

ACÇÃO DE ALGICIDAS EM MICROALGAS DE EFEITO ANTIESTÉTICO EM EMBALAGENS DE ÁGUAS

Wakiyama, C.¹; Pires, E. F.²; Chamixaes-Lopez, C.C.B.C³ & Diniz, M.L.⁴

Resumo – As águas captadas em profundidade podem apresentar desenvolvimento de microalgas, favorecendo a formação de biofilmes pelas condições higiênicas favoráveis e incidência de luz. Desta forma, procedimentos adequados de higienização que evitem a formação ou que removam os biofilmes contribuirão para a preservação da qualidade das águas engarrafadas. As amostras foram constituídas de embalagens de águas com sinais de alteração pelo desenvolvimento de microalgas, procedentes de duas empresas engarrafadoras do Agreste e Litoral de Pernambuco - Brasil. Foram utilizados dois diferentes tipos de embalagens: polipropileno de 20L e tereftalado de polietileno de 5L. Dois tipos de microalgas foram identificados: *Stichosiphon* (5L) e *Microcystis robusta* (20L). Avaliou-se a ação abrasiva de brita com detergente alcalino clorado associada a diferentes algicidas (ácido peracético e quaternário de amônia) em dois tempos de contato (5 e 15 min) sobre a inibição do crescimento das microalgas. Observou-se que nas amostras de 20L todos os tratamentos demonstraram eficácia. Nas amostras de 5L o uso da ação mecânica com detergente alcalino clorado seguido da sanitização química com quaternário de amônia foi o que demonstrou melhores resultados, permitindo concluir que só a associação de diferentes tratamentos é capaz de eliminar os biofilmes formados por microalgas em águas engarrafadas.

Palavras-Chave – água; algas; algicidas.

INTRODUÇÃO

A água de má qualidade constitui um veículo de contaminação, pois transporta microorganismos causadores de doenças que podem levar à morte devendo ser considerada com

¹ Wakiyama, C.: Av. Beira mar, 4410, Apt 501. Candeias, Jaboatão dos Guararapes - PE CEP: 54450-000. Fone: (0xx81) 3362-3846.

e-mail: chikawakiyama@ig.com.br

² Pires, E.F. Campus Universitário. Departamento de Nutrição CEP: 50670-901. Cidade Universitária – Recife - PE e-mail: efpi@uol.com.br

³ Chamixaes-Lopez, C.C.B.C. UFPE. Departamento de Botânica CEP: 50670-901. Cidade Universitária – Recife – PE, e-mail: Chamilopez@fastmodem.com.br.

⁴ Diniz, M.L. Bolsista PIBIC/CNPq.

bastante destaque. A água de qualidade satisfatória deve ser isenta de qualquer tipo de contaminação e possuir características organolépticas desejáveis pelo consumidor sendo a sua qualidade considerada uma questão tão importante quanto sua escassez [1].

As microalgas se destacam por provocarem alterações e ocasionarem transtornos aos abastecimentos públicos e às águas envasadas representando problemas estéticos de consequência econômica para as empresas engarrafadoras. Os recipientes comprometidos são descartados com o desperdício do líquido e da embalagem quando essa é de natureza descartável. No caso dos garrafões de 20 litros, retornáveis quando se apresentam visivelmente contaminados por microalgas, os processos de lavagem tornam-se mais difíceis, uma vez que além da necessidade de eliminação das sujidades e a contaminação por bactérias normalmente presentes na água, exigem alternativas que levem à destruição de microalgas de efeito antiestético.

As técnicas seguras, utilizadas durante a higiene na captação e na estocagem de águas, constituem alternativas viáveis e eficazes que visam a preservação da sua pureza, da palatabilidade e da qualidade microbiológica, entretanto, as águas captadas em profundidade podem apresentar o desenvolvimento de microalgas, favorecendo a formação de biofilmes pelas condições higiênicas favoráveis e pela incidência de luz. Desta forma, pesquisas que venham contribuir com informações de procedimentos adequados de higienização que evitem a formação ou que removam os biofilmes contribuirão para a preservação da qualidade das águas. Nesse aspecto, a sanitização química em recipientes plásticos pode ser uma alternativa viável a fim de evitar o crescimento de microalgas de efeito antiestético. Na higienização, os agentes químicos detergentes têm a função de remover resíduos orgânicos e minerais das superfícies, enquanto os sanificantes físicos ou químicos eliminam patógenos e reduzem o número de microorganismos alteradores das superfícies a níveis aceitáveis [2,3].

Considerando que a incidência de microalgas nas indústrias de engarrafamento é real, crescente e responsável por alterações de ordem estética avaliou-se o efeito de diferentes algicidas na eliminação de microalgas presentes em águas engarrafadas procedentes de duas empresas engarrafadoras localizadas em áreas geográficas distintas: Agreste e Litoral de Pernambuco. Foram utilizados 2 diferentes tipos de embalagens: polipropileno de 20L (PP 20L) e tereftalado de polietileno de 5L (PET 5L). As amostras foram constituídas de embalagens com águas que apresentaram sinais de alteração pelo desenvolvimento de microalgas constituído por 40 unidades de cada tipo de recipiente, totalizando 80 embalagens.

METODOLOGIA

Realizou-se a identificação das microalgas aderidas nos recipientes de acordo com as chaves taxonômicas [4,5,6] e textos especializados para identificação [4,7,8]. O método foi realizado a fresco em microscópio binocular, utilizando lâmina e lamínula de uso comum em laboratório. Posteriormente as amostras foram submetidas à análise da contagem de bactérias heterotróficas utilizando metodologia validada pela AOAC n° 990.12 [9] e cultivadas em meio Bold [10]. Esta etapa possibilitou a recuperação da microalga utilizada no experimento que se encontrava possivelmente injuriada.



Figura 1 - Cultivo de microalgas em meio Bold.
(A= Água com meio Bold, B=Água sem meio Bold)

Após seu crescimento realizaram-se diferentes tratamentos químicos na higienização dos recipientes que avaliaram a ação abrasiva de brita com detergente alcalino clorado associada a diferentes algicidas (ácido peracético e quaternário de amônia) em dois tempos de contato (5 e 15 min) sobre a inibição do crescimento das microalgas.

As 40 amostras foram distribuídas em seis tratamentos conforme demonstrado na figura 2.

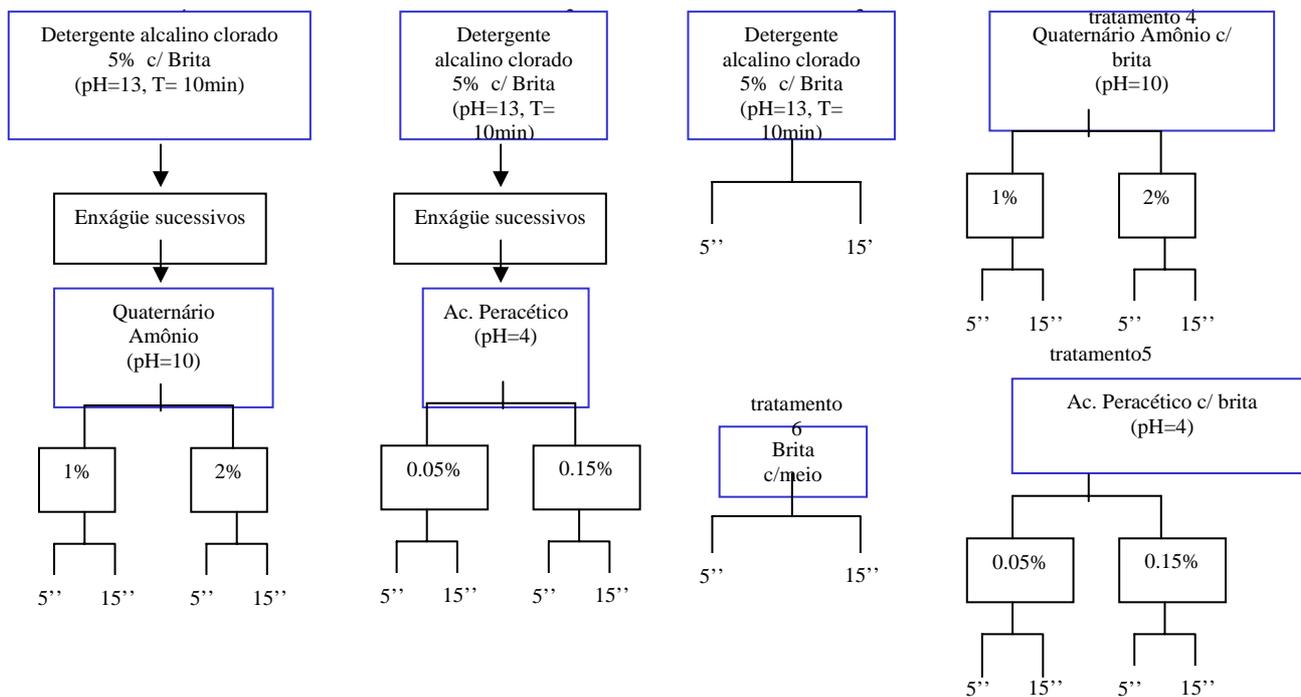


Figura 2 - Distribuição dos tratamentos utilizados nos dois grupos de 40 amostras (5L e 20L).

Com os algicidas foram utilizados cinco tratamentos. Em paralelo foi utilizado um grupo controle onde se utilizou um tratamento mecânico apenas com abrasão de brita e água. Nos 5 tratamentos realizados avaliou-se a eficácia da ação mecânica e química e no grupo controle avaliou-se a eficácia da ação abrasiva. Os recipientes foram colocados em um equipamento rotatório adaptado de um moinho de bola por dois tempos distintos (5min e 15min) (figura 3).



Figura 3 - Equipamento rotatório adaptado para garrações de 20L.

Os garrafões foram esvaziados e submetidos a enxágües sucessivos em água potável corrente. Para a verificação da completa eliminação do algicida, foi realizado o teste de pH na água do último enxágüe. Considerou-se satisfatório o enxágüe cujo pH correspondia ao pH da água utilizada no enxágüe (pH 6.0 ± 0.5).

Após os tratamentos, os recipientes foram preenchidos com o Meio Bold, e mantidos em repouso sob iluminação natural, protegida da incidência da luz direta por 40 dias, quando foram inspecionados quanto ao desenvolvimento das microalgas. Consideraram-se eficazes os algicidas cujos recipientes não apresentaram alteração com o crescimento de microalgas. Os resultados obtidos foram submetidos a tratamentos estatísticos através do Software Statistica V.6, modulo “Multivariate Exploratory Techiques” para “Correspondence Analysis and Cluster” [11].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As microalgas identificadas nas amostras de 5L e 20L se encontravam em situação majoritária apresentando-se assim, também após o enriquecimento em meio Bold.

As águas quando em poços profundos, quase não possuem microorganismos e considera-se que a ausência de luz impossibilita a presença de algas ou outros seres fotosintetizantes [12]. Outros estudos demonstraram que as águas profundas apesar da pouca disponibilidade de nutrientes apresentam uma população microbiana própria [13,14].

Observou-se que microalgas em forma de cistos podem estar presentes em águas de origem profunda, porém seu desenvolvimento é evidenciado quando em contato com nutrientes e luz, provocando a alteração da cor e o aparecimento de turbidez na água.

Na tabela 1 estão demonstradas as classificações das microalgas identificadas em embalagens de 5L e 20L, respectivamente:

Tabela 1 - Classificação taxonômica de microalgas em águas engarrafadas

| Chave Taxonômica | 5 Litros | 20 Litros |
|------------------|----------------------------|--|
| DIVISÃO | CYANOPHYTA Smith | CYANOPHYTA Smith |
| CLASSE | CYANOPHYCEAE Sachs | CYANOPHYCEAE Sachs |
| ORDEM | CHAMAESIPHONALES Wettstein | CHROOCOCCALES Wettstein |
| FAMÍLIA | DERMOCARPACEAE Geitler | CHROOCOCCACEAE Nägeli |
| GÊNERO | <i>Stichosiphon</i> | <i>Microcystis</i> Kützing |
| ESPÉCIE | <i>Stigosiphon sp</i> | <i>Microcystis robusta</i> Chark Nygaard |

Diante dos resultados verifica-se que a microalga encontrada na amostra de 5L pertence ao gênero *Stichosiphon* sendo representado por microalgas verde-azuladas, pouco estudada*, portanto com informações escassas na literatura. Entretanto é conhecido que gênero habita águas doces, são

solitárias, com endósporo e epífitas – apresentando-se aderida por meio de um “pé” ou apressório mucilaginoso [4,7,8]. Tais microalgas não estão incluídas entre as que causam complicações à saúde pública.

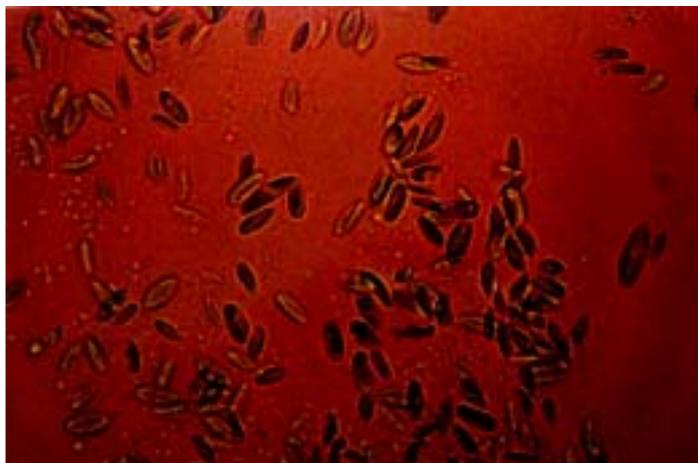


Figura 4 - Célula da microalga *Stigosiphon sp*

A microalga identificada nas embalagens de 20L (*Microcystis robusta*) é semelhante àquela encontrada nas amostras de 5L no que se refere à divisão e a classe taxonômica. Diferenças entre elas foram constatadas a partir do estreitamento da chave taxonômica. Para estas amostras foi necessário realizar a sua identificação até a espécie, uma vez que neste gênero estão incluídas espécies capazes de produzir compostos tóxicos [12,15]. Segundo alguns autores [16,17] entre aproximadamente 5000 espécies de microalgas conhecidas, cerca de 300 formam florações e 40 delas são potencialmente tóxicas capazes de provocar a morte humana e de peixes por sufocação ou envenenamento. Embora existam muitos estudos sobre a ecologia e distribuição do fitoplâncton pouco se sabe sobre microorganismos produtores de toxinas e seus efeitos no Brasil [16].

A microalga identificada na amostra de 20L é verde azulada, de forma arredondada ou alongada, colonial, planctônica encontrada em águas paradas [6,7]. Sobre a espécie *Microcystis robusta*, a literatura não refere toxicidade e/ou risco para a saúde pública não estando incluída entre as microalgas tóxicas referidas na literatura.

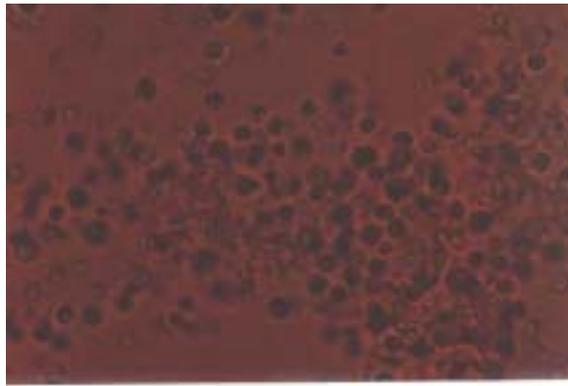
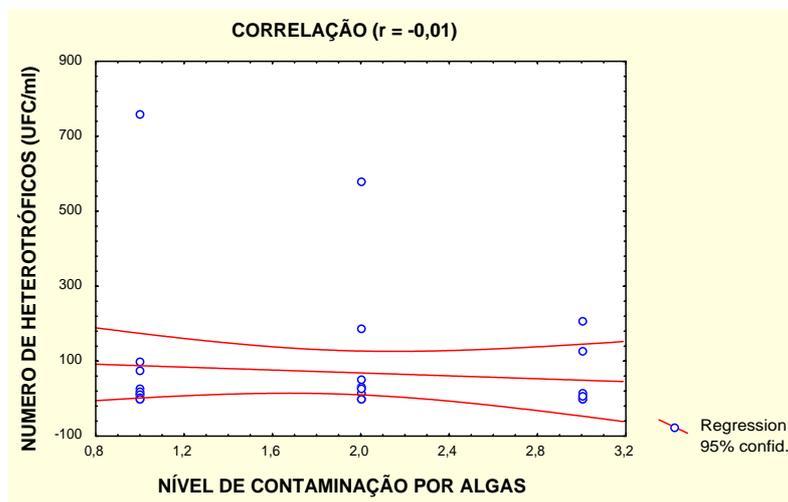


Figura 5 - Célula da microalga *Microcystis robusta*

Nas figuras 6 e 7 observam-se os resultados da correlação entre a contagem de heterotróficos e visualização de intensidade de cor produzidas pelas microalgas.



Nas figuras 6 e 7 verifica-se não haver correlação entre o número de heterotróficos autóctones e a intensidade de cor verde produzida nos recipientes, dessa forma assegura-se dizer que a concentração de heterotróficos não interferiu no desenvolvimento das microalgas.

Na tabela 2 e 3 estão apresentados os resultados do desenvolvimento das microalgas nos recipientes submetidos a diferentes tratamentos.

Observa-se que o ácido peracético não foi eficaz para o controle do desenvolvimento de microalgas, o que pode ser justificado segundo Macedo (2000) por sua baixa estabilidade. O tratamento do recipiente com o quaternário de amônia apesar de ter apresentado crescimento em apenas uma das amostras estudada pode ser considerado eficaz, pois na mesma concentração em menor tempo de contato (5min) não foi observado o crescimento de tais microalgas.

Este comportamento pode ser atribuído à interferência de outros fatores, tais como características inerentes à própria microalga e ao desenho do recipiente que por si só desfavorece a remoção completa do biofilme. Verifica-se ainda que o tratamento que utilizou exclusivamente a ação mecânica foi insuficiente para atingir na matriz do glicocálix, desta forma impossibilitando a remoção completa do biofilme formado pelas microalgas.

Para os recipientes de 20L, os tratamentos químicos utilizados foram todos eficazes, o que sugere que a microalgas de hábitos planctônicos, como é o caso de *Microcystis robusta*, são mais sensíveis as ações dos algicidas e que o desenho e o material do recipiente de 20L se apresenta como mais adequado para o envase de águas de origem subterrâneas.

Tabela 2 - Comportamento das microalgas após aplicação de algicidas em amostras de 5L.

| Tratamentos | Nº de recipientes tratados | Nº de amostras c/ crescimento |
|---|----------------------------|-------------------------------|
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 1% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 1% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 2% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 2% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.05% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.05% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.15% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.15% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita (5min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita (15min) | 2 | 0 |
| Q. Amônia 1% com brita (5min) | 2 | 0 |
| Q. Amônia 1% com brita (15min) | 2 | 1 |
| Q. Amônia 2% com brita (5min) | 2 | 0 |
| Q. Amônia 2% com brita (15min) | 2 | 0 |
| Ác.Peracético 0.05% com brita (5 min) | 2 | 1 |
| Ác.Peracético 0.05% com brita (15 min) | 2 | 1 |
| Ác.Peracético 0.15% com brita (5 min) | 2 | 1 |
| Ác.Peracético 0.15% com brita (15 min) | 2 | 1 |
| Brita com meio bold (5 min) | 2 | 2 |
| Brita com meio bold (15 min) | 2 | 2 |
| TOTAL DE AMOSTRAS | 40 | |

Tabela 3 - Comportamento das microalgas após aplicação de algicidas em amostras de 20L.

| Tratamentos | Nº de recipientes tratados | Nº de amostras c/ crescimento |
|---|----------------------------|-------------------------------|
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 1% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 1% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 2% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Q. Amônia 2% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.05% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.05% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.15% (5 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita + Ác.Peracético 0.15% (15 min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita (5min) | 2 | 0 |
| Detergente A. Clorado a 5% com brita (15min) | 2 | 0 |
| Q. Amônia 1% com brita (15min) | 2 | 0 |
| Q. Amônia 2% com brita (5min) | 2 | 0 |
| Q. Amônia 2% com brita (15min) | 2 | 0 |
| Ác.Peracético 0.05% com brita (5 min) | 2 | 0 |
| Ác.Peracético 0.05% com brita (15 min) | 2 | 0 |
| Ác.Peracético 0.15% com brita (5 min) | 2 | 0 |
| Ác.Peracético 0.15% com brita (15 min) | 2 | 0 |
| Brita com meio bold (5 min) | 2 | 2 |
| Brita com meio bold (15 min) | 2 | 2 |
| TOTAL DE AMOSTRAS | 40 | |

Nas figuras 8 e 9 podem ser observadas o comportamento das microalgas estudadas através dos diversos tratamentos químicos e mecânicos.

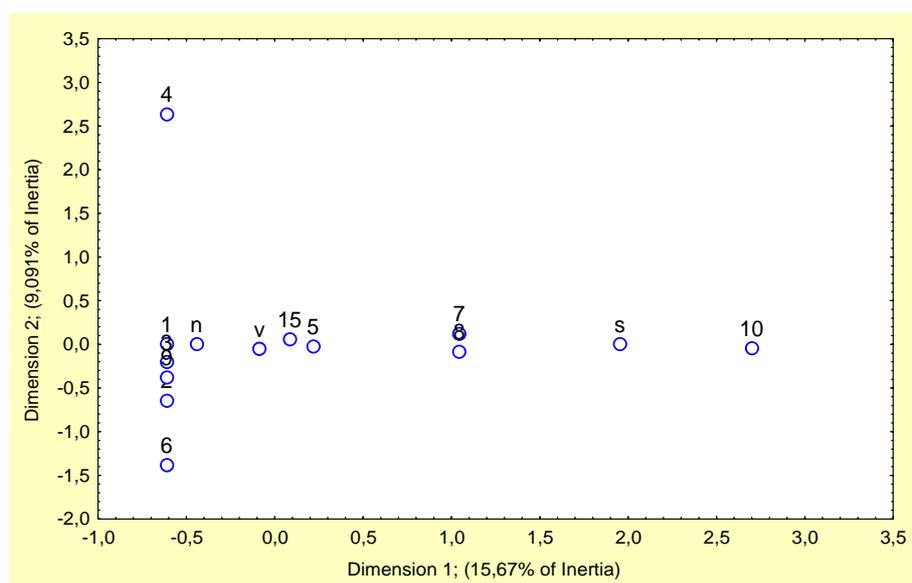


Figura 8 - Análise multivariada de correspondência múltipla para as amostras de 5L.

- Variáveis: (1) Detergente alcalino clorado 5% com brita + Quat. Amônia 1%,
 (2) Detergente alc. Clorado 5% com brita + Quat. Amônia 2%,
 (3) Detergente alc. Clorado 5% com brita + Ác. Perac. 0.05%,
 (4) Detergente alc. Clorado 5% com brita + Ác. Perac. 0.15%,
 (5) Quat. Amônia 1% com brita,

- (6) Quat. Amônia 2% com brita,
- (7) Ác. Perac. 0.05% com brita,
- (8) Ác. Perac. 0.15% com brita,
- (9) Detergente alc. Clorado 5% com brita
- (10) Brita com água,
- (v) tempo de 5min, (15) tempo de 15min, (s) crescimento de algas e (n) não crescimento de algas.

A aplicação de uma análise multivariada de correspondência múltipla para identificar possíveis associações significativas [18] possibilitou corroborar com a afirmativa de alguns autores [14,19,20] onde referem que as superfícies podem abrigar os microorganismos firmemente bem aderidos, dificultando assim, a sua remoção.

A utilização do detergente alcalino clorado associado ao emprego da ação mecânica abrasiva da brita antes da aplicação do agente químico sanitizante representou a alternativa mais eficaz. Dessa forma, entre os tratamentos utilizados o que demonstrou melhor resultado foi o que associou o uso da ação mecânica com detergente alcalino clorado seguido da sanitização química com quaternário de amônia, devido à capacidade do detergente solubilizar a matéria orgânica aderida ao biofilme e à sua ação potencializada pelo poder mecânico provocado pela brita na quebra da camada superficial do biofilme favorecendo a ação sanitizante do quaternário de amônia. Pois, se a matriz do biofilme não for completamente removida, durante a sanitização química, as células remanescentes podem se aderir novamente à superfície e favorecer o início da formação de um novo biofilme [2]. Outro fator que justifica a aderência do biofilme à superfície é o ambiente com baixas condições de nutrientes, provocando mudanças nas características das células que se associam em busca de nutrientes o que reflete na aproximação das mesmas e fixação às superfícies.

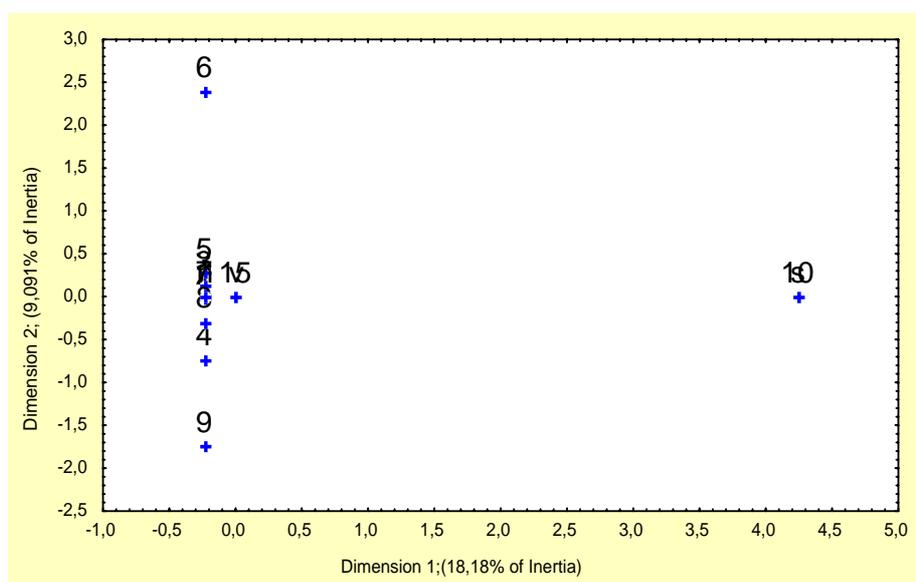


Figura 9 - Análise multivariada de correspondência múltipla para as amostras de 20L.

- Variáveis: (1) Detergente alcalino clorado 5% com brita + Quat. Amônia 1%,
(2) Detergente alc. Clorado 5% com brita+ Quat. Amônia 2%,
(3) Detergente alc. Clorado 5% com brita+ Ác. Perac. 0.05%,
(4) Detergente alc. Clorado 5% com brita + Ác. Perac. 0.15%,
(5) Quat. Amônia 1% com brita,
(6) Quat. Amônia 2% com brita,
(7) Ác. Perac. 0.05% com brita,
(8) Ác. Perac. 0.15% com brita,
(9) Detergente alc. Clorado 5% com brita
(10) Brita com água,
(v) tempo de 5min, (15) tempo de 15min, (s) crescimento de algas e (n) não crescimento de algas.

Na ilustração 9, observa-se a eficiência dos tratamentos não sendo evidenciado o crescimento da microalga nas amostras de 20L após a aplicação dos algicidas, demonstrando que apesar de pertencerem ao mesmo grupo das microalgas verde-azuladas, a *Microcystis robusta* possui outras características morfológicas, fisiológicas e hábito. A menor resistência aos tratamentos químicos, deve-se ao fato dessas microalgas planctônicas e sem apresório mucilaginoso apresentarem pouco associadas à formação da matriz envolvente (glicocálix) comum às espécies aderidas, mesmo possuindo mucilagem envolvente. Ademais, sua presença em solução atuou favorecendo maior ação do algicida.

Não foi constatada influência nos tempos utilizados (5 e 15 minutos) sobre os diversos tratamentos, não estando portanto esclarecido qual o menor tempo necessário para o contato do produto químico com o recipiente. Tal observação estimula o desenvolvimento de outros estudos, sendo de grande interesse para os engarrafadores por contribuir com a redução do tempo e mão de obra utilizada no processo.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos e nas condições em que foi realizada a pesquisa pode-se concluir que:

- as microalgas *Stichosiphon* e *Microcystis robusta* podem estar presentes e comprometer as características da água engarrafada;
- não há correlação entre o número de bactérias heterotróficas presentes nas águas de origem profunda e a intensidade de cor verde produzida por microalgas;
- o uso de apenas ação mecânica não é suficiente para eliminar os biofilmes formados por microalgas em recipientes de águas;

- a associação de dois tratamentos: mecânico e químico na limpeza dos recipientes demonstrou ser mais eficiente, portanto a mais indicada;
- as características morfológicas, fisiológicas e o hábito de cada microalga influenciaram na ação dos sanitizantes químicos;
- dentre os agentes químicos utilizados, o mais eficaz foi o que associou a utilização do detergente alcalino clorado e o quaternário de amônio.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo dessa pesquisa permite concordar que as microalgas aderidas em superfícies apresentam um problema sério nas indústrias engarrafadoras, uma vez que tais microorganismos podem crescer e se multiplicar continuamente no interior do biofilme até que ocorra a sua liberação no ambiente ocasionando prejuízos de ordem estética em recipientes de água. Como efeito, a contaminação dos produtos onera o setor e sua presença não deve ser negligenciada. Dessa forma, tal trabalho concorda ainda com a afirmativa de autores [19,20] no que tange à prevenção como a chave para desencorajar a formação do biofilme. A limpeza mecânica e a aplicação da sanitização mais adequada demonstraram ser o melhor modo de prevenção contra microorganismos aderentes e células livres, pois se constatou na literatura e no experimento realizado que uma vez que o biofilme se encontre firmemente estabilizado, a limpeza e a sanitização se torna mais difícil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PIMENTEL, R. Reserva de água no planeta. **Bahia análise & dados**, v. 9, n.3, p.133-137, dez, 1999.
- [2] LOMANDER, A. et al. Evaluation of chlorines' impact on biofilms on scratched stainless steel surfaces. **Bioresource Technology**. *Article in press*. p.1-9, Jan, 2004.
- [3] ANDRADE, N.J.; MACEDO J.A.B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: varela, 1996, 182p.
- [4] SMITH, G.M. **Fresh-water algae of the United States**, 2 ed. Macgraw-hill book company INC, 1950, 719p.
- [5] JOLY, A. B. **Gênero de algas de água doce da cidade de São Paulo e arredores**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1963, 186p.
- [6] BICUDO, C. E. M.; BICUDO, R. M. T. **Algas de águas continentais brasileiras**. São Paulo: Fundação brasileira para o desenvolvimento do ensino de ciências, 1970, 228 p.

- [7] DESIKACHARY, T.V. **Cyanophyta**. **Indian council of agricultural Research, New Delhi**, 85 e 177p., 1959, 685p.
- [8] NECCHI, JR. O.; SANT'ANNA, C.L. Taxonomic study of some chamasiphonales (cyanophyceae) from the state of São Paulo, South Eastern Brazil. **Rev. Bras. Bot**, n. 9, p.201-206, 1986.
- [9] AOAC **Official Methods Of Analysis**. 17th edition. Aerobic plate count in foods, v. 1, chapter 17, n° 990.12, p.11, 2002.
- [10] TOMPKINS et. al. **Culture collection of algae and protozoa catalogue of strains**. Natural Environment Research Council, 1995, 203p.
- [11] STATSOFT, Inc. **statistica for Windows** (compures program manual), Tulsa, ok: Statsoft, Inc, 2300 East 14. Street, 1996.
- [12] BRANCO, S.M. **Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária**. 3 ed. São Paulo:CETESB., 1986, 640p.
- [13] PIRES, E.F. **Microbiota autóctone de uma água subterrânea**. 2002.70f. Dissertação (doutorado em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.
- [14] MORAIS, P. M. de M. e V. de V. **Estudo da microbiologia de água mineral na emergência e na água engarrafada: ecologia microbiana em águas oligotróficas**. 1992. 214f. Dissertação (doutorado em microbiologia), Faculdade de Ciência e Tecnologia. Universidade de Coimbra, 1992.
- [15] MOLICA, R. **IV encontro do grupo de trabalho regional sobre florações de algas nocivas na América do Sul – (IOC- FANSA)** disponível em: <http://www.cttmar.univali.br/algas/publicacoes/IV_FANSA.pdf> acesso em: 12 jun 2004.
- [16] SMITH,F.; PROENÇA, L.A. Ocorrência de dinoflagelados do gênero *Dinophysis* (ENRENBURG, 1839) na enseada de cabeçudas (VERÃO E OUTONO DE 1999). Normas Técnicas Facimar, v.4, p.49-59, 2000. Disponível em: <<http://Watson.fasesp.Br/Temático/biol/botany.htm>> Acesso em: 12 jun 2004.
- [17] CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequence, monitoring and management**. World health organization. 1999, 416p.
- [18] PIGGOTT, J.R. **Statistical procedures in food research**. London: Elsevier Applied Science, 1986, 415p.
- [19] MOSTELLER, T.M.; BISHOP, J.R. Sanitizer efficacy againsty attached bacteria in a milk biofilm. **Journal of food protection**, v.56, n.1, jan, p.34-41,1993.
- [20] HOOD,S.K.; ZOTTOLA,E.A. Aderence to stainless steel by food-borne microorganisms during growth in model food systems. **International of food microbiology**, n.37, p.145-153, 1997.