

Avaliação da desinfecção de água por reator utilizando radiação ultravioleta

por

Mara Gomes Lobo

**Universidade da Região de Joinville
Pós-graduação em nível de Mestrado**

Trabalho apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos na Universidade da Região de Joinville.,
Joinville, SC, Brasil.

Joinville, 15 de dezembro de 2008

Resumo

O tratamento de água para consumo humano tem evoluído nos últimos anos em decorrência da necessidade de eliminar poluentes físico-químicos e biológicos causados pela ação antrópica. O Brasil enfrenta, diariamente, principalmente nas grandes metrópoles, problemas com o abastecimento de água. A possibilidade de contrair doenças pela água já é, há muito tempo, sabida pelo homem. A água potável deve estar isenta de microrganismos patogênicos e a eliminação ou inativação desses microrganismos é conhecida como desinfecção. Atualmente existem diferentes métodos de desinfecção de água. O mais utilizado é o desinfetante químico cloro (Cl_2). Alguns agentes físicos também podem ser utilizados na desinfecção de águas, como a radiação ultravioleta (UV) através de reator específico que possui acoplado em seu interior uma lâmpada UV. A radiação ultravioleta é um método utilizado há vários anos, com resultados diversos, dependendo da qualidade da água a tratar e das técnicas utilizadas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi, através de planejamentos experimentais, variando-se a concentração do microrganismo (*Escherichia coli* ou *Saccharomyces cerevisiae*) e o tempo de exposição à radiação UV, conhecer qual a melhor condição para obter-se maior de inativação dos microrganismos em um reator de 2,5L operando com uma lâmpada UV de 30W. Experimentos para verificação de dose letal também foram realizados. A maior inativação, 99,96%, foi obtida com amostra contendo 0,01g/L de células de *Escherichia coli* irradiadas durante 60s por UV a uma dose de radiação estimada de 9,2 mWs/cm². Para *Saccharomyces cerevisiae* a maior eficiência de inativação de 99,76% foi obtida, quando amostras de 0,01g/L de células foram tratadas durante 60s por radiação UV. Em aproximadamente 20h, após o tratamento, as células irradiadas de *E. coli* apresentaram reativação e *S. cerevisiae* levou em torno de 72h para reativar 100% das células.

Abstract

The treatment of drinking water has evolved in recent years due to the need to eliminate pollutants physical, chemical and biological caused by human action. Brazil faces every day, especially in large cities, problems with the water supply. The possibility of contracting diseases by water is already a long time, known by man. Drinking water should be free of pathogenic microorganisms and the elimination or inactivation of microorganisms is known as disinfection. Currently there are different methods of disinfecting water. The most used is the chemical disinfectant chlorine (Cl₂). Some physical agents can also be used for the disinfection of water, such as ultraviolet radiation (UV) through special reactor that has attached to it's inside a UV lamp. Ultraviolet radiation is a method used for several years, with different results, depending on the quality of water to process and techniques used. This work was through experimental plans, ranging up the concentration of microorganism (*Escherichia coli* or *Saccharomyces cerevisiae*) and time of exposure to UV radiation, knowing the best condition to obtain the largest inactivate the microorganisms in a reactor of 2.5L operating with a UV lamp to 30W. Experiments to test lethal dose were also made. Most inactivation, 99.96%, was obtained using a sample containing 0.01g.L⁻¹ of *Escherichia coli* cells irradiated during the 60s by UV radiation dose of an estimated 9.2 mWs.cm⁻². *Saccharomyces cerevisiae* for the greater efficiency of inactivation of 99.76% was obtained when samples of 0.01g.L⁻¹ cells 60s were treated for UV radiation. In approximately 20h after the treatment, the irradiated cells of *E. coli* presented reactivation and *S. cerevisiae* took around 72 hours to reactivate 100% of the cells.

Dedico todo este trabalho a DEUS.

Agradecimentos

O Mestrado em Engenharia de Processos foi um marco na minha vida, visto muitos acontecimentos importantes ocorridos durante o decorrer do curso. Tenho plena certeza de que não seria possível chegar ao final sem apoio de algumas pessoas, por isso os agradecimentos:

- Aos meus familiares, principalmente minha mãe dando sempre incentivo e ao meu pai, que mesmo não vendo a conclusão do curso, sei que está alegre por mim;

- Ao meu marido, que fez o Mestrado de Engenharia de Processos para me acompanhar;

- A Professora Therezinha Maria Novais de Oliveira a qual devo toda a minha experiência profissional;

- A Professora e Orientadora Elisabeth Wisbeck, pela paciência, dedicação e apoio durante toda a dissertação do Mestrado;

- Ao formando de Engenharia Ambiental, Bruno Passos pelo espírito de equipe e ajuda durante todo o processo de análises laboratoriais;

- E, especialmente a Deus, pelo amparo nos momentos mais difíceis e por estar sempre caminhando comigo.

Sumário

Resumo	ii
Abstract	iii
Sumário	vi
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	xii
Capítulo 1	
Introdução	xiv
Capítulo 2	
Revisão da Literatura	17
2.1 Água.....	17
2.1.1 Importância da água.....	17
2.1.2 Ciclo da água.....	18
2.1.3 Poluição e doenças de veiculação hídrica.....	20
2.1.4 Microrganismos indicadores da qualidade da água.....	22
2.1.4.1 Escherichia coli.....	24
2.2 Desinfecção da água.....	25
2.2.1 Desinfecção por agentes químicos.....	26
2.2.2 Desinfecção com agentes físicos.....	26
2.3 Radiação ultravioleta (UV).....	27
2.3.1 Reatores	29
2.3.2 Lâmpadas germicidas.....	30
2.3.3 Cinética de desinfecção.....	31
2.3.4 Dose de radiação.....	33

2.3.5 Limitações na utilização da radiação UV.....	36
2.3.6 Mecanismos de inativação.....	38
2.3.7 Aplicações da radiação ultravioleta.....	39
Capítulo 3	
Material e Métodos	44
3.1 Microrganismos e manutenção.....	44
3.2 Meios de cultivo.....	45
3.3 Curva de calibração para os microrganismos.....	45
3.4 Preparo das amostras.....	47
3.5 Dados do reator fotorreativo utilizado.....	48
3.6 Condições de operação.....	48
3.6.1 Tratamento das amostras.....	49
3.7 Análises.....	51
3.7.1 pH.....	51
3.7.2 Temperatura.....	51
3.7.3 Turbidez.....	51
3.7.4 Contagem de células viáveis.....	51
3.7.5 Dose de radiação.....	53
3.7.6 Inativação.....	54
3.7.7 Tratamento estatístico.....	54
Capítulo 4	
Resultados e Discussão	55
4.1 Planejamentos experimentais.....	55
4.2 Avaliação pós-tratamento.....	64
4.3 Cinética de inativação.....	67
Capítulo 5	
Conclusões	72
Referências	74
Apêndice A	
Dados experimentais.....	83
A.1 Dados para os planejamentos experimentais	83
A.1.1 Dados de Escherichia coli.....	83
A.1.2 Dados de Saccharomyces cerevisiae.....	83
A.2 Avaliação pós-tratamento.....	84
A.3 Cinética de inativação.....	84

A.4 Curva de Calibração para <i>Escherichia coli</i>	84
A.5 Curva de Calibração para <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	85

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Esquema do ciclo da água.	19
Figura 2.2 - Imagem de Escherichia coli em microscópio eletrônico de varredura.	25
Figura 2.3 - Espectro eletromagnético.	28
Figura 2.4 - Dimerização fotoquímica de duas bases timina.	39
Figura 3.5 - Saccharomyces cerevisiae vista em microscópio eletrônico de varredura.	44
A Figura 3.6 apresenta reator fotorreativo utilizado.	48
Figura 3.7 - Esquema da alimentação da amostra no reator (a) e da descarga do reator (b).	49
Figura 3.8 - Esquema de diluições e plaqueamento.	52
Figura 4.9 - Efeito do tempo de exposição à radiação UV, 30 e 60s e da concentração celular 0,01 e 0,1g/L sobre a inativação (I %) de Escherichia coli.	57
Figura 4.10 - Médias previstas para a inativação (I %) de Escherichia coli em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 30 e 60s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.	58
Figura 4.11 - Médias previstas para a inativação (I %) de Saccharomyces cerevisiae em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 30 e 60s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.	59
Figura 4.12 - Efeito do tempo de exposição à radiação UV, 60 e 120s e da concentração celular, 0,01 e 0,1g/L sobre a inativação (I %) de Escherichia coli.	61
Figura 4.13 - Médias previstas para a inativação (I %) de Escherichia coli (%) em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 60 e 120s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.	61
Figura 4.14 - Efeito do tempo de exposição à radiação UV, 60 e 120s e da concentração celular, 0,01 e 0,1g/L sobre a inativação (I %) de Saccharomyces cerevisiae.	62
Figura 4.15 - Médias previstas para a inativação (I %) de Saccharomyces cerevisiae (%) em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 60 e 120s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.	63

Figura 4.16 - Evolução do número de células viáveis de *Escherichia coli* (UFC/ml) com o tempo (h), após o tratamento da amostra por 60s de radiação UV. 65

Figura 4.17 - Evolução do número de células viáveis de *Saccharomyces cerevisiae* (UFC/ml) com o tempo (h), após o tratamento da amostra por 60s de radiação UV. 65

Figura 4.18 - Variação do número de células viáveis (UFC/mL) de *E. coli* e de *S. cerevisiae* com o tempo (s) de exposição à radiação ultravioleta. 68

Figura 4.19 - Variação logarítmica do número de células viáveis ($\ln N$) de *E. coli* e de *S. cerevisiae* com o tempo (s) de exposição à radiação ultravioleta. 69

Figura 4.20 - Variação da fração de sobrevivência de *E. coli* e de *S. cerevisiae* com a dose de radiação (Dk). 70

