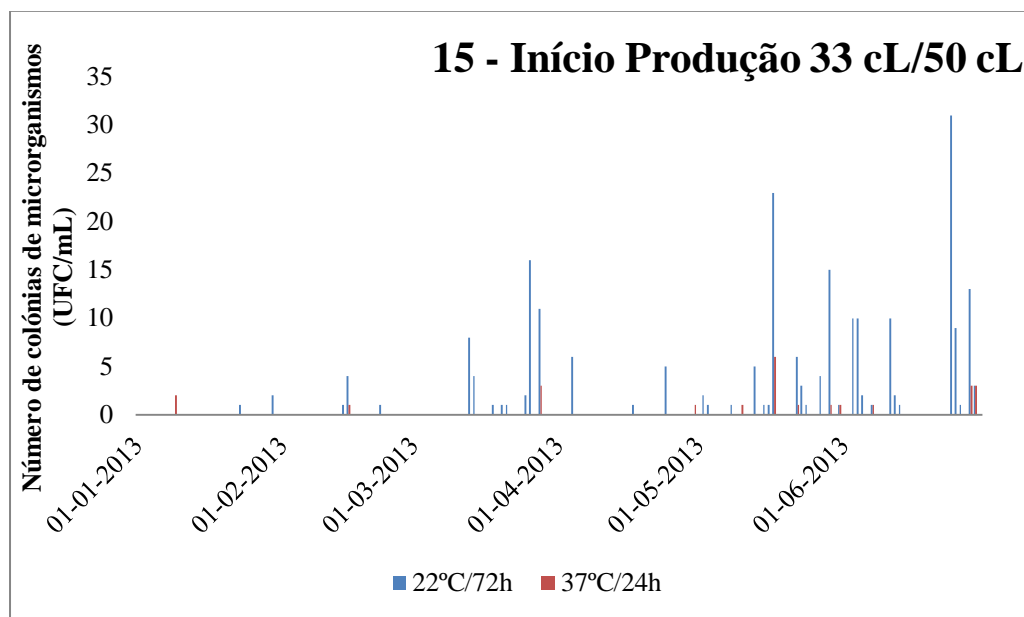




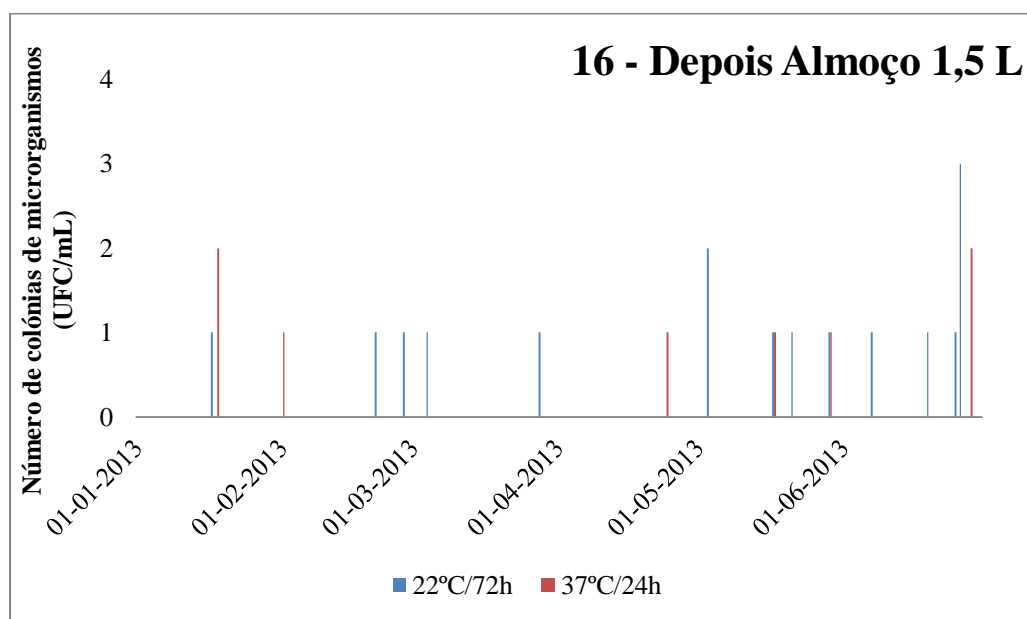
**Figura E.22 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 13 (Início Produção 1,5 L).**



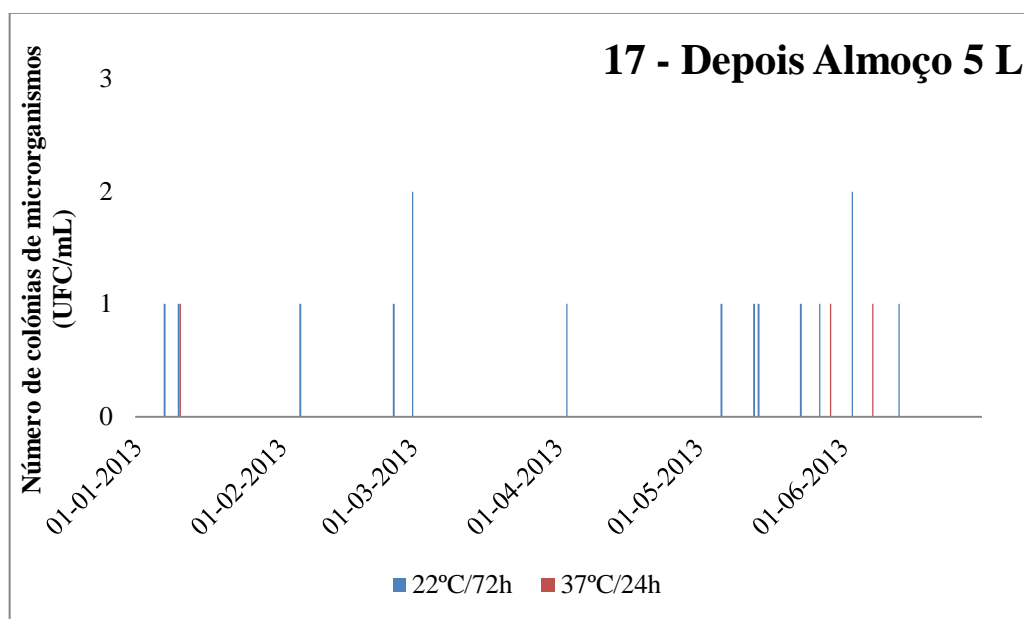
**Figura E.23 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 14 (Início Produção 5 L).**



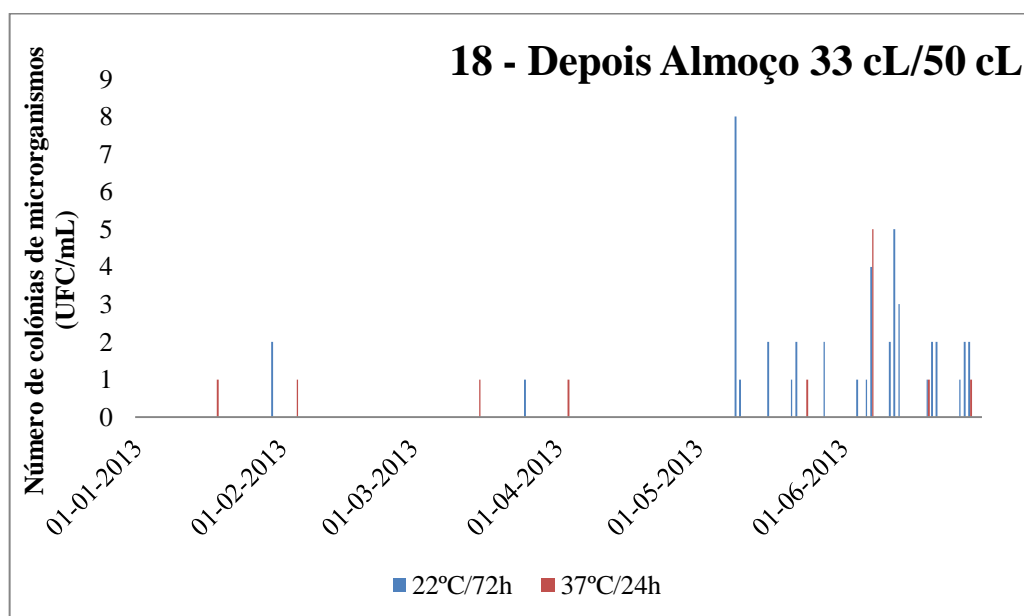
**Figura E.24 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 15 (Início Produção 33 cL/50 cL).**



**Figura E.25 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 16 (Depois Almoço 1,5 L).**

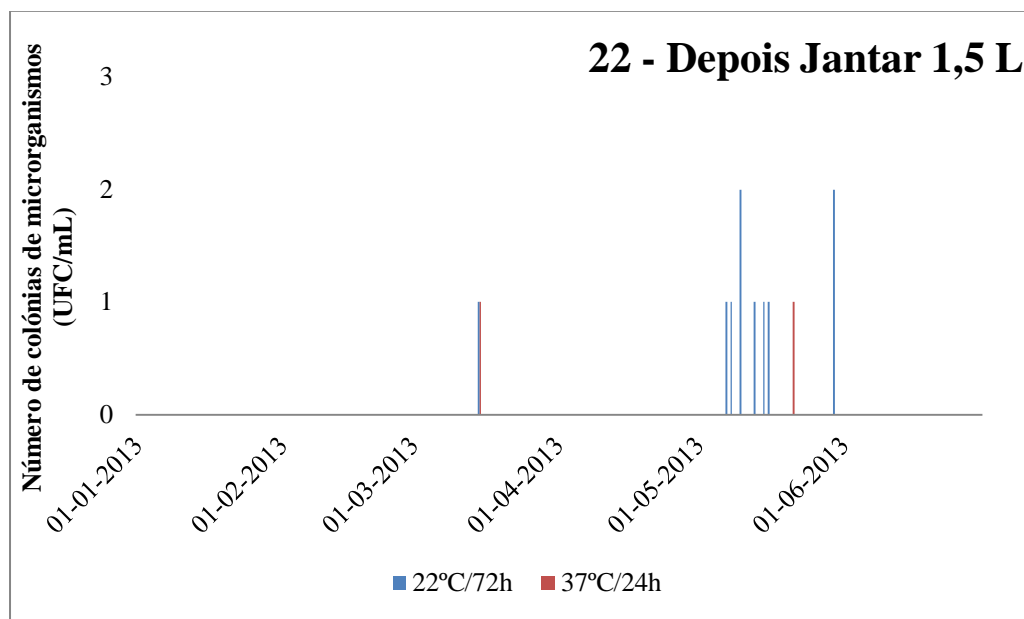


**Figura E.26 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 17 (Depois Almoço 5 L).**

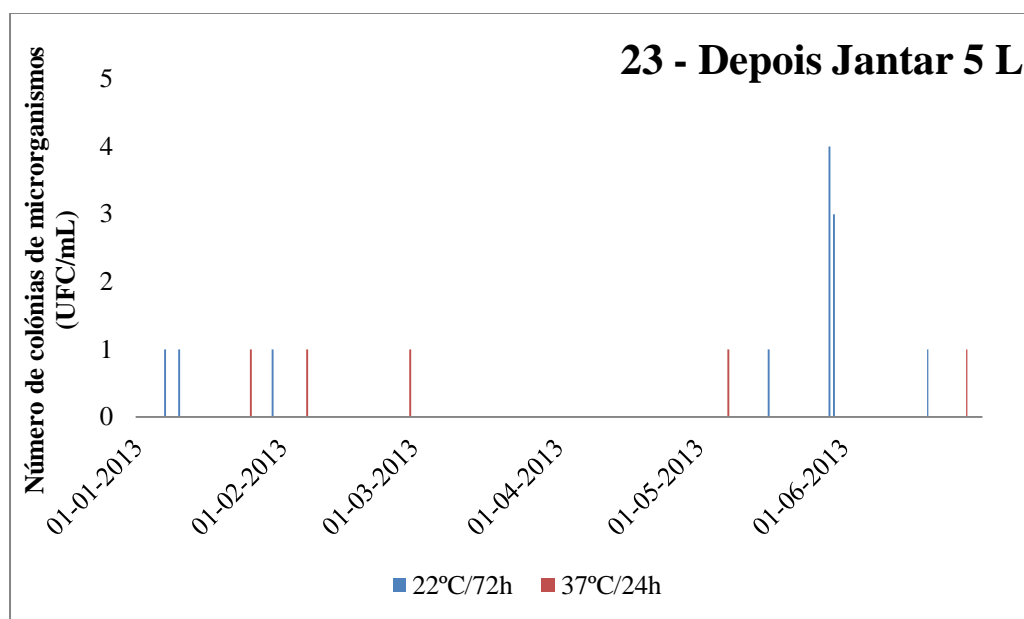


**Figura E.27 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 18 (Depois Almoço 33 cL/50 cL).**

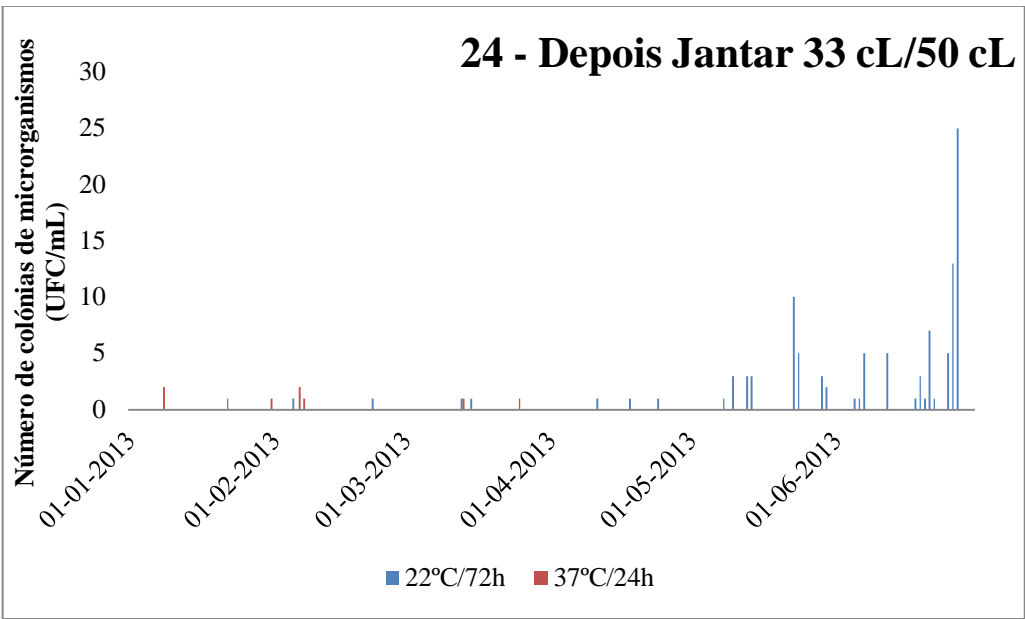
Durante o período de estágio não foram recolhidas amostras nos pontos de amostragem 19, 20 e 21. Como tal, não há figuras relativas a esses pontos de amostragem.



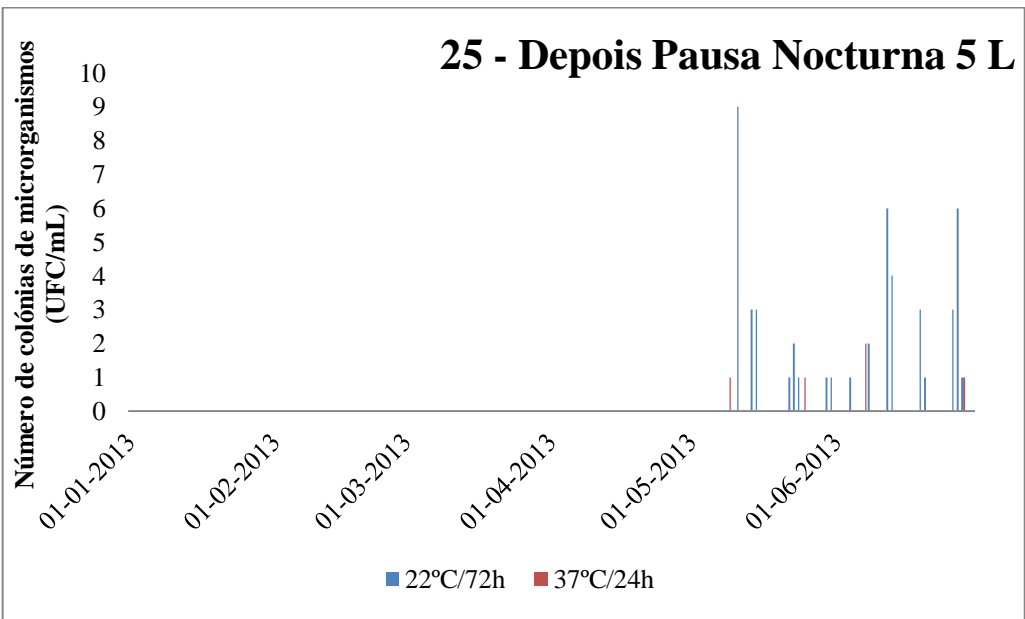
**Figura E.28 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 22 (Depois Jantar 1,5 L).**



**Figura E.29 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 23 (Depois Jantar 5 L).**

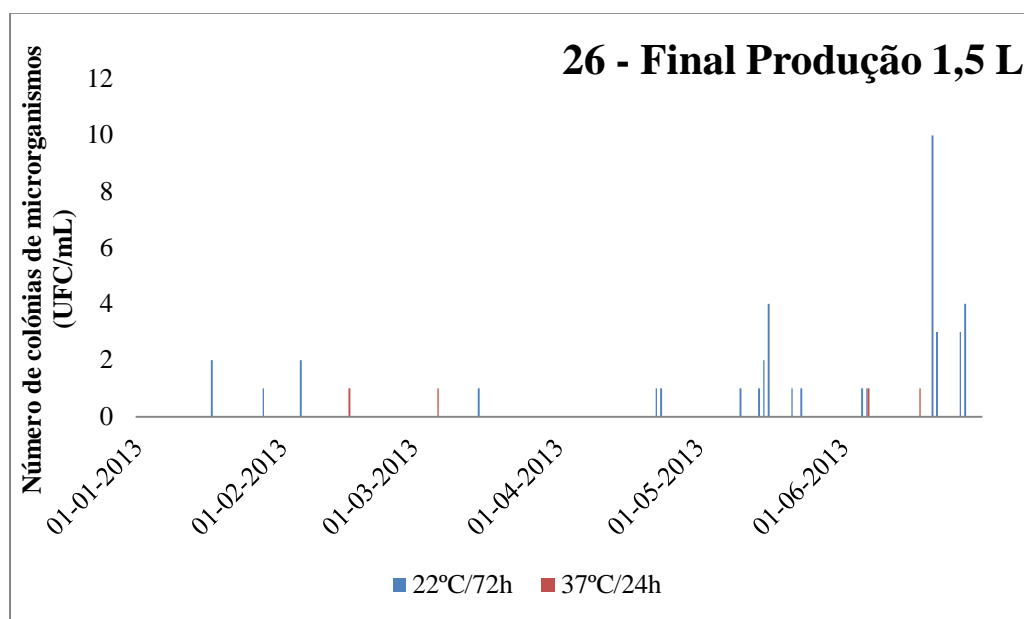


**Figura E.30 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 24 (Depois Jantar 33 cL/50 cL).**

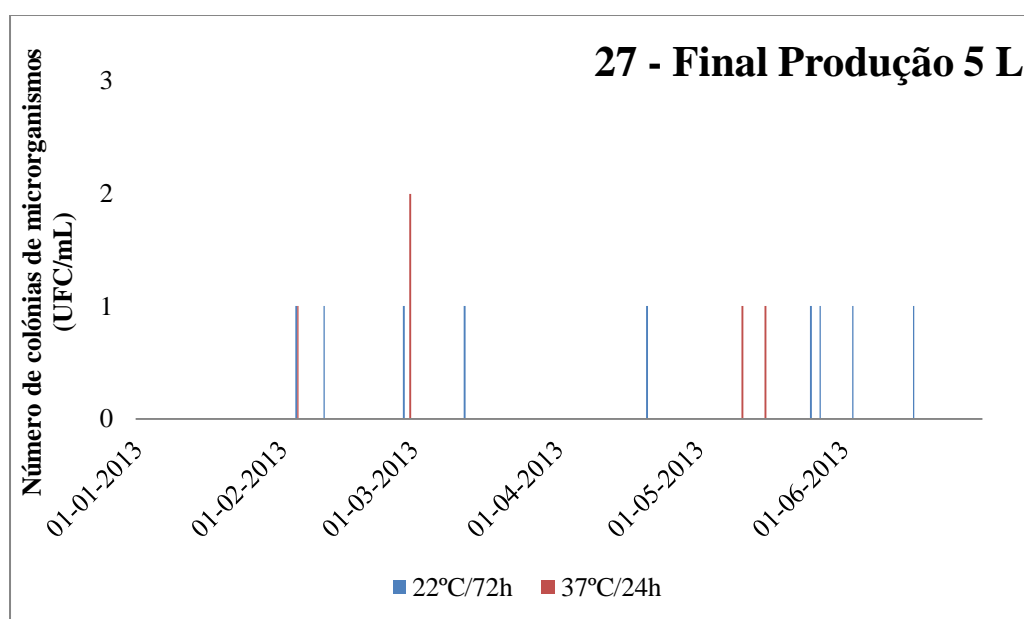


**Figura E.31 - Número de colônias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 25 (Depois Pausa Nocturna 5 L).**

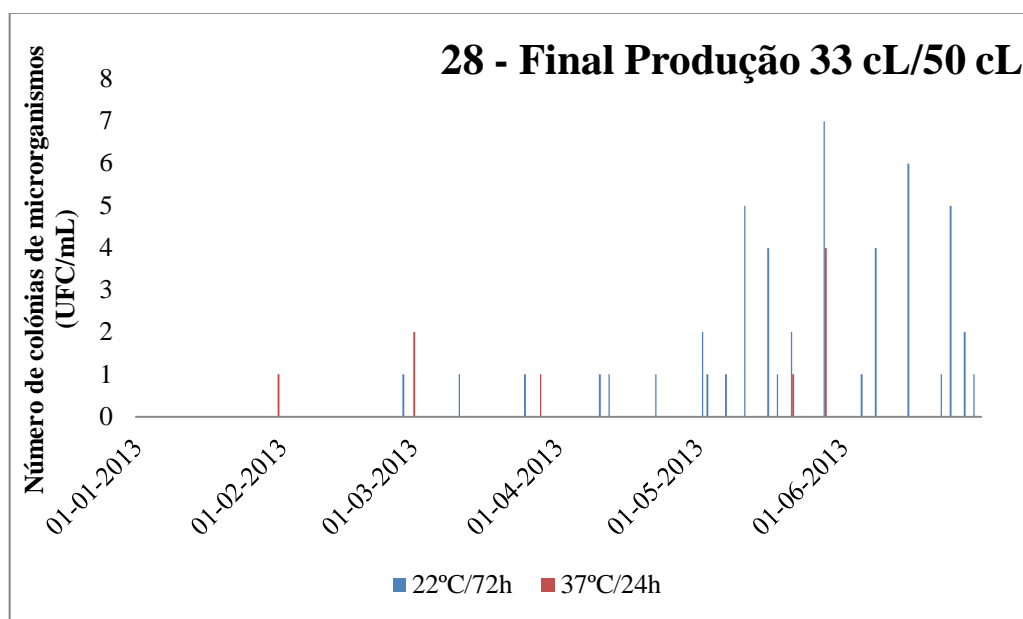
Na Figura E.31 não existem dados relativos aos meses desde Janeiro até Abril, pois durante esse período não houve produção noturna, logo não houve recolha nesse ponto de amostragem.



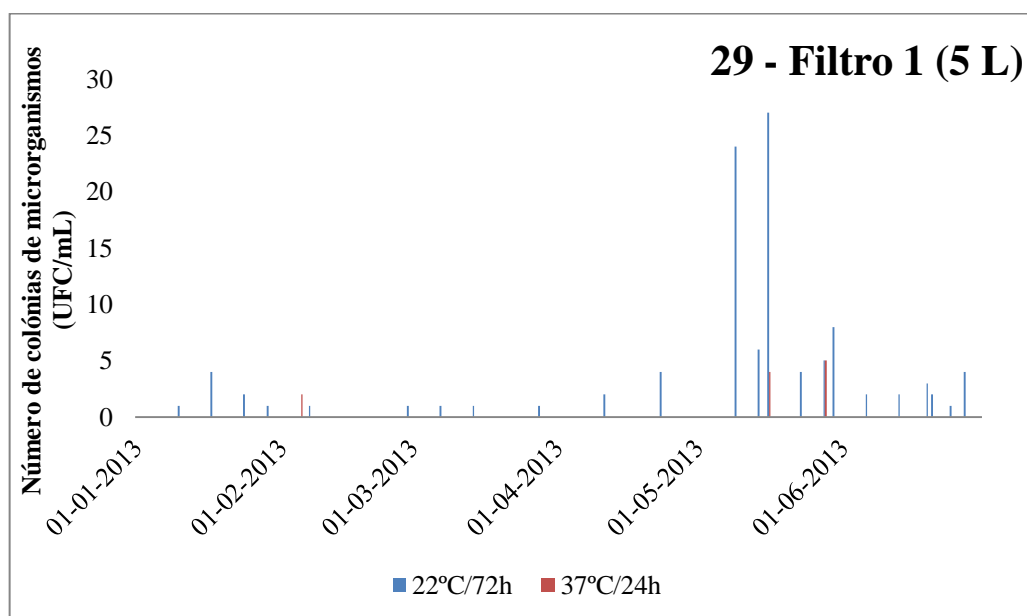
**Figura E.32 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 26 (Final Produção 1,5 L).**



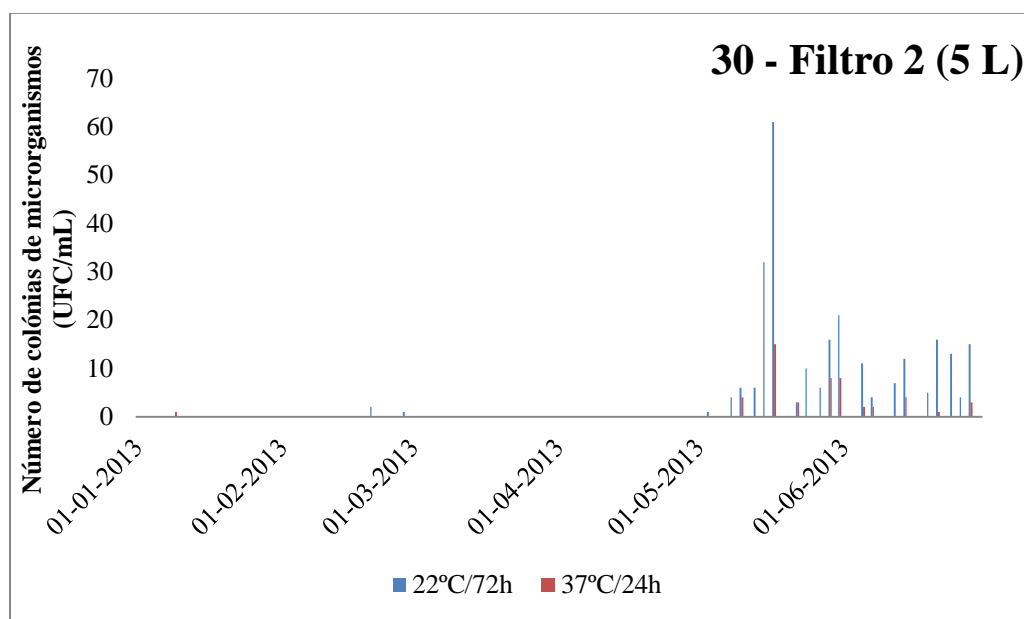
**Figura E.33 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 27 (Final Produção 5 L).**



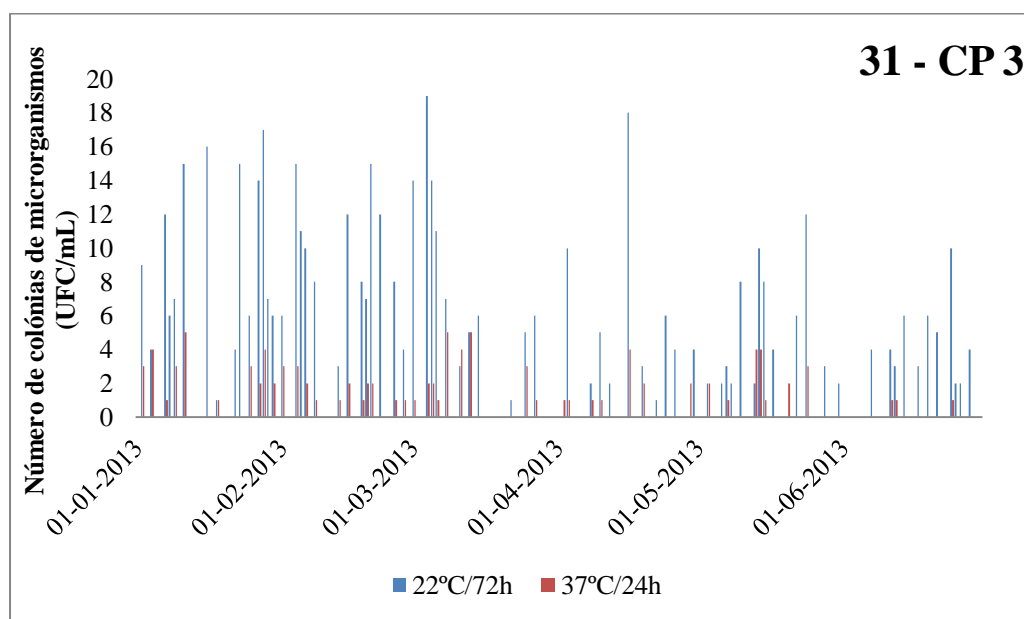
**Figura E.34 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 28 (Final Produção 33 cL/50 cL).**



**Figura E.35 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 29 (Filtro 1 - 5 L).**



**Figura E.36 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 30 (Filtro 2 - 5 L).**



**Figura E.37 - Número de colónias de microrganismos a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para o ponto de amostragem 31 (CP 3).**



Nas tabelas que se seguem apresentam-se as médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento.

**Tabela E.1 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Janeiro.**

<b>Janeiro</b>					
<b>Ponto de amostragem</b>	<b>Local</b>	<b>Média mensal 22 °C/72h</b>	<b>Média mensal 37 °C/24h</b>	<b>Desvio padrão 22 °C/72h</b>	<b>Desvio padrão 37 °C/24h</b>
1	CP 2	2,5	0,7	3,3	1,2
2	CP 1	3,2	0,3	4,4	0,5
3	Dep. 1	7,0	0,0	9,6	0,0
4	Dep. 2	5,7	1,7	8,1	2,9
5	Dep. 3	3,5	0,5	3,4	1,0
5A	Dep. 4	9,2	4,8	4,1	7,0
5B	Dep. 5	5,2	0,4	1,8	0,9
5C	Dep. 6	3,5	0,8	3,1	1,5
5D	Dep. 7	5,3	5,3	5,5	6,1
5E	Dep. 8	10,3	0,0	9,5	0,0
5F	Dep. 9	6,2	1,2	4,4	2,7
5G	Dep. 10	6,8	0,4	2,9	0,9
5H	Dep. 11	9,8	2,0	8,3	0,8
5I	Dep. 12	12,0	3,3	13,5	3,1
6	Filtro 1	3,0	0,9	3,1	1,4
7	Filtro 2	0,0	0,0	0,0	0,0
8	Filtro 3	0,0	0,1	0,0	0,4
9	Dep. B.	0,3	0,2	0,7	0,4
10	BE 1,5L	0,0	0,2	0,0	0,4
11	BE 5L	0,4	0,2	0,9	0,4
12	BE 33cL/50cL	0,3	0,0	0,8	0,0
13	IP 1,5L	0,6	0,0	1,4	0,0
14	IP 5L	0,2	0,0	0,4	0,0
15	IP 33cL/50cL	0,1	0,1	0,5	0,4
16	DA 1,5L	0,1	0,1	0,2	0,5
17	DA 5L	0,1	0,1	0,3	0,2
18	DA 33cL/50cL	0,1	0,1	0,5	0,2
22	DJ 1,5L	0,0	0,0	0,0	0,0
23	DJ 5L	0,2	0,1	0,4	0,2
24	DJ 33cL/50cL	0,1	0,2	0,3	0,5
26	FP 1,5L	0,2	0,0	0,5	0,0
27	FP 5L	0,0	0,0	0,0	0,0
28	FP 33cL/50cL	0,0	0,0	0,0	0,2
29	Filtro 1 (5L)	1,0	0,0	1,4	0,0
30	Filtro 2 (5L)	0,0	0,1	0,0	0,3
31	CP 3	8,9	1,7	5,6	1,8

**Tabela E.2 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Fevereiro.**

<b>Fevereiro</b>					
<b>Ponto de amostragem</b>	<b>Local</b>	<b>Média mensal 22 °C/72h</b>	<b>Média mensal 37 °C/24h</b>	<b>Desvio padrão 22 °C/72h</b>	<b>Desvio padrão 37 °C/24h</b>
1	CP 2	3,5	0,4	4,4	1,2
2	CP 1	8,1	1,6	4,8	1,9
3	Dep. 1	8,1	1,4	7,2	2,1
4	Dep. 2	19,7	0,7	11,4	1,2
5	Dep. 3	2,7	0,3	2,5	0,6
5A	Dep. 4	4,5	1,3	1,7	1,5
5B	Dep. 5	5,0	0,8	2,9	1,0
5C	Dep. 6	3,3	1,5	1,5	1,7
5D	Dep. 7	4,7	3,0	3,1	3,0
5E	Dep. 8	2,3	1,0	1,2	1,0
5F	Dep. 9	6,3	1,0	3,2	1,4
5G	Dep. 10	20,3	0,8	17,0	1,0
5H	Dep. 11	5,3	1,3	3,6	1,0
5I	Dep. 12	20,3	0,7	14,3	0,6
6	Filtro 1	2,3	0,7	1,5	1,1
7	Filtro 2	0,0	0,0	0,0	0,0
8	Filtro 3	0,1	0,0	0,4	0,0
9	Dep. B.	0,2	0,0	0,4	0,0
10	BE 1,5L	0,0	0,0	0,0	0,0
11	BE 5L	2,0	0,0	4,0	0,0
12	BE 33cL/50cL	0,3	0,0	0,5	0,0
13	IP 1,5L	0,5	0,1	1,2	0,2
14	IP 5L	0,2	0,0	0,4	0,0
15	IP 33cL/50cL	0,3	0,1	1,0	0,2
16	DA 1,5L	0,1	0,1	0,3	0,2
17	DA 5L	0,1	0,0	0,3	0,0
18	DA 33cL/50cL	0,0	0,1	0,0	0,2
22	DJ 1,5L	0,0	0,0	0,0	0,0
23	DJ 5L	0,0	0,3	0,0	0,5
24	DJ 33cL/50cL	0,1	0,2	0,3	0,5
26	FP 1,5L	0,1	0,1	0,5	0,2
27	FP 5L	0,1	0,2	0,3	0,5
28	FP 33cL/50cL	0,1	0,0	0,2	0,0
29	Filtro 1 (5L)	0,3	0,3	0,5	0,8
30	Filtro 2 (5L)	0,3	0,0	0,7	0,0
31	CP 3	9,3	1,5	3,6	1,0

**Tabela E.3 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Março.**

<b>Março</b>					
<b>Ponto de amostragem</b>	<b>Local</b>	<b>Média mensal 22 °C/72h</b>	<b>Média mensal 37 °C/24h</b>	<b>Desvio padrão 22 °C/72h</b>	<b>Desvio padrão 37 °C/24h</b>
1	CP 2	2,4	0,2	3,1	0,4
2	CP 1	3,6	0,6	4,5	1,3
3	Dep. 1	3,1	0,0	2,2	0,0
4	Dep. 2	4,0	1,0	2,9	1,4
5	Dep. 3	2,8	0,3	2,1	0,5
5A	Dep. 4	2,5	0,5	1,9	1,0
5B	Dep. 5	3,3	0,5	1,7	0,6
5C	Dep. 6	2,5	0,8	1,3	1,0
5D	Dep. 7	9,5	0,5	11,1	0,6
5E	Dep. 8	1,5	1,3	1,3	1,5
5F	Dep. 9	6,3	0,8	2,4	1,5
5G	Dep. 10	4,8	0,3	4,3	0,5
5H	Dep. 11	5,0	0,8	3,2	1,5
5I	Dep. 12	26,3	0,0	18,7	0,0
6	Filtro 1	2,5	0,6	2,8	0,9
7	Filtro 2	0,0	0,0	0,0	0,0
8	Filtro 3	0,1	0,1	0,4	0,4
9	Dep. B.	0,2	0,2	0,4	0,4
10	BE 1,5L	0,5	0,0	1,0	0,0
11	BE 5L	0,0	0,0	0,0	0,0
12	BE 33cL/50cL	0,5	0,0	0,6	0,0
13	IP 1,5L	0,0	0,2	0,0	0,4
14	IP 5L	0,2	0,0	0,6	0,0
15	IP 33cL/50cL	2,2	0,2	4,4	0,7
16	DA 1,5L	0,2	0,0	0,4	0,0
17	DA 5L	0,1	0,0	0,5	0,0
18	DA 33cL/50cL	0,1	0,1	0,2	0,2
22	DJ 1,5L	0,5	0,5	0,7	0,7
23	DJ 5L	0,0	0,0	0,0	0,0
24	DJ 33cL/50cL	0,1	0,1	0,3	0,3
26	FP 1,5L	0,1	0,1	0,3	0,3
27	FP 5L	0,0	0,0	0,0	0,0
28	FP 33cL/50cL	0,1	0,2	0,3	0,5
29	Filtro 1 (5L)	0,4	0,0	0,5	0,0
30	Filtro 2 (5L)	0,0	0,0	0,0	0,0
31	CP 3	6,8	1,9	5,7	1,7

**Tabela E.4 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Abril.**

<b>Abril</b>					
<b>Ponto de amostragem</b>	<b>Local</b>	<b>Média mensal 22 °C/72h</b>	<b>Média mensal 37 °C/24h</b>	<b>Desvio padrão 22 °C/72h</b>	<b>Desvio padrão 37 °C/24h</b>
1	CP 2	4,9	0,0	4,1	0,0
2	CP 1	4,5	0,5	2,7	1,0
3	Dep. 1	4,6	0,0	5,6	0,0
4	Dep. 2	0,5	0,0	0,6	0,0
5	Dep. 3	1,8	0,0	1,1	0,0
5A	Dep. 4	7,3	0,0	9,2	0,0
5B	Dep. 5	3,3	0,3	1,5	0,6
5C	Dep. 6	1,5	0,0	1,0	0,0
5D	Dep. 7	1,0	0,0	0,8	0,0
5E	Dep. 8	5,8	0,0	6,9	0,0
5F	Dep. 9	4,5	0,0	5,4	0,0
5G	Dep. 10	2,0	0,0	0,0	0,0
5H	Dep. 11	9,3	0,3	10,5	0,5
5I	Dep. 12	11,5	0,0	6,7	0,0
6	Filtro 1	0,5	0,0	0,7	0,0
7	Filtro 2	0,4	0,2	0,5	0,4
8	Filtro 3	0,0	0,0	0,0	0,0
9	Dep. B.	0,2	0,0	0,6	0,0
10	BE 1,5L	0,4	0,0	0,9	0,0
11	BE 5L	0,0	0,0	0,0	0,0
12	BE 33cL/50cL	0,8	0,0	1,3	0,0
13	IP 1,5L	0,2	0,0	0,5	0,0
14	IP 5L	0,2	0,0	0,5	0,0
15	IP 33cL/50cL	0,6	0,1	1,7	0,2
16	DA 1,5L	0,0	0,1	0,0	0,3
17	DA 5L	0,1	0,0	0,2	0,0
18	DA 33cL/50cL	0,0	0,1	0,0	0,2
22	DJ 1,5L	0,0	0,0	0,0	0,0
23	DJ 5L	0,0	0,0	0,0	0,0
24	DJ 33cL/50cL	0,2	0,0	0,4	0,0
26	FP 1,5L	0,1	0,0	0,3	0,0
27	FP 5L	0,1	0,0	0,2	0,0
28	FP 33cL/50cL	0,2	0,0	0,4	0,0
29	Filtro 1 (5L)	0,8	0,0	1,5	0,0
30	Filtro 2 (5L)	0,0	0,0	0,0	0,0
31	CP 3	3,8	0,9	4,8	1,2

**Tabela E.5 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Maio.**

<b>Maio</b>					
<b>Ponto de amostragem</b>	<b>Local</b>	<b>Média mensal 22 °C/72h</b>	<b>Média mensal 37 °C/24h</b>	<b>Desvio padrão 22 °C/72h</b>	<b>Desvio padrão 37 °C/24h</b>
1	CP 2	2,3	0,6	3,1	1,1
2	CP 1	5,2	0,8	6,1	0,8
3	Dep. 1	6,6	0,6	10,6	1,1
4	Dep. 2	3,0	0,0	1,2	0,0
5	Dep. 3	1,3	0,3	2,5	0,5
5A	Dep. 4	8,8	1,3	10,6	1,0
5B	Dep. 5	2,6	0,0	2,2	0,0
5C	Dep. 6	1,2	1,0	1,1	1,4
5D	Dep. 7	14,0	0,3	14,3	0,5
5E	Dep. 8	1,3	0,0	1,0	0,0
5F	Dep. 9	9,3	1,0	3,6	1,2
5G	Dep. 10	4,4	0,8	4,7	1,8
5H	Dep. 11	7,4	0,4	7,8	0,9
5I	Dep. 12	5,5	0,5	7,1	1,0
6	Filtro 1	1,9	1,0	2,3	1,5
7	Filtro 2	2,0	0,5	4,0	1,0
8	Filtro 3	0,4	0,1	0,7	0,3
9	Dep. B.	9,3	2,4	13,3	4,6
10	BE <sub>1,5L</sub>	1,3	0,3	1,9	0,5
11	BE <sub>5L</sub>	1,8	0,0	2,9	0,0
12	BE <sub>33cL/50cL</sub>	4,5	0,0	5,2	0,0
13	IP <sub>1,5L</sub>	1,3	0,2	2,0	0,7
14	IP <sub>5L</sub>	0,9	0,1	1,0	0,3
15	IP <sub>33cL/50cL</sub>	2,9	0,5	5,6	1,3
16	DA <sub>1,5L</sub>	0,3	0,1	0,6	0,3
17	DA <sub>5L</sub>	0,2	0,0	0,4	0,2
18	DA <sub>33cL/50cL</sub>	0,8	0,0	1,8	0,2
22	DJ <sub>1,5L</sub>	0,5	0,1	0,7	0,2
23	DJ <sub>5L</sub>	0,4	0,1	1,1	0,2
24	DJ <sub>33cL/50cL</sub>	1,5	0,0	2,5	0,0
25	DPN <sub>5L</sub>	1,2	0,1	2,2	0,3
26	FP <sub>1,5L</sub>	0,5	0,0	1,0	0,0
27	FP <sub>5L</sub>	0,2	0,1	0,4	0,3
28	FP <sub>33cL/50cL</sub>	1,9	0,4	2,3	1,2
29	Filtro 1 (5L)	8,2	1,0	10,2	2,0
30	Filtro 2 (5L)	12,8	2,9	17,2	4,7
31	CP 3	3,9	0,9	3,8	1,5

**Tabela E.6 - Médias mensais e os desvios padrão a 37 °C após 24 horas de incubação e a 22 °C após 72 horas de incubação para cada ponto de amostragem ao longo de todo o processo de enchimento para o mês de Junho.**

<b>Junho</b>					
<b>Ponto de amostragem</b>	<b>Local</b>	<b>Média mensal 22 °C/72h</b>	<b>Média mensal 37 °C/24h</b>	<b>Desvio padrão 22 °C/72h</b>	<b>Desvio padrão 37 °C/24h</b>
1	CP 2	2,6	0,2	1,9	0,4
2	CP 1	2,8	0,4	3,7	0,5
3	Dep. 1	1,8	0,0	1,9	0,0
4	Dep. 2	0,7	0,0	1,2	0,0
5	Dep. 3	15,0	0,0	17,8	0,0
5A	Dep. 4	7,8	0,0	6,2	0,0
5B	Dep. 5	3,0	0,3	1,8	0,5
5C	Dep. 6	0,3	0,8	0,5	0,5
5D	Dep. 7	6,7	0,0	8,1	0,0
5E	Dep. 8	0,3	0,0	0,5	0,0
5F	Dep. 9	13,5	0,0	13,5	0,0
5G	Dep. 10	10,5	0,3	11,7	0,5
5H	Dep. 11	3,0	0,3	3,5	0,5
5I	Dep. 12	2,0	0,7	1,7	0,6
6	Filtro 1	2,3	1,4	2,4	1,6
7	Filtro 2	0,0	0,0	0,0	0,0
8	Filtro 3	0,4	0,0	0,8	0,0
9	Dep. B.	5,8	2,6	6,8	4,0
10	BE <sub>1,5L</sub>	0,0	0,0	0,0	0,0
11	BE <sub>5L</sub>	0,0	0,0	0,0	0,0
12	BE <sub>33cL/50cL</sub>	10,0	0,0	6,3	0,0
13	IP <sub>1,5L</sub>	1,9	0,2	3,9	0,5
14	IP <sub>5L</sub>	1,7	0,4	2,8	1,2
15	IP <sub>33cL/50cL</sub>	4,9	0,4	7,7	1,0
16	DA <sub>1,5L</sub>	0,4	0,1	0,8	0,5
17	DA <sub>5L</sub>	0,2	0,1	0,5	0,2
18	DA <sub>33cL/50cL</sub>	1,4	0,4	1,5	1,2
22	DJ <sub>1,5L</sub>	0,0	0,0	0,0	0,0
23	DJ <sub>5L</sub>	0,1	0,1	0,3	0,3
24	DJ <sub>33cL/50cL</sub>	3,8	0,0	6,3	0,0
25	DPN <sub>5L</sub>	1,4	0,2	2,0	0,5
26	FP <sub>1,5L</sub>	1,2	0,1	2,5	0,3
27	FP <sub>5L</sub>	0,1	0,0	0,4	0,0
28	FP <sub>33cL/50cL</sub>	1,7	0,0	2,1	0,0
29	Filtro 1 (5L)	1,2	0,0	1,4	0,0
30	Filtro 2 (5L)	7,9	1,1	5,8	1,4
31	CP 3	3,9	0,4	2,5	0,7

## F. Análise multivariável

No seguimento do estudo efectuado no *Capítulo 2*, seguem-se os resultados globais antes e depois da rotação.

Tabela F.1 - Matriz dos valores globais antes da rotação.

Matriz de Componente <sup>(*)</sup>								
	Componente							
	1	2	3	4	5	6	7	8
CP 1 22 °C	-0,234	-0,374	0,018	-0,004	0,012	0,353	0,444	0,257
CP 1 pH	0,135	0,614	0,433	-0,060	-0,130	-0,224	0,030	0,373
CP 1 Temp.	0,631	0,267	-0,366	-0,250	0,317	0,046	0,034	-0,332
CP 2 22 °C	-0,098	-0,303	0,328	-0,330	-0,280	0,185	0,055	0,309
CP 2 pH	0,314	0,387	0,118	0,050	-0,655	-0,060	0,030	-0,147
CP 2 Temp.	0,666	0,519	-0,197	0,105	0,221	0,307	-0,030	-0,197
CP 3 22 °C	-0,518	0,041	-0,060	-0,011	0,085	0,447	0,252	0,079
CP 3 pH	0,428	0,366	0,366	-0,005	-0,197	-0,289	-0,071	0,055
CP 3 Temp.	0,682	0,388	-0,340	0,048	0,270	0,235	-0,006	-0,254
Dep. 1 22 °C	-0,270	-0,051	-0,064	0,119	-0,532	0,279	-0,108	0,179
Dep. 1 Temp.	0,628	-0,082	-0,254	-0,200	0,426	0,043	0,059	-0,346
Dep. 2 22 °C	-0,357	0,012	-0,007	-0,097	0,052	0,158	0,685	0,094
Dep. 2 Temp.	0,801	-0,072	-0,277	-0,307	-0,058	0,191	-0,077	-0,051
Dep. 3 22 °C	0,244	-0,371	-0,143	0,717	-0,063	-0,131	0,159	-0,142
Dep. 3 Temp.	0,950	-0,047	-0,052	-0,095	-0,183	0,009	0,084	0,108
Dep. 4 22 °C	0,245	0,616	0,257	0,161	-0,151	0,190	0,010	-0,146
Dep. 4 Temp.	0,954	-0,026	-0,045	-0,047	-0,152	0,033	-0,005	0,171
Dep. 5 22 °C	-0,453	-0,008	-0,164	-0,115	-0,223	-0,245	0,223	-0,007
Dep. 5 Temp.	0,841	-0,265	-0,069	-0,095	-0,218	0,090	-0,140	0,052
Dep. 6 22 °C	-0,705	0,014	0,100	0,141	0,160	0,228	-0,184	0,156
Dep. 6 Temp.	0,907	-0,218	-0,049	-0,184	-0,143	0,095	-0,050	0,074
Dep. 7 22 °C	0,072	-0,144	0,173	-0,102	0,539	0,047	-0,379	0,455
Dep. 7 Temp.	0,930	-0,168	0,018	-0,011	-0,037	-0,065	-0,062	0,166
Dep. 8 22 °C	-0,408	0,045	0,107	0,005	-0,360	0,115	-0,278	-0,109
Dep. 8 Temp.	0,946	-0,080	0,005	-0,080	-0,182	-0,027	0,085	0,102
Dep. 9 22 °C	0,250	-0,372	-0,229	0,558	-0,083	-0,094	0,254	-0,019
Dep. 9 Temp.	0,935	0,031	-0,047	-0,041	-0,183	0,091	0,002	0,058
Dep. 10 22 °C	-0,096	-0,054	0,751	0,184	0,203	-0,135	0,330	-0,070
Dep. 10 Temp.	0,958	-0,193	-0,007	-0,108	-0,084	0,040	-0,000	0,014
Dep. 11 22 °C	-0,342	-0,128	0,058	0,003	0,278	0,217	-0,488	0,234
Dep. 11 Temp.	0,900	-0,244	-0,096	-0,213	-0,084	0,006	-0,057	0,089
Filtro 2 22 °C	0,374	0,676	-0,010	0,271	-0,111	0,405	0,035	0,133
Filtro 3 22 °C	0,407	-0,157	0,524	0,087	0,345	0,196	-0,274	0,165
Filtro 2 (5L) 22 °C	0,708	0,520	-0,016	0,296	0,072	0,148	0,007	0,168

## Continuação

	Componente							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>BE<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,294	0,362	-0,262	-0,217	-0,064	-0,492	0,136	0,301
<b>BE<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,582	-0,452	-0,174	0,498	-0,139	0,003	-0,142	-0,126
<b>IP<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,620	-0,197	-0,192	0,441	0,113	-0,242	0,280	0,003
<b>IP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,644	0,091	0,375	0,224	0,121	-0,188	-0,183	-0,117
<b>DA<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,542	-0,045	0,485	-0,185	0,237	-0,189	0,175	-0,188
<b>DA<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,163	0,028	0,084	0,597	0,347	-0,046	0,141	0,232
<b>DA<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,551	-0,394	-0,152	0,338	-0,042	0,058	-0,341	0,103
<b>DJ<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,114	0,372	-0,231	0,169	0,037	0,019	-0,251	0,341
<b>DJ<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,234	0,358	-0,286	-0,100	0,158	-0,550	0,070	0,314
<b>DJ<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,661	-0,159	0,506	-0,098	0,176	0,125	-0,055	-0,218
<b>FP<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,569	0,211	0,113	-0,078	0,059	0,323	0,086	-0,053
<b>FP<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,407	0,159	0,585	0,414	0,062	0,201	0,295	0,051
<b>FP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,787	0,109	-0,112	0,278	0,022	-0,265	-0,112	0,171
<b>Água Cons.<sub>5L</sub></b>	0,436	0,133	-0,229	-0,260	0,395	0,147	0,266	0,003
<b>Água Cons.<sub>1,5L</sub></b>	0,525	-0,112	-0,106	-0,074	-0,261	0,432	0,324	0,349
<b>Água Cons.<sub>33cL/50cL</sub></b>	0,577	-0,327	0,124	-0,322	0,291	-0,168	0,266	0,362
<b>Temp.<sub>ambiente</sub></b>	0,825	-0,243	0,321	-0,164	-0,096	-0,053	-0,077	-0,211
<b>HR</b>	-0,380	0,057	-0,515	0,191	0,235	0,065	-0,007	0,320

*Método de Extracção: Análise de Componente Principal.*

*(\*) 8 componentes extraídos*



Tabela F.2 - Matriz dos valores globais após a rotação.

Matriz de Componente Rotativa (*)								
	Componente							
	1	2	3	4	5	6	7	8
CP 1 22 °C	-0,046	-0,173	-0,149	-0,018	0,091	-0,186	0,693	0,072
CP 1 pH	-0,011	0,495	-0,260	0,326	-0,275	0,542	-0,070	0,017
CP 1 Temp.	0,406	0,184	0,792	-0,072	-0,077	0,082	-0,152	-0,108
CP 2 22 °C	0,214	-0,190	-0,455	0,129	-0,316	-0,103	0,323	0,095
CP 2 pH	0,288	0,432	-0,271	0,065	-0,084	0,076	-0,230	-0,554
CP 2 Temp.	0,343	0,673	0,593	-0,050	0,050	-0,017	-0,136	-0,010
CP 3 22 °C	-0,427	0,067	-0,030	-0,183	-0,140	-0,250	0,496	0,038
CP 3 pH	0,273	0,343	-0,130	0,377	-0,089	0,338	-0,308	-0,117
CP 3 Temp.	0,385	0,496	0,698	-0,120	0,098	-0,008	-0,136	-0,040
Dep. 1 22 °C	-0,026	0,115	-0,539	-0,343	-0,040	-0,221	0,107	-0,123
Dep. 1 Temp.	0,453	-0,060	0,762	0,074	0,071	-0,061	-0,082	0,026
Dep. 2 22 °C	-0,314	-0,062	0,047	0,069	-0,048	0,055	0,690	-0,228
Dep. 2 Temp.	0,832	0,097	0,363	-0,143	-0,079	-0,030	-0,050	-0,032
Dep. 3 22 °C	0,113	-0,044	-0,033	0,036	0,863	-0,131	-0,054	-0,129
Dep. 3 Temp.	0,913	0,213	0,152	0,106	0,132	0,175	-0,014	-0,089
Dep. 4 22 °C	0,013	0,705	0,029	0,205	-0,110	-0,017	-0,144	-0,195
Dep. 4 Temp.	0,906	0,263	0,123	0,076	0,147	0,178	-0,053	0,011
Dep. 5 22 °C	-0,327	-0,281	-0,171	-0,161	-0,085	0,169	0,123	-0,336
Dep. 5 Temp.	0,912	0,051	0,050	0,004	0,124	-0,051	-0,118	0,019
Dep. 6 22 °C	-0,629	-0,013	-0,254	-0,154	-0,107	-0,213	0,111	0,330
Dep. 6 Temp.	0,952	0,071	0,146	0,067	0,065	0,015	-0,040	0,026
Dep. 7 22 °C	0,067	-0,078	0,047	0,069	-0,097	0,123	-0,024	0,817
Dep. 7 Temp.	0,875	0,118	0,126	0,162	0,224	0,172	-0,112	0,126
Dep. 8 22 °C	-0,250	0,017	-0,398	-0,143	-0,219	-0,274	-0,184	-0,117
Dep. 8 Temp.	0,907	0,183	0,123	0,166	0,151	0,174	-0,028	-0,083
Dep. 9 22 °C	0,185	-0,082	-0,017	-0,050	0,755	-0,042	0,104	-0,138
Dep. 9 Temp.	0,870	0,318	0,161	0,075	0,119	0,095	-0,077	-0,071
Dep. 10 22 °C	-0,260	0,011	-0,128	0,811	0,114	-0,019	0,154	0,054
Dep. 10 Temp.	0,931	0,100	0,209	0,163	0,148	0,036	-0,069	0,002
Dep. 11 22 °C	-0,243	-0,080	-0,141	-0,187	-0,146	-0,200	-0,092	0,603
Dep. 11 Temp.	0,940	-0,009	0,191	0,052	0,076	0,088	-0,065	0,050
Filtro 2 22 °C	0,144	0,907	0,076	-0,092	0,012	0,054	0,050	-0,041
Filtro 3 22 °C	0,310	0,168	0,001	0,459	0,043	-0,164	-0,085	0,601
Filtro 2 (5L) 22 °C	0,395	0,764	0,236	0,055	0,209	0,242	-0,081	0,086

## Continuação

	Componente							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>BE<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,210	0,065	0,115	-0,118	-0,083	0,758	-0,071	-0,166
<b>BE<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,544	-0,025	-0,003	-0,053	0,685	-0,240	-0,226	0,005
<b>IP<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,406	0,032	0,254	0,122	0,713	0,213	0,012	-0,076
<b>IP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,384	0,273	0,117	0,489	0,226	0,076	-0,404	0,131
<b>DA<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,367	-0,015	0,275	0,705	-0,044	0,093	-0,068	0,013
<b>DA<sub>5L</sub> 22 °C</b>	-0,106	0,262	0,068	0,180	0,584	0,159	0,100	0,306
<b>DA<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,566	-0,002	-0,051	-0,139	0,478	-0,153	-0,240	0,276
<b>DJ<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,016	0,388	-0,017	-0,330	0,043	0,284	-0,137	0,230
<b>DJ<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,069	0,041	0,216	-0,112	0,028	0,789	-0,130	0,001
<b>DJ<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,543	0,107	0,209	0,615	-0,019	-0,233	-0,126	0,164
<b>FP<sub>1,5L</sub> 22 °C</b>	0,441	0,427	0,274	0,178	-0,081	-0,086	0,084	0,014
<b>FP<sub>5L</sub> 22 °C</b>	0,154	0,541	-0,064	0,623	0,295	-0,068	0,186	0,065
<b>FP<sub>33cL/50cL</sub> 22 °C</b>	0,570	0,285	0,148	0,052	0,411	0,375	-0,293	0,090
<b>Água Cons.<sub>5L</sub></b>	0,298	0,115	0,613	0,003	-0,075	0,152	0,254	0,072
<b>Água Cons.<sub>1,5L</sub></b>	0,655	0,260	-0,064	-0,113	0,060	-0,020	0,516	-0,041
<b>Água Cons.<sub>33cL/50cL</sub></b>	0,596	-0,255	0,205	0,329	0,028	0,362	0,303	0,280
<b>Temp.<sub>ambiente</sub></b>	0,794	-0,011	0,121	0,465	0,026	-0,109	-0,234	-0,044
<b>HR</b>	-0,373	-0,021	0,075	-0,557	0,178	0,164	0,203	0,237

*Método de Extração: Análise de Componente Principal.*

*Método de Rotação: Varimax com Normalização de Kaiser*

*(\*) Rotação convergida em 10 iterações*