Figura A.21 - Curva de calibração para *Escherichia coli*. 84

Figura A.22 - Curva de calibração para *Saccharomyces cerevisiae*. 85

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 - Principais doenças de veiculação hídrica.	21
Tabela 2.2 - Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano.	24
Tabela 2.3 - Dose de radiação necessária para se obter eficiência de desinfecção de 99% de inativação de vários organismos (mWs/cm² em 254 nm).	36
Tabela 2.4 - Níveis máximos de contaminantes recomendados para o tratamento de água por radiação UV.	37
Tabela 3.5 - Planejamentos experimentais (a e b) dos experimentos variando-se o tempo de exposição (s) e a concentração celular (g/L). Os índices (-) e (+) indicam o nível de cada fator como inferior e superior, respectivamente.	50
Tabela 4.6 - Inativação (%) de <i>Escherichia coli</i> e de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 30 e 60s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L. (a) e (b) são as repetições, em duplicata, de cada experimento.	55
Tabela 4.7 - Efeitos do tempo de exposição à radiação UV e da concentração celular sobre a inativação de <i>Escherichia coli</i> e de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> calculados para o planejamento fatorial 22 com um nível mínimo de 95% de confiança, variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 30 e 60s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L.	56
Tabela 4.8 - Inativação (%) de <i>Escherichia coli</i> e de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 60 e 120s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L. (a) e (b) são as repetições, em duplicata, de cada experimento.	59
Tabela 4.9 - Efeitos do tempo de exposição à radiação UV e da concentração celular sobre a inativação de <i>Escherichia coli</i> e de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> calculados para o planejamento fatorial 22 com um nível mínimo de 95% de confiança, variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 60 e 120s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L.	59
Tabela 4.10 - Fração de sobrevivência (f(D)) e dose de radiação (Dk) obtidas através da Lei de Chick.	70

Capítulo 1

Introdução

O tratamento de água para consumo humano tem evoluído nos últimos anos em decorrência da necessidade de eliminar poluentes físico-químicos e biológicos causados pela ação antrópica. A exemplo do tratamento de água para consumo humano, os tratamentos de águas residuárias vêm evoluindo devido às leis ambientais vigentes, ao conceito de reuso adotado por empresas conscientes e principalmente devido à escassez deste recurso natural.

A água, fonte de riqueza, motivo de sobrevivência e falência para população do planeta tem sido alvo de campanhas e noticiários dos principais meios de comunicação. Notícias relacionadas aos problemas de saúde pública vinculam a água como o principal meio para a transmissão de agentes patogênicos causadores de diversas doenças como a cólera, a febre tifóide e algumas verminoses.

Atualmente existem diferentes métodos de desinfecção de água. O mais utilizado é o desinfetante químico cloro. Outros desinfetantes químicos são considerados alternativos, destacando-se o hipoclorito de sódio ou de cálcio, o ozônio ou o permanganato de potássio. Alguns agentes físicos também podem ser utilizados na desinfecção de águas, como a radiação ultravioleta (UV). A radiação ultravioleta é uma forma estabelecida e de crescente aplicação como alternativa aos agentes químicos tradicionais no processo de desinfecção de águas de abastecimento. A tendência geral de evitar substâncias químicas muito reativas no tratamento de água originou interesse neste método de desinfecção.

Vários estudos tratam do uso da radiação ultravioleta como alternativa de desinfecção de águas para consumo humano e após tratamento biológico de efluentes industriais, podendo ser utilizada como ferramenta de inibição de microrganismos que competem entre si, a fim de manter um ambiente livre de microrganismos vivos.

Muitas pesquisas foram feitas no Brasil e em outros países, buscando consolidar tecnologias e parâmetros que viabilizem o uso da radiação ultravioleta, visando a uma maior adequação e otimização do processo para a utilização eficaz deste no atendimento à população, tanto no âmbito industrial como no de saúde pública (HIRNOVEN *et al.*, 1996; TANAKA *et al.*, 1996, DENG *et al.*, 2000; SOUZA, 2000; SOUZA *et al.* 2000; DANIEL, 2001; AGUIAR *et al.*, 2002; OLIVEIRA, 2003; SÁ SILVA *et al.*, 2003; Cipriano, 2004; MONTAGNER *et al.*, 2005; AMARAL *et al.*, 2006; BILOTTA e DANIEL, 2006; WALKLING-RIBEIRO *et al.*, 2008).

Na indústria alimentícia, por exemplo, quando suco de maçã foi inoculado com *Staphylococcus aureus* e tratado por radiação ultravioleta seguido de pré-aquecimento e pulsos de campos elétricos apresentou menor quantidade de microrganismos quando comparado com o tratamento convencional de pasteurização. Na área ambiental, a degradação do inseticida dimetil 2,2,2-tricloro-1-hidroxiethylfosfato (DEP) e das substâncias ácido monocloroacético e fenol foi mais rápida quando o processo UV/TiO₂/O₃ foi utilizado.

Em experimentos de desinfecção de água a inativação dos microrganismos *Escherichia coli*, Colifagos e *Clostridium perfringens* foi de 99,976, 99,99 e > 99,99%, respectivamente. Na desinfecção de água de chuva, captada de telhado, tratada com meio filtrante composto por areia e radiação ultravioleta alcançou-se 100% de inativação dos coliformes totais presentes na amostra inicial de água de chuva.

No tratamento de efluentes domésticos, após a aplicação de diferentes doses de UV observou-se que, com uma dose superficial de 40 a 60 mWs/cm² a radiação ultravioleta alcançou resultados de remoção de coliformes acima de 4 casa logarítmicas. Verificou-se, ainda que, após o tratamento por radiação UV a 30mWs/cm², o efluente da estação insular (lodo ativado) alcançou uma qualidade microbiológica que permite sua

utilização em irrigação irrestrita de acordo com as recomendações da OMS (Organização Mundial da Saúde).

Porém, sabe-se que, se a dose de radiação UV utilizada não for letal, uma parcela dos microrganismos inativados pode ser recuperada sob irradiação de luz na faixa do visível. Além disso, a radiação UV por ser um agente mutagênico, pode provocar mutações genéticas nos microrganismos, ao invés de inativá-los. Portanto, a dose correta de UV é uma variável importante para o dimensionamento de instalações de desinfecção.

Um equipamento de desinfecção de água por radiação ultravioleta, então, para ser eficiente, necessita garantir uma dose letal. Diferentes empresas comercializam equipamentos de desinfecção de água por UV, garantindo uma dose letal de radiação. No entanto, a dose letal depende de uma série de condições físico-químicas da água, como por exemplo, grau de turbidez (< 5 NTU), sólidos em suspensão (< 10 mg/L), concentração de ferro ($< 0,3$ mg/L) e manganês ($< 0,05$ mg/L) e dureza (< 6 mg/L CaCO_3). Ainda, existe a necessidade de se estudar a eficiência de inativação de diferentes microrganismos expostos à radiação ultravioleta, em decorrência de que cada microrganismo comporta-se com maior ou menor resistência à inativação diante de diferentes doses de radiação aplicada.

Assim, este trabalho objetivou avaliar a eficiência de desinfecção de água, contendo diferentes microrganismos contaminantes, por radiação ultravioleta (UV) em reator utilizando processo em batelada.

Para tanto, avaliou-se a eficiência da desinfecção de água por UV em processo batelada, através de planejamentos fatoriais 2^2 , variando-se a concentração de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces cerevisiae* e o tempo de exposição à radiação UV, bem como, a cinética de inativação destes microrganismos. Verificou-se, ainda, se a dose de radiação UV foi letal aos microrganismos através da análise de recrescimento microbiano imediatamente após o tratamento e após 24h e 96h ao tratamento.

Capítulo 2

Revisão da Literatura

2.1 Água

A água encontra-se disponível sob várias formas e é uma das substâncias mais comuns existentes na natureza, cobrindo cerca de 70% da superfície do planeta. É encontrada principalmente no estado líquido, constituindo um recurso natural renovável por meio do ciclo hidrológico. Estima-se que a massa de água total existente no planeta seja aproximadamente igual a 265.400 trilhões de toneladas, distribuídas entre oceanos, águas subterrâneas, umidade do solo, calotas polares, geleiras, lagos, pântanos, rios e vapores na atmosfera (BRAGA, 2005).

A água constitui parte integrante do organismo humano, representando cerca de 70% da sua composição, indispensável ao desempenho de funções fisiológicas fundamentais (BRANCO, 1991).

2.1.1 Importância da água

De acordo com Derisio (2000), a água é um bem precioso, indispensável a todas as atividades humanas. A água cai da atmosfera sobre a terra aonde chega, principalmente, sob a forma de chuva ou de neve. Os córregos, rios, lagos geleiras, constituem as grandes estradas através das quais a água atinge os oceanos. Durante a sua

viagem, ela é contida pelo solo, pela vegetação e pelos animais. A água retorna à atmosfera, principalmente por evaporação e por transpiração. Ela é para o homem, para os animais e para as plantas, um elemento de primeira necessidade.

Quando utilizamos o termo "qualidade de água", é necessário compreender que esse termo não se refere, necessariamente, a um estado de pureza, mas simplesmente às características químicas, físicas e biológicas, e que, conforme essas características são estipuladas diferentes finalidades para a água (MERTEN e MINELLA, 2002). Na vida social ou industrial, os recursos hídricos são utilizados para múltiplos fins, tais como abastecimento doméstico, abastecimento industrial, irrigação, preservação de flora e fauna, recreação e lazer, geração de energia elétrica, navegação e diluição de despejos (DERISIO, 2000).

Água e saneamento constituem um dos mais sérios problemas ambientais, embora problemas dessa natureza estejam concentrados principalmente nas áreas urbanas de países mais pobres. Estima-se que cerca de 1/4 da população urbana dos países do 3º mundo não têm acesso à água potável (ROSSI-ESPAGNET *et al.*, 1991). Em decorrência do rápido crescimento da população desses países nos últimos 20 anos, o número de indivíduos não servidos por água potável e saneamento tem aumentado e não diminuído (WHO, 1996).

2.1.2Ciclo da água

As moléculas de água que evaporam dos oceanos, rios e lagos formam as nuvens. Uma vez que as nuvens ficam pesadas o suficiente pode então chover no mesmo local onde houve a evaporação ou se as nuvens forem transportadas pelos ventos pode chover em local diferente (USP, 2008). Estes processos de evaporação, transporte e precipitação (chuva ou neve) fazem parte do chamado ciclo da água, conforme Figura 2.1.

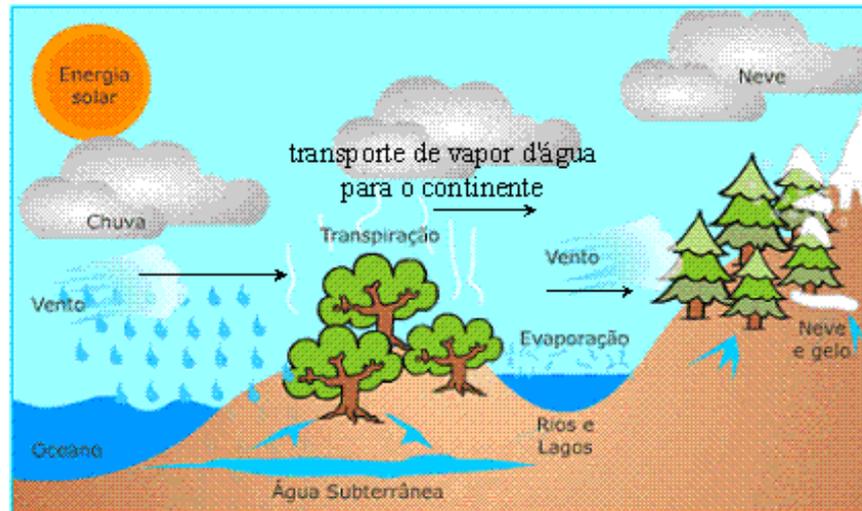


Figura 2.1 - Esquema do ciclo da água.

Fonte: USP (2008).

As águas subterrâneas também evaporam, pois estas molham o solo, que transpira. As plantas também transpiram, e assim, as nuvens também são formadas pelas moléculas de água com origem no solo e plantas. A água da chuva é percolada para o interior do solo com a ajuda das raízes das plantas, e assim vai penetrando mais e mais fundo, formando os lençóis freáticos. Sem as plantas grande parte da água escoava para os rios sem ter tempo de ser armazenada no subsolo (USP, 2008).

A urbanização acelerada em todo o planeta produz inúmeras alterações no ciclo hidrológico e aumenta enormemente as demandas para grandes volumes de água, aumentando os custos de tratamento, a necessidade de mais energia para distribuição de água e a pressão sobre os mananciais. Além de impactos produzidos pelas atividades humanas, deve-se considerar, também, que as mudanças globais em curso afetam drasticamente os recursos hídricos do planeta. Estas mudanças globais, em parte resultantes da aceleração dos ciclos biogeoquímicos e contribuição de gases de efeito estufa para a atmosfera, também poderão interferir nas características do ciclo hidrológico, afetar a temperatura das águas superficiais de lagos, rios e represas, alterar a evaporação/transpiração e produzir impactos diversos na biodiversidade. Estas mudanças poderão ter efeitos na agricultura, na distribuição da vegetação e conseqüentemente poderão alterar a quantidade e qualidade dos recursos hídricos (TUNDISI, 2003).

2.1.3 Poluição e doenças de veiculação hídrica

Com o despejo de esgoto nas águas, a quantidade de matéria orgânica aumenta intensamente. Matéria orgânica, de forma simplificada, é considerada alimento para muitas formas de seres vivos, porém, devido à taxa de reprodução de algumas espécies ser maior que a de outras, o crescimento acelerado de algumas bactérias e microrganismos leva a uma mudança brusca no pH e na diminuição do nível de oxigênio, diminuindo o número de espécies que vivem no sistema aquático (COMITÊS PCJ, 2007).

O conhecimento da possibilidade do homem em contrair doenças pela água remonta a 2000 a.C. (LEAL, 2001). No entanto, somente no século XIX a água foi reconhecida como meio de transmissão de doenças com a identificação e a classificação dos agentes patogênicos causadores de diversas doenças de veiculação hídrica como a febre tifóide (1880), a cólera (1884), a disenteria (1898) e a febre paratifóide (1900) (WHITE, 1986).

Diversas infecções têm origem na contaminação por esgotos sanitários, de mananciais de água usados para o consumo ou para recreação. Considerando que as cidades brasileiras, em sua grande maioria, são abastecidas por mananciais superficiais e que 90% dos esgotos coletados por rede coletora pública, retornam ao ambiente sem sofrer qualquer tipo de tratamento, podemos concluir que a população brasileira, está exposta a diferentes doenças de veiculação hídrica (SILVA *et al.*, 2001).

A Organização Mundial da Saúde estima que 25 % de todos os leitos hospitalares do mundo estão ocupados por pessoas com doenças veiculadas pela água. Dentre essas doenças, destacam-se as diarreias e disenterias (criptosporidiose, diarreia por *Escherichia coli*, diarreia por rotavírus, salmonelose, disenteria bacilar, giardíase, cólera, balantíase, disenteria amebiana, enterite campylobacteriana), febre tifóide e paratifóide, poliomielite, hepatite A, leptospirose, ascaridíase e tricuriase (LIMA e KOLLNBERGER, 1998).

Na Tabela 2.1 são apresentados as principais doenças de veiculação hídrica e os respectivos agentes etiológicos, sintomas usuais e fontes de contaminação. Nesta tabela não estão apresentadas as doenças como verminoses e as doenças transmitidas por insetos. Com uma rápida análise dos sintomas apresentados verifica-se que a diarreia é predominante entre os mesmo.

Tabela 2.1 - Principais doenças de veiculação hídrica.

Doença	Agente etiológico	Sintomas	Fontes de contaminação
Febres tifóide e paratifóide	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> <i>A e B</i>	Febre elevada, diarreia	Fezes humanas
Disenteria bacilar	<i>Shigella dysenteriae</i>	Diarreia	Fezes humanas
Disenteria amebiana	<i>Entamoeba histolytica</i>	Diarreia, abscessos no fígado e intestino delgado	Fezes humanas
Cólera	<i>Vibrio cholerae</i>	Diarreia e desidratação	Fezes humanas e águas costeiras
Giardíase	<i>Giardia lamblia</i>	Diarreia, náusea, indigestão, flatulência	Fezes humanas e de animais
Hepatite A e B	Vírus da hepatite A e B	Febre, icterícia	Fezes humanas
Poliomelite*	Vírus da poliomelite	Paralisia	Fezes humanas
Criptosporidiose	<i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Cryptosporidium muris</i>	Diarreia, anorexia, dor intestinal, náusea, indigestão, flatulência	Fezes humanas e de animais
Gastroenterite	<i>Escherichia coli</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , Rotavírus e outros vírus entéricos.	Diarreia	Fezes humanas

* Enfermidade erradicada no Brasil

Fonte: DANIEL (2001).

2.1.4 Microrganismos indicadores da qualidade da água

Os microrganismos presentes nas águas naturais são, em sua maioria, inofensivos à saúde humana. No entanto, devido à contaminação por esgoto sanitário, estão presentes microrganismos que podem ser prejudiciais. Os microrganismos patogênicos incluem bactérias, protozoários, helmintos e vírus (SOUZA e DANIEL, 2005).

Este fato leva à necessidade da utilização de microrganismos indicadores de possíveis microrganismos patogênicos presentes na água analisada. No Brasil, a prática de controle microbiológico de qualidade da água de consumo se fundamenta no controle da presença de bactérias do grupo coliformes. A bactéria *Escherichia coli* é usualmente empregada como microrganismo indicador de contaminação fecal. Parte-se do pressuposto de que, dadas as características dos coliformes, sua ausência nas águas de abastecimento, sobretudo dos coliformes fecais, significaria uma garantia sanitária de segurança microbiológica da água em termos de saúde pública (DANIEL, 2001).

No entanto, embora de grande praticidade, o teste dos coliformes não garante a ausência de outros patogênicos na água, mais resistentes que as bactérias. Por esse motivo, é conveniente que sejam feitos exames para detectar outros microrganismos indicadores que possam representar o comportamento de vírus, bactérias esporuladas e cistos de protozoários diante dos desinfetantes. Atualmente, o potencial patogênico da água de consumo vem sendo dirigido a outras bactérias, como *Campylobacter* e *Aeromonas*, e a protozoários, como *Giardia* e *Cryptosporidium*, além de diversos de tipos de vírus (ROSE, 1990).

Segundo Braga (2005) os coliformes fecais são escolhidos como indicadores da presença potencial de organismos patogênicos de origem fecal na água porque:

- I. existem em grande número na matéria fecal e não existem em nenhum outro tipo de matéria orgânica poluente; por conseguinte, são indicadores específicos de matéria fecal;
- II. algumas bactérias pertencentes ao grupo (*Escherichia coli*, por exemplo) não se reproduzem na água ou no solo, mas exclusivamente no interior do intestino (ou em meios de cultura especiais a temperatura adequada); portanto, só são encontradas na água quando nela for introduzida matéria fecal;

III. apresentam resistência ao meio (luz, oxigênio, ao cloro e a outros agentes destruidores de bactérias) comparável ao que é apresentado pelos principais patógenos intestinais que podem ser veiculados pelas águas; dessa maneira, reduz-se a possibilidade de existirem patógenos fecais quando já não se encontram coliformes; e

IV. sua caracterização e quantificação são realizadas por métodos relativamente simples. As bactérias do grupo coliforme são as únicas capazes de fermentar lactose, produzindo gás e resíduos na presença de bile (que é um componente normal do intestino). Desse modo, se a água a ser testada for submetida a várias diluições e essas forem semeadas sucessivamente em tubos, a formação de gás caracterizará a presença de bactérias.

Em relação a outros indicadores, *Clostridium perfringens* são organismos anaeróbios formadores de esporos e normalmente estão presentes nas fezes embora que em menor número que a *Escherichia coli*. Não são exclusivamente de origem fecal e podem ser encontrados em outras fontes ambientais. Seus esporos podem sobreviver na água por muito mais tempo do que os organismos do grupo coliforme e são bastante resistentes a desinfecção. Devido a sua persistência na água, são importantes indicadores de contaminação, porém não são recomendados como indicadores fecais, nem para monitoramento de rotina em sistemas de tratamento de distribuição de água (SOUZA, 2006).

Os colifagos são vírus que hospedam a bactéria, a infectam e se replicam em cepas hospedeiras de *E. coli* e parecem estar sempre presentes na amostra em estudo na qual a *E. coli* é isolada. Por essa razão, podem servir também como indicadores de poluição de origem fecal (DANIEL, 2001).

A Portaria Nº 518 do Ministério da Saúde de 25 de março de 2004 (ANVISA, 2004) estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A Tabela 2.2 apresenta o padrão de potabilidade da água para consumo humano do Cap. IV, Art. 11, da referida Portaria.

Tabela 2.2 - Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano.

Parâmetro	VMP(1)
<i>Água para consumo humano(2)</i>	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes (3)	Ausência em 100mL
<i>Água na saída do tratamento</i>	
Coliformes totais	Ausência em 100mL
<i>Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede)</i>	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes(3)	Ausência em 100mL
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: ausência em 100mL em 95% das amostras examinadas no mês. Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100mL.

(1) Valor Máximo Permitido.

(2) água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes, dentre outras.

(3) a detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

Fonte: ANVISA (2004).

2.1.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa da família Enterobacteriaceae. É anaeróbia facultativa na forma de bastonetes, conforme mostra a Figura 2.2 (BASTOS, 2000).

Do ponto de vista médico, os bastonetes Gram-negativos anaeróbios facultativos são um grupo muito importante de bactérias. Muitos deles causam doenças do trato gastrointestinal e de outros órgãos. *Escherichia coli* é provavelmente o organismo mais familiar da microbiologia. Pode ser uma causa comum de infecções do trato urinário, e certas linhagens produzem enterotoxinas que comumente causam diarreia e ocasionalmente várias doenças graves de origem alimentar (TORTORA, 2000).

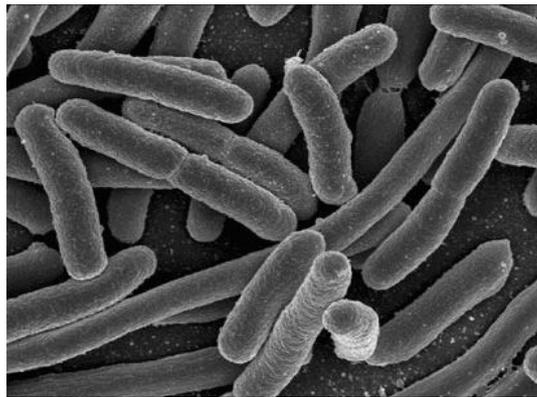


Figura 2.2 - Imagem de *Escherichia coli* em microscópio eletrônico de varredura.

Fonte: Fundação Oswaldo Cruz (2008).

As cepas enteroemorrágicas de *Escherichia coli* são bem conhecidas nos Estados Unidos como causa de vários surtos de doenças associados a ingestão de hambúrguer mal cozido ou leite cru. Estes microrganismos produzem toxinas, que são responsáveis pela colite hemorrágica, uma inflamação do cólon com sangramento. O mais conhecido e consistentemente, mais virulento, patógeno deste grupo é o sorotipo de *Escherichia coli*. Ele é um habitante ocasional dos tratos intestinais de animais, especialmente o gado, onde não tem efeito patogênico (TORTORA, 2000).

Escherichia coli é utilizada como indicador de poluição porque é um habitante normal do trato intestinal humano. Se estiver presente na água, indica que está contaminada com material fecal e, portanto, poluída e imprópria para consumo (PELCZAR *et al.*, 1996).

2.2Desinfecção da água

A desinfecção da água consiste no processo de purificação da mesma por meio do emprego de um agente físico ou químico, cuja finalidade é a inativação dos microrganismos patogênicos, tais como bactérias, fungos, protozoários e vírus, que são os agentes transmissores de doenças que podem infectar, direta ou indiretamente, o homem (BABBIT *et al.*, 1973; DANIEL, 2001). Os métodos mais utilizados para desinfecção de água para obter-se água potável são a desinfecção por agentes químicos e por agentes físicos.

2.2.1 Desinfecção por agentes químicos

O desinfetante químico mais utilizado na desinfecção para produção de água potável é o cloro (Cl_2), líquido ou gasoso. O cloro tem sido empregado como desinfetante primário na maioria das estações que trata água superficial ou subterrânea, tanto como pré-desinfetante como pós-desinfetante. Outros desinfetantes químicos são considerados alternativos, destacando-se o hipoclorito de sódio ou de cálcio, o ozônio (O_3), o dióxido de cloro, o permanganato de potássio, a mistura ozônio/peróxido de hidrogênio, o íon ferrato e outros agentes em fase de pesquisa e desenvolvimento, como sais de prata, sais de cobre, detergentes, etc. (SILVA *et al.*, 2003).

No entanto, a partir da década de 70, verificou-se uma elevada incidência de vários tipos de cancro (especialmente da bexiga e cólon) em populações que consumiam água tratada com cloro, dando origem a diversos estudos que mostram que o cloro e os seus subprodutos podiam ser tóxicos para a vida aquática e ter efeitos negativos na qualidade da água. De fato, a presença de determinados subprodutos, nomeadamente os trihalometanos, é devida a reações químicas do cloro com compostos orgânicos presentes na massa líquida (SILVA *et al.*, 2003).

2.2.2 Desinfecção com agentes físicos

Podem ser citados como agentes físicos na desinfecção de águas a fotocatalise heterogênea, uma das inúmeras opções relacionadas aos processos oxidativos avançados (POA) na desinfecção de águas, principalmente destinadas ao consumo humano, da radiação solar e da irradiação com luz de baixo comprimento de onda, ou seja, radiação ultravioleta (UV) (DANIEL, 2001).

É sabido, por exemplo, que a maioria dos processos biológicos utilizados no tratamento de esgotos não apresenta uma eficiência de remoção de patógenos que possibilite o enquadramento dos corpos receptores, após o recebimento dos esgotos tratados, aos padrões estabelecidos pela legislação ambiental. Dessa forma, a desinfecção por radiação ultravioleta apresenta-se como alternativa para o pós-tratamento desses efluentes, podendo alcançar elevadas eficiências na inativação de microorganismos patogênicos, reduzindo ou até eliminando danos à saúde pública (ALVES, 2003).

A desinfecção por meio da radiação ultravioleta é bastante antiga, porém, somente a partir da década de quarenta é que se tem notícia de sua aplicação para desinfecção de águas destinadas ao consumo humano (DI BERNARDO, 1993).

2.3 Radiação ultravioleta (UV)

A fonte primária de radiação ultravioleta é o sol, mas também pode ser emitida por lâmpadas incandescentes e fluorescentes, solda elétrica, maçarico de plasma e equipamentos a laser. A absorção da radiação de comprimento de onda UV pelo ozônio da atmosfera protege a vida na terra. Mesmo assim, os raios ultravioletas que atingem a superfície da terra têm energia suficiente para inativar os microorganismos menos resistentes (DANIEL, 1993).

A radiação ultravioleta é uma forma estabelecida, bastante estudada e utilizada e de crescente aplicação como alternativa aos agentes químicos tradicionais no processo de desinfecção de águas de abastecimento (MASSCHELEIN, 2002).

O efeito germicida desse tipo de energia foi reportado pela primeira vez por Downs e Blunt, em 1878 (GOLIMOWSKI e GOLIMOWSKI, 1996). No entanto, sanado os problemas de confiabilidade de equipamento e de tecnologia, e por tornar-se competitivo economicamente se comparado à cloração, as primeiras instalações de desinfecção com radiação ultravioleta ocorreram em 1955 na Suíça e na Áustria e em 1985, ambos os países contavam com aproximadamente 500 e 600 instalações, respectivamente (WRIGTH e CAIRNES, 1998). No Brasil as pesquisas foram iniciadas em 1977, tendo por objetivo a desinfecção de esgotos (CAMPOS e PIZZIRANI, 1977, DANIEL, 1993).

A radiação ultravioleta pertence ao espectro eletromagnético e está situada na faixa de 100 a 400nm de comprimento de onda, entre os raios X e a luz visível (Figura 2.3).

Raios cósmicos	Raios gama	Raios X	UV	Luz visível	Infravermelho	Microondas	Ondas radiais
----------------	------------	---------	----	-------------	---------------	------------	---------------

100nm → 400nm

Figura 2.3 - Espectro eletromagnético.

Fonte: WRIGHT e CAIRNS, 1998.

A subdivisão da faixa de radiação ultravioleta entre os vários valores de comprimento de onda é (WRIGHT e CAIRNS, 1998):

- . UV vácuo – 40 a 200nm
- . UV C – 200 a 280nm
- . UV B – 280 a 315nm
- . UV A – 315 a 400nm

Harm (1980) afirma que a absorção máxima de radiação ultravioleta ocorre em 260nm. Já, para Bolton (2000), o comprimento de onda de maior efeito bactericida é o de 254nm, estando, ambas na faixa do UV C. O intervalo de comprimento de onda compreendido entre 245 e 285nm é considerado a faixa germicida ótima para a inativação de microrganismos.

Segundo DANIEL (2001), normalmente, a radiação ultravioleta utilizada para a inativação de microrganismos, é obtida por lâmpadas de vapor de mercúrio ionizado, de baixa e média pressão e com diversos valores de potência. A interação da radiação luminosa com as moléculas é chamada de fotólise, que provoca uma ruptura das ligações químicas, fragmentando-as. A luz é composta por fótons, cuja energia, “E”, é inversamente proporcional ao comprimento de onda (λ), da luz (Equação 2.1).

$$E = \frac{hC}{\lambda} \quad (2.1)$$

Onde h: constante de Planck (6,026 x 10⁻³⁴ Js);

C: velocidade da luz (m/s);

λ : comprimento de onda (m).

Se a absorção de um fóton por uma molécula promover a fotólise, o fóton deve ter energia suficiente e superior para romper uma ligação específica ou várias ligações entre os átomos que compõem a molécula. Esse fenômeno está relacionado, na maioria das vezes, a comprimentos de onda na região do espectro ultravioleta. Compostos que absorvem radiação ultravioleta e apresentam alto rendimento quântico de fotólise são susceptíveis à fotodegradação (DANIEL, 2001).

2.3.1 Reatores

Os reatores fotoquímicos, ou câmaras de reação, disponíveis para sistemas de desinfecção, podem apresentar diferentes configurações quanto à sua geometria e posicionamento da fonte luminosa. As câmaras fotoquímicas comumente utilizadas na desinfecção de efluentes podem ser classificadas segundo o posicionamento da lâmpada (emersa ou imersa no meio líquido) e a orientação da lâmpada (horizontal ou vertical, isto é, paralela ou perpendicularmente ao fluxo líquido). Na configuração horizontal, a fonte luminosa é ordenada paralelamente à direção do fluxo líquido, em relação ao seu eixo, e no modo vertical, perpendicularmente ao fluxo. A câmara de água ou reator deve ser projetada de tal forma que assegure que todos os microrganismos recebam uma dose suficiente de exposição à luz ultravioleta (BILOTTA, 2006).

Quando os reatores não são bem projetados, visando esse padrão, alguns raios ultravioletas sofrem o que se chama “curto-circuito”, ou seja, micróbios passam pela câmara sem receber dose suficiente de luz ultravioleta (TARRÁN, 2008).

Segundo Downey *et al.* (1998) um reator de mistura completa seria indesejável para desinfecção UV. Sob este tipo de condição de fluxo, um volume do líquido pode entrar no reator e em uma pequena fração de tempo sair do sistema sem receber a dose adequada de UV, enquanto outras parcelas do líquido podem permanecer no reator por períodos de tempo muito mais longos. Um projeto desejável para reatores UV convencionais é o que trabalha com o fluxo em pistão, o que permite que cada elemento do líquido resida no reator pelo mesmo período de tempo. No fluxo em pistão todas as partículas ao se moverem através do reator recebem uma dose equivalente de radiação em todos os pontos.

Para um reator cilíndrico a intensidade UV varia de ponto a ponto no reator, mas se a água estiver bem misturada radialmente e não longitudinalmente (nunca alcançado em reator real) enquanto corre através do reator (comportamento ideal do fluxo em pistão), com o tempo todos os elementos do volume recebem a mesma dose média de UV. Entretanto, se a mistura não for eficiente, alguns elementos do volume da água recebem uma dose baixa e outros uma mais elevada. Assim, algumas bactérias ou vírus podem não receber uma dose suficiente para causar sua completa inativação e após a passagem através do reator serem capazes de se reproduzir (BOLTON, 2000).

2.3.2 Lâmpadas germicidas

As fontes artificiais mais comuns de radiação ultravioleta são as lâmpadas de arco de mercúrio, que consistem em um bulbo hermético de sílica ou quartzo (ambos transmissores de radiação ultravioleta), com as extremidades dotadas de eletrodos de tungstênio com uma mistura de terra alcalina que facilita a formação de arco dentro da lâmpada. No interior do tubo é introduzida uma pequena quantidade de mercúrio e gás inerte, geralmente o argônio. A diferença de potencial entre os eletrodos produz a excitação dos átomos de mercúrio que, ao retornarem ao estado de menor energia, emitem radiação ultravioleta (DANIEL, 2001).

As lâmpadas de baixa pressão de vapor de mercúrio emitem a maior parte da radiação no comprimento de onda de 253,7nm, mais de 95% do total de emissão de raios ultravioleta está no comprimento de onda de 253,7 nm, enquanto as lâmpadas de média pressão de vapor de mercúrio emitem energia em comprimento de onda na faixa de 180 a 1370nm. A potência das lâmpadas de média pressão é muito maior que a das de baixa pressão, cuja potência de vapor está entre 15 e 65W. Nessas lâmpadas, aproximadamente 70% de toda a potência emitida é de raios ultravioleta (DANIEL, 2001).

A principal diferença entre a lâmpada germicida e a fluorescente é que a germicida é construída com quartzo, ao passo que a fluorescente é com vidro, com camada interna de fósforo que converte a luz UV para luz visível. Colisões entre elétrons e átomos de mercúrio provocam emissões de radiação ultravioleta, que não é visível ao

olho humano. Quando esses raios colidem com o fósforo, eles "fluorescem" e se convertem em luz visível. O tubo de quartzo transmite 93 % dos raios UV da lâmpada enquanto que o vidro representa um escudo contra a radiação UV, por permitir uma transmissão mínima da radiação (TECHNOLAMP, 2007).

2.3.3 Cinética de desinfecção

Segundo DANIEL (1993) a forma simples de relação dose-sobrevivência é estabelecida quando a cada aumento de dose reduz-se o número de unidades biológicas sobreviventes de uma população por um fator constante, conforme a lei cinética de Chick (Equação 2.2).

$$\frac{dN}{dt} = -kIN \quad (2.2)$$

Integrando a Equação 2.2 temos a Equação 2.3.

$$\ln \frac{N}{N_0} = -kIt \quad (2.3)$$

Onde:

N_0 e N = Número inicial de células viáveis (N_0) e número de células viáveis após a irradiação (N), respectivamente (UFC/mL);

k = constante de inativação para cinética de 1ª ordem (cm^2/mWs);

I = Intensidade de radiação (mW/cm^2);

t = tempo de exposição à radiação UV (s).

A equação é a expressão teórica padrão que permite prever a sobrevivência de microrganismos irradiados com ultravioleta. Esta equação tem como hipóteses básicas que (HARM, 1980):

- a absorção da radiação ultravioleta pelo meio em suspensão é desprezível. Considera-se que a intensidade desta radiação é constante em toda a extensão da camada líquida e que o regime de escoamento é a pistão ou a câmara de desinfecção opera como um reator em batelada;
- Uma única lesão é suficiente para inativar o microrganismo;
- O número de lesões produzidas no volume alvo é diretamente proporcional a dose aplicada e sua distribuição entre os microrganismos é aleatória;
- A população é homogênea em relação à sensibilidade dos microrganismos pela radiação ultravioleta.

As condições impostas para a validação da equação não são satisfeitas em sistemas reais. O desvio do regime em relação ao escoamento a pistão ideal, a absorção da radiação pelo meio, no qual se encontram os microrganismos, e a diversidade de espécies impõem a necessidade de se corrigir esta equação.

MOROWITZ, apud DANIEL (1993) considerando o efeito da absorção, substituiu a intensidade de radiação ultravioleta, I , na equação por um valor médio calculado a partir da lei de Lambert (Equação 2.4):

$$N = (N_0) \exp\{-ktI_0[1 - \exp(-a_e L)] / a_e L\} \quad (2.4)$$

Onde:

I_0 = intensidade de radiação na superfície irradiada (mW / cm²)

I_m = intensidade média de radiação na lâmina líquida de espessura L (mW / cm²);

a_e = coeficiente de extinção (base e) (cm⁻¹);

L = espessura da lâmina líquida (cm).

2.3.4 Dose de radiação

A dose de radiação UV necessária para inativar organismos patogênicos é semelhante àquela necessária para promover o mesmo efeito nas bactérias usualmente utilizadas como indicadores de qualidade da água. Assim, para a inativação de patogênicos, as doses de radiação ultravioleta necessárias, usadas como parâmetro para o grupo coliforme, podem ser mais efetivas do que a cloração no processo de desinfecção (SCHABAN *et al.*, 1997).

A dose de radiação ultravioleta é o produto da intensidade de radiação pelo tempo de exposição, apresentada na Equação 2.5. De acordo com a Equação 2.5, ressalta-se que a inativação de um número fixo de microrganismos pode ser alcançada em curto intervalo de tempo e alta intensidade ou em tempo longo e baixa intensidade, ou seja, a dose é mantida constante.

$$D = It \quad (2.5)$$

Onde:

D = dose de radiação ultravioleta (mW.s / cm²);

I = intensidade de radiação (mW / cm²);

t = tempo de exposição (s).

A fração de sobrevivência é dada pela Equação 2.6:

$$\frac{N}{N_0} = f(D) \quad (2.6)$$

Onde:

$f(D)$ = função da dose.

As duas equações sugerem que a intensidade e o tempo de exposição podem ser variados reciprocamente para obtenção de uma mesma fração de sobrevivência (QUALLS e JOHNSON, 1985).

A intensidade de radiação pode ser determinada por radiometria ou por actinometria. A utilização de radiometria exige que sejam feitas medições em diferentes pontos do reator, para se obter a intensidade média. O equipamento é provido de sensor específico para o comprimento de onda de interesse, normalmente 254nm. O método actinométrico utiliza-se de reações fotoquímicas para avaliar a intensidade de radiação. Os produtos químicos utilizados são padronizados, conhecendo-se o rendimento quântico, ou seja, a quantidade de produto formado por quantidade de radiação absorvida (mol de produto/Einstein) sendo que 1 Einstein é igual a 1 mol de fótons. É aplicável a reatores pequenos, de preferência em batelada ou sem escoamento, por motivos operacionais e econômicos. O ferrioxalato de potássio é o actinômetro de uso mais comum (HARRIS *et al.*, 1987).

Há também a possibilidade de utilização de bioensaios, em que se adiciona à água concentração conhecida de microrganismos desenvolvidos em cultura pura, com resposta conhecida à radiação ultravioleta. Conhecendo-se o tempo de exposição e as concentrações de microrganismos viáveis antes e depois da irradiação, é possível calcular qual a dose recebida (CHERCHINARO *et al.*, 2001).

Em reatores contínuos, uma partícula pode ser submetida a várias intensidades de radiação durante o período de exposição.

A dose que uma partícula recebe durante um pequeno intervalo de tempo é $I.dt$ e para o período total considerado é dada pela Equação 2.7.

$$Dose_w = \int_0^t I.dt \quad (2.7)$$

Os limites dessa integral são t , como limite de tempo máximo de exposição, e zero, como limite mínimo, que corresponde ao início da desinfecção. O índice w refere-se à fração de distribuição de intensidades médias no tempo de exposição. A intensidade média a qual a partícula é submetida em relação ao período de exposição é definida pela Equação 2.8.

$$I_w = \frac{1}{t} \int_0^t I dt \quad (2.8)$$

Então, pelas Equações 2.5, 2.6 e 2.8, a dose recebida por uma partícula é:

$$Dose_w = I_w t \quad (2.9)$$

Ou seja, a dose que uma partícula é submetida pode ser expressa pela média da variação da intensidade durante o tempo de exposição, multiplicada pelo tempo que a partícula permanece dentro do reator, então, a Equação 2.9 é uma consequência de efeitos recíprocos bem estabelecidos da intensidade e do tempo de exposição (QUALLS e JOHNSON, 1985).

A energia específica necessária para alcançar a destruição total ou parcial dos microrganismos varia de acordo com a qualidade físico-química da água a ser tratada e da sensibilidade dos organismos à radiação UV. A resistência dos microrganismos à radiação ultravioleta varia bastante. Os microrganismos têm sido classificados na seguinte ordem de resistência à desinfecção por UV: Bactéria < vírus < fungos < esporos < cistos (BURCH e THOMAS, 1998).

A Tabela 2.3 apresenta a dose de radiação ultravioleta (mWs/cm²) requerida para destruir 99% de diferentes microrganismos.

Tabela 2.3 - Dose de radiação necessária para se obter eficiência de desinfecção de 99% de inativação de vários organismos (mWs/cm² em 254 nm).

Microrganismo	Dose de Radiação (mWs/cm²)	Microrganismo	Dose de Radiação (mWs/cm²)
Bactérias		Esporos	
<i>Bacillus anthracis</i>	8,7	<i>Aspergillus flavus</i>	99,0
<i>B. subtilis</i> (esporos)	22,0	<i>Aspergillus niger</i>	330,0
<i>B. subtilis</i> (vegetativo)	11,0	<i>Mucor racemosus A</i>	35,2
<i>Clostridium tetani</i>	22,0	<i>Mucor racemosus B</i>	35,2
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	6,5	<i>Oospora lactis</i>	11,0
<i>Escherichia coli</i>	6,6	<i>Penicillium digitatum</i>	88,0
<i>Legionella pneumophila</i>	2,8	<i>Penicillium expansum</i>	22,0
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	26,4	<i>Penicillium roqueforti</i>	26,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10,0	<i>Rhizopus nigricans</i>	220,0
<i>Salmonella enteritidis</i>	7,6	Fungos	
<i>Sarcina lutea</i>	10,5	Fungos de pão	8,8
<i>Shigella dysenteriae</i> (disenteria)	4,2	Fungos de cerveja	6,6
<i>Shigella flexneri</i> (paradysenteriae)	3,4	Fungos comuns de bolo	13,2
<i>Shigella sonnei</i>	5,0	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,6	<i>Saccharomyces sp.</i>	17,6
<i>Vibrio cholerae</i>	6,5	Algas/Protozoários	
Vírus		<i>Verde-Azul</i>	600,0
<i>Vírus influenza</i>	6,6	<i>Chlorella vulgaris</i> (alga)	22,0
<i>Vírus da pliomelitis</i>	14,0	<i>Cryptosporidium parvum</i>	120,0
<i>Rotavírus</i>	15,0 – 40,0	Ovos de nematóides	92,0
		<i>Paramecium</i>	200,0

Fonte: Modificada de Edstrom Industries (2003) e Wright e Cairns (1998).

2.3.5 Limitações na utilização da radiação UV

Segundo recomendações da Edstrom Industries Inc. (2003) alguns fatores que devem ser considerados para uma desinfecção com UV na água estão apresentados na Tabela 2.4. Estes fatores estão relacionados principalmente com a exposição dos contaminantes na água e a transmissão eficiente de UV para uma ativação adequada. Os problemas incluem o sombreamento em que os contaminantes pequenos são ofuscados

por outros contaminantes presentes na água, incrustação ou descoloração do tubo de quartzo, intensidade da lâmpada e fluxos inadequados (TECHNOLAMP, 2007).

Tabela 2.4 - Níveis máximos de contaminantes recomendados para o tratamento de água por radiação UV.

Contaminantes	Nível máximo recomendado
Turbidez	5 NTU
Sólidos suspensos	10mg/L
Cor	Nenhum*
Ferro	0,3mg/L
Manganês	0,05 mg/L
pH	6,5 – 9,5
Dureza	< que 6mg/L CaCO ₃

* A cor da água não afeta a desinfecção por UV.

Fonte: Edstrom Industries Inc. (2003).

Um problema real associado ao uso de fotorreatores no tratamento de esgoto, por exemplo, é a baixa penetração de luz devido ao alto teor de material orgânico, o que acarreta um comprometimento da eficiência deste processo. Tal problema tem sido apontado como o mais forte argumento contra a implantação e uso da radiação ultravioleta no tratamento destes efluentes. Entretanto, o recente desenvolvimento de novas tecnologias, voltadas para o tratamento de esgotos, tem resultado em substancial diminuição de resíduos orgânicos contidos nos efluentes (VON SPERLING, 1996).

A penetração da luz na água é dificultada por partículas em suspensão, matéria orgânica e inorgânica que provocam a difusão e absorção da luz. O parâmetro turbidez é o resultado deste fenômeno. Substâncias como metais, agrotóxicos e organismos patogênicos podem estar adsorvidos às partículas argilosas e comprometer, desde a limpidez da água para consumo humano, até a qualidade do produto final em uma indústria (LAURENTI, 1997).

No entanto, segundo Cherchinaro *et al.* (2001) fatores físico-químicos como pH, temperatura, alcalinidade e carbono inorgânico não afetam a inativação de microrganismos por radiação ultravioleta.

A desinfecção com UV é mais efetiva para águas com turbidez de pequeno valor, devido à necessidade de penetração da luz no meio, portanto a qualidade da água a ser tratada é um importante fator na utilização deste processo. Se a dose de radiação UV utilizada não for letal, uma parcela dos microrganismos inativados pode ser recuperada sob irradiação de luz na faixa do visível. Portanto, a dose correta de UV é uma variável importante para o dimensionamento de instalações de desinfecção (DANIEL, 2001).

Ao longo de seu processo evolutivo, os microrganismos desenvolveram mecanismos bioquímicos próprios capazes de regenerar células lesadas quando fornecida energia particularmente entre 310 e 490nm. O fenômeno descoberto por Kelner e Dulbecco em 1949 é conhecido como fotorreativação. O processo pode apresentar algumas variações dependendo da estrutura bioquímica atingida e do grau de comprometimento da lesão sofrida (PELCZAR *et al.*, 1996).

2.3.6 Mecanismos de inativação

O mecanismo de desinfecção por UV ocorre devido à absorção da radiação pelas proteínas e pelos ácidos nucleicos RNA e DNA. A absorção de altas doses de UV pelas proteínas presentes nas membranas celulares leva ao rompimento dessas membranas e, conseqüentemente, à morte da célula. Porém, a absorção de pequenas doses de radiação ultravioleta pelo DNA pode interromper a habilidade do microrganismo de se reproduzir, impedindo-o de contaminar o meio (SKOOG *et al.*, 1994).

Os raios ultravioleta são absorvidos por algumas moléculas presentes no DNA, como as purinas e as pirimidinas, que se tornam mais reativa. A absorção máxima de UV pelo DNA ocorre em 260nm, sugerindo que a inativação pela radiação é mediada pela absorção direta de purinas e pirimidinas pelas moléculas, levando à formação de dímeros e hidratos. A absorção de radiação ultravioleta por bases nitrogenadas adjacentes pode resultar na formação de dímeros, como citosina-citosina, adenina-adenina e timina-timina. A timina, por ter a estrutura mais simples das bases nitrogenadas, é a que apresenta maior formação de dímeros, os quais mudam a estrutura do DNA impedindo a reprodução do microrganismo. Esse é o mecanismo fundamental da desinfecção UV. A Figura 2.4 apresenta este mecanismo (DANIEL, 2001).

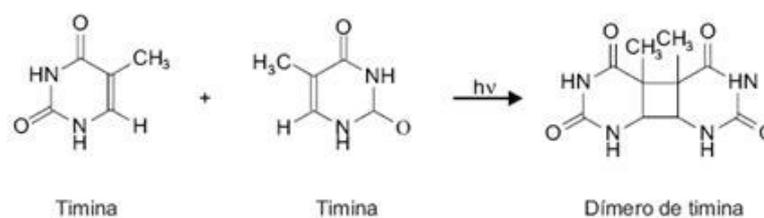


Figura 2.4 - Dimerização fotoquímica de duas bases timina.

Fonte: DANIEL (2001).

O DNA é um polímero de ácido nucléico, constituído por uma seqüência de quatro bases nitrogenadas (adenina, citosina, guanina e timina) que constituem o código genético. Essas bases formam as chamadas bases emparelhadas (por exemplo, adenina com timina e citosina com guanina), ligadas por pontes de hidrogênio. São essas ligações que fazem com que as duas fitas do DNA permaneçam ligadas. Essa estrutura do DNA é conhecida como dupla hélice (PELCZAR *et al.*, 1996).

2.3.7 Aplicações da radiação ultravioleta

Muitas pesquisas foram feitas no Brasil e em outros países, buscando consolidar tecnologias e parâmetros que viabilizem o uso da fotocatalise, visando a uma maior adequação e otimização do processo para a utilização eficaz deste no atendimento à população, tanto no âmbito industrial como no de saúde pública (DANIEL, 2001).

Na área da indústria alimentícia, por exemplo, o trabalho de Walkling-Ribeiro *et al.* (2008) mostrou que quando suco de maçã foi inoculado com *Staphylococcus aureus* (SST 2.4) e tratado por radiação ultravioleta seguido de pré-aquecimento e pulsos de campos elétricos apresentou menor quantidade de microrganismos quando comparado com o tratamento convencional de pasteurização.

Na área ambiental um estudo realizado com processos oxidativos avançados UV/TiO₂/O₃, UV/O₃ e UV/TiO₂ na degradação do inseticida dimetil 2,2,2-tricloro-1-hidroxietilfosfato (DEP) e das substâncias ácido monocloroacético e fenol, concluíram que o processo UV/TiO₂/O₃ foi o mais rápido para degradar e para eliminar o carbono orgânico total das respectivas soluções (TANAKA *et al.*, 1996).

Hirvonen *et al.* (1996) também fizeram uma comparação entre dois métodos oxidativos avançados (UV/H₂O₂, O₃/H₂O₂) para redução de tricloroetileno (TCE) e tetracloroetileno (PCE), compostos contaminantes que têm sido detectados em água potável. Os pesquisadores comprovaram que utilizando os processos oxidativos avançados ocorre um alto nível de redução dos compostos TCE (96%) e PCE (92%) pelo método O₃/H₂O₂, TCE (98%) e PCE (93%) pelo método UV/H₂O₂.

Durante o processo fotocatalítico, a geração de espécies oxidantes diminui o tempo de vida da bactéria, portanto é preciso determinar o tempo necessário para completar a reação de desinfecção da água, além de verificar se não ocorre recrescimento microbiano após o término do processo. Durante a inibição de *E. coli*, por exemplo, após 24 horas à desinfecção ocorreu crescimento bacteriano, o qual foi mais acentuado na fotólise que na fotocatalise heterogênea na combinação UV/TiO₂ (MONTAGNER *et al.*, 2005).

Sá Silva *et al.* (2003) ao avaliarem a radiação ultravioleta no controle de microrganismos (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* k12) aderidos em filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) utilizaram uma intensidade de radiação ultravioleta de 196 μW/cm² a 254 nm, durante 2 segundos. Concluíram que a radiação UV é uma técnica útil na redução da microbiota aderida à superfície de filmes de PEBD.

Métodos para a remoção da cor das águas de rejeito têm recebido enorme atenção nos últimos anos. As principais técnicas disponíveis na literatura para descoloração das águas de rejeito envolvem principalmente processos de adsorção, precipitação, degradação química, eletroquímica e fotoquímica, biodegradação e outros. Porém, o método de degradação, baseado em reações fotoquímicas, tem se mostrado importante como etapa primária na degradação de alguns corantes, uma vez que os corantes sintéticos apresentam, em princípio, alta estabilidade quando submetidos à luz visível ou ultravioleta (GUARATINI e ZANONI, 2000).

Deng *et al.* (2000) buscando o aumento na eficiência dos processos de remediação estudaram a descoloração de uma série de corantes em solução aquosa, utilizando a associação entre tratamentos com Fe^0 e com radiação UV. Os experimentos foram conduzidos em diferentes condições: emprego de UV de forma isolada e combinação dos métodos (UV/ Fe^0). Os resultados obtidos mostraram que a descoloração fotoquímica (UV) não foi significativa, com degradações inferiores a 5%. Entretanto, a combinação entre Fe^0 e o processo com UV apresentou um efeito sinérgico significativo, aumentando a eficiência na descoloração dos diferentes corantes em até 10%.

Souza *et al.* (2000) realizaram experimentos de desinfecção de água contendo como indicador a bactéria *Escherichia coli* em concentrações conhecidas e concluíram que a desinfecção com radiação ultravioleta é afetada principalmente pela presença de partículas em suspensão e substâncias químicas dissolvidas (compostos orgânicos e inorgânicos) que interferem na transmissão da luz ultravioleta. Provavelmente essas partículas dificultam a incidência da luz UV nos microrganismos. Isso pode ser explicado pelo fato de que essas partículas e substâncias encontram-se muitas vezes entre a fonte de emissão de radiação e os microrganismos, ou ainda agregadas às mesmas, formando uma espécie de “barreira” que diminui a eficiência da desinfecção. Nos experimentos utilizando água com cor de 5,0 uC e turbidez de 2,0 uT, 99,99 de *E. coli* foram inativadas em 20s. Já, para o experimento com cor de 20uC e turbidez de 50uT este tempo aumentou para 120s e os autores obtiveram 99,97% de inativação da *E. coli*.

Souza (2000) fez uma comparação da eficiência da radiação ultravioleta na inativação de *E. coli*, Colifagos e *Clostridium perfringens* utilizando uma água com turbidez de 2 NTU e verificou que com doses de 2,46, 9,84 e 19,68 mWs/cm² a eficiência (%) para *E. coli*, Colifagos e *Clostridium perfringens* foi de 99,976, 99,99 e > 99,99%, respectivamente. No entanto, quando utilizou água com 50 UNT de turbidez e doses de 3,48, 6,96 e 10,44 mWs/cm² as eficiências foram de 53,27, 92,5 e 99,7% para *E.coli*, colifagos e *Clostridium perfringens*, respectivamente.

Experimentos realizados por Bilotta e Daniel (2006) com *E. coli*, mostraram que há pouca diferença na eficiência de inativação proporcionada pela radiação ultravioleta mesmo com a influência de sólidos suspensos totais (SST). Utilizando amostras com 21 mg/L e com 135mg/L de SST, a eficiência de inativação foi de 100% e 99,0%, respectivamente, após 120s de tempo de contato.

Aguiar *et al.* (2002) avaliou a aplicação de um sistema baseado no emprego de radiação ultravioleta (UV) na desinfecção de águas com cor e turbidez moderadas. Realizaram-se ensaios em regime de bateladas, em um reator de 2 L de volume, empregando-se dois tipos de água sintética contaminadas com *Escherichia coli* proveniente de cepa isolada de água, em concentrações de 10^2 a 10^7 NMP/100mL e submetidas à exposição UV por tempos de contato de 1, 3 e 5 minutos. Os ensaios realizados resultaram em inativação completa dos microrganismos nos ensaios com tempos de contato iguais a 3 e 5 minutos.

Oliveira (2003) realizou um trabalho que teve como objetivo avaliar a capacidade de desinfecção da radiação ultravioleta em efluentes domésticos. Foram avaliadas as remoções de Coliformes totais, *Escherichia coli*, ovos de helmintos e cistos de protozoários. Na realização dos ensaios utilizou-se um colimador UV e um reator UV de lâmpadas emersas. Após a aplicação de doses UV que variaram de 10 a 100mWs/cm² observou-se que, com uma dose superficial de 40 a 60 mWs/cm² a radiação ultravioleta alcançou resultados de remoção de coliformes acima de 4 casa logarítmicas. Observou-se que a eficiência de inativação foi insignificante nos ensaios com ovos de helmintos (*Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*) utilizando-se doses de até 100mWs/cm². Segundo o autor, após o tratamento por radiação UV a 30mWs/cm², o efluente da estação insular (lodo ativado) alcançou uma qualidade microbiológica que permite sua utilização em irrigação irrestrita de acordo com as recomendações da OMS (Organização Mundial da Saúde).

No trabalho de Cipriano (2004) água de chuva, captada de telhado, foi tratada utilizando-se um sistema com meio filtrante composto por areia e após um tratamento por radiação ultravioleta em reator. O autor reporta que após a passagem da água pelo meio filtrante, aplicando uma dose de 1200mWs/cm², alcançou 100% de inativação dos coliforme totais presentes na amostra inicial de água de chuva.

Amaral *et al.* (2006) avaliaram a eficiência da exposição à radiação ultravioleta solar (natural) na desinfecção de água. Amostras de água de poços rasos foram acondicionadas em garrafas “PET” (poli-tereftalato de etileno) de 2 L e expostas ao sol por 2, 5 e 12 horas. Antes e após a exposição das amostras à radiação solar, foi determinada a quantidade de coliformes totais, *Escherichia coli* e microrganismos mesófilos, através do método NMP (número mais provável). Foi avaliado, ainda, se havia recrescimento bacteriano após 72h da exposição ao sol em amostras protegidas da ação da luz solar. Os resultados obtidos evidenciaram que a radiação solar foi eficaz na desinfecção da água com reduções, após 12h de exposição, de 98,2%, 99,9% e 100% nos números de microrganismos mesófilos, coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Foi verificada, também, a ausência de recrescimento de todos os microrganismos pesquisados. Os autores sugerem que a exposição à radiação ultravioleta solar da água de consumo humano, acondicionada em garrafas “PET” pode ser utilizada para diminuir o risco de enfermidades de veiculação hídrica.

Capítulo 3

Material e Métodos

3.1 Microrganismos e manutenção

Os microrganismos utilizados nos experimento foram a bactéria *Escherichia coli* CCT 1371 obtida da Coleção de Culturas Tropicais da Fundação “André Toselo” (Campinas – SP) e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* de panificação (comercial).

Escherichia coli foi utilizada por ser um microrganismo indicador de qualidade de água vastamente estudado. Já, *Saccharomyces cerevisiae* foi escolhida por ser de fácil aquisição e por necessitar maior dosagem de UV (13,2 mWs/cm²), para inativar 99% de células (Tabela 2.3), que a bactéria *E. coli* que necessita apenas a metade desta dose (6,6mWs/cm²). A Figura 3.5 mostra células de *S. cerevisiae*.

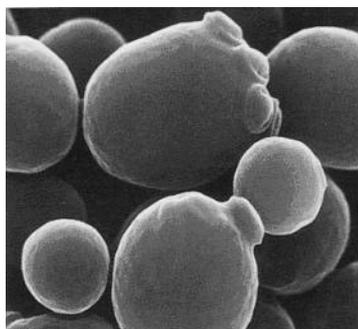


Figura 3.5 - *Saccharomyces cerevisiae* vista em microscópio eletrônico de varredura.

Fonte: BR-Business (2008).

Escherichia coli foi mantida em meio NA (“Nutrient Agar”) e *S. cerevisiae* em meio YMA (“Yeast Malt Agar”), a 4°C e os repiques foram realizados mensalmente.

3.2 Meios de cultivo

Para a manutenção e a contagem de células viáveis de *E. coli* o meio NA (5,0 g/L de peptona; 3,0 g/L de extrato de carne e 15 g/L de agar) foi utilizado e para a manutenção e a contagem de células viáveis de *S. cerevisiae* o meio utilizado foi o YMA (3,0 g/L de extrato de levedura, 3,0 g/L de extrato de malte, 5,0 g/L de peptona; 10,0 g/L de glicose e 15 g/L de ágar).

Para a produção dos microrganismos em meio líquido os mesmos meios, NA e YMA, foram utilizados, sem a adição de ágar. Assim o meio NA foi chamado de NB (“Nutriente Broth”) e o meio YMA de YM (“Yeast Malt”).

3.3 Curva de calibração para os microrganismos

Escherichia coli foi cultivada em frascos Erlenmeyer de 250mL contendo 100mL de meio NB, esterilizados a 121°C por 15 minutos, e incubadas estaticamente por 24 horas a 37°C. *Saccharomyces cerevisiae* foi cultivada em frasco Erlenmeyer de 250mL contendo 100mL de meio YM e incubada estaticamente a 30°C por 24 horas.

40 mL de cada cultura foram coletados em tubo Falcon e centrifugados (centrífuga Sigma 4K10, rotor nº 12.166) por 5 minutos a 12000 min⁻¹. O sobrenadante foi desprezado e as células lavadas e centrifugadas novamente com água destilada. As células foram ressuspensas em água destilada e transferidas para cadinhos de porcelana, previamente secos em estufa a 90°C e pesados em balança analítica até massa constante. Os cadinhos contendo a massas celulares foram secos por 24h a 90°C. Após este período, os cadinhos foram colocados em dessecador contendo cristais de sílica, por 20 minutos, para resfriamento. Foram, então, pesados em balança analítica e recolocados na estufa, sendo esta operação repetida até a obtenção de massa constante (WISBECK, 1995).

Uma vez conhecidos o volume e a massa de células, esta última obtida pela Equação 3.10, determinou-se a concentração celular na suspensão original em g/L. Este procedimento foi realizado em duplicata.

$$C = \frac{Mc - Mv}{V} \quad (3.10)$$

Onde:

C – concentração celular (g/L)

Mc – massa do cadinho com células (g)

Mv – massa do cadinho vazio (g)

V – volume de meio de cultura utilizado (L).

Em paralelo foi executada a medida da absorbância de suspensões celulares em diferentes diluições, a fim de encontrar uma relação entre estes valores e as respectivas concentrações celulares. O procedimento foi:

- . mediu-se o valor da absorbância de cada suspensão original a 460nm;
- . a partir da suspensão original foram preparadas diluições de 1:10, 2:10, 3:10, ... até 9:10;
- . a absorbância (460nm) de cada diluição foi medida.

Com base nas absorbâncias das diluições e na concentração celular já conhecida da suspensão original, foi construída uma curva de calibração, relacionando a absorbância com a concentração celular, e definida uma equação matemática que a descrevesse (WISBECK,1995), que é do tipo reta (Equação 3.11):

$$abs = aC + b \quad (3.11)$$

Onde :

abs – absorbância (460nm)

C – concentração celular (g/L)

a – coeficiente angular da reta

b – coeficiente linear da reta.

No apêndice 1 são apresentadas as curvas de calibração para *E. coli* e *S. cerevisiae*.

3.4 Preparo das amostras

Os microrganismos foram cultivados nas condições descritas na Seção 3.3. Para a obtenção da concentração inicial de *E. coli* e *S. cerevisiae* utilizou-se a Equação 3.11. O valor da absorbância (460nm) da cultura de células, após 24 horas, foi utilizado na Equação 3.11 e encontrou-se o valor da concentração celular.

De posse desta informação, utilizou-se a Equação 3.12 para realizar a diluição necessária e obter-se a concentração desejada (0,01 e 0,1g/L). A concentração de 0,01g/L foi definida de acordo com a literatura (EDSTROM INDUSTRIES INC., 2003, DANIEL, 2001) que diz que para obter-se maior eficiência de inativação em reatores com radiação ultravioleta a concentração dos sólidos em suspensão deve ser de até 10mg/L. Considerando que nas amostras as células sejam as únicas partículas na água, a concentração máxima de microrganismos, viáveis ou não, deve ser, então, de aproximadamente 0,01g/L. A concentração de 0,1g/L, 10 vezes maior, foi utilizada para avaliar a eficiência do reator em situação extrema.

$$D = \frac{C_i}{C_f} \quad (3.12)$$

Onde:

D – diluição

C_i – concentração celular inicial (g/L)

C_f – concentração celular final (g/L).

Após a realização da diluição, para obtenção de 3L de amostra, novamente mediu-se a absorbância (460nm) e este valor foi substituído na Equação 3.11 para verificação da concentração alcançada. Uma vez tendo-se a amostra na concentração desejada o valor do pH foi medido. Uma fração desta amostra foi utilizada para a contagem do número inicial de células viáveis (N_0) em UFC (Unidade Formadora de Colônia).

3.5 Dados do reator fotorreativo utilizado

Volume: 2,5L

Reator em aço inoxidável 316 modelo UV-0136-02.

Potência da lâmpada UV: 30W (uma lâmpada submersa)

Comprimento da câmara: 90cm

Diâmetro da câmara: 7,6cm

Diâmetro das conexões de entrada e saída: 3,8cm

Dosagem máxima de UV emitida: 30.000 mWs/cm²

Vazão: até 2L/h.

A Figura 3.6 apresenta reator fotorreativo utilizado.



Figura 3.2 – Reator fotorreativo em aço inox utilizado nos experimentos.

3.6 Condições de operação

O reator utilizado foi projetado para operar em regime contínuo, no entanto, por tratar-se de estudos iniciais sobre a eficiência de desinfecção de águas por UV neste reator, optou-se operar em regime batelada.

O volume (3L) de amostra, preparada conforme Seção 3.4 foi acondicionado em frasco Duran de 5L, previamente esterilizado a 121°C por 20 minutos. Com o auxílio de uma bomba peristáltica a amostra foi transferida para o interior do reator, sendo que as mangueiras da bomba haviam sido tratadas assepticamente com etanol 70%.

Após preencher o reator com a amostra, a lâmpada UV foi ligada por 30, 60 ou 120 segundos, dependendo do experimento. Após o tempo de exposição, a luz foi desligada e toda a amostra contida no reator foi retirada em condições assépticas utilizando-se chama junto à mangueira de saída do reator sendo que o recipiente coletor estava previamente esterilizado. A amostra foi homogeneizada e uma fração foi utilizada para a contagem do número de células viáveis (N) em UFC (Unidade Formadora de Colônia). A Figura 3.7 mostra um esquema da alimentação e descarga do reator.

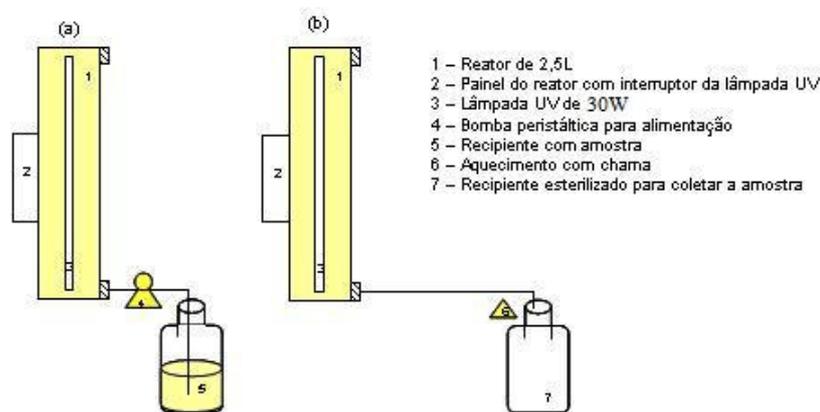


Figura 3.7 - Esquema da alimentação da amostra no reator (a) e da descarga do reator (b).

3.6.1 Tratamento das amostras

As amostras foram tratadas por radiação ultravioleta (UV) segundo planejamentos experimentais (a) e (b), utilizando-se dois fatores (variáveis) em dois níveis (2^2), apresentados na Tabela 3.5. Os planejamentos experimentais foram elaborados segundo Barros Neto *et al.* (1996). Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Tabela 3.5 - Planejamentos experimentais (a e b) dos experimentos variando-se o tempo de exposição (s) e a concentração celular (g/L). Os índices (-) e (+) indicam o nível de cada fator como inferior e superior, respectivamente.

(a)	Fatores	Níveis	
	Tempo de exposição (s)	- 30	+ 60
	Concentração celular (g/L)	0,01	0,1
	Experimentos	Tempo	Concentração celular
	01	-	-
	02	-	+
	03	+	-
	04	+	+

(b)	Fatores	Níveis	
	Tempo de exposição (s)	- 60	+ 120
	Concentração celular (g/L)	0,01	0,1
	Experimentos	Tempo	Concentração celular
	01	-	-
	02	-	+
	03	+	-
	04	+	+

Após a definição da condição ideal para obtenção de maior percentual de inativação das células em menor tempo, esta condição foi utilizada nos experimentos para avaliar se a dose foi letal. Estes experimentos consistiram na análise de amostras de água contendo *E. coli* ou *S. cerevisiae* imediatamente após o tempo de exposição à radiação UV e após 24 e 96h à exposição.

Para tanto, amostras de água tratada foram armazenadas em garrafas de Durán de 250mL (100mL por garrafa). As garrafas foram esterilizadas previamente. Estas amostras foram protegidas da luz solar e mantidas em temperatura ambiente por 24 e 96h.

O número inicial de células viáveis e o número de células viáveis após o tratamento, bem como o número de células das amostras estocadas, foram obtidos conforme Seção 3.7.4.

3.7 Análises

As análises de ferro, manganês e dureza, interferentes no tratamento de água por radiação UV (Tabela 2.4), não foram realizadas, uma vez que as amostras foram preparadas em laboratório a partir de água destilada. O valor de sólidos suspensos foi considerado o próprio valor de concentração celular, já que nas amostras os únicos sólidos em suspensão eram os microrganismos adicionados.

3.7.1 pH

O valor do pH das amostras nas concentrações de 0,01 e 0,1 g/L de *E. coli* e de *S. cerevisiae*, preparadas conforme descrito no Seção 3.4, foi medido em pHmetro de bancada imediatamente após o preparo das referidas amostras.

3.7.2 Temperatura

A temperatura das amostras nas concentrações de 0,01 e 0,1 g/L de *E. coli* e de *S. cerevisiae*, preparadas conforme descrito no Seção 3.4, foi medida através de termômetro de mercúrio (0-100°C) antes da sua introdução no reator.

3.7.3 Turbidez

A turbidez é uma propriedade óptica da amostra, que resulta da absorção e refração da luz pelas partículas da amostra. A leitura da turbidez depende do tamanho, forma, cor e propriedades refrativas das partículas. A turbidez inicial foi medida através do método de leitura automática (auto-range) por um turbidímetro modelo 2100P – HACH, em unidades nefelométricas de turbidez (NTU).

3.7.4 Contagem de células viáveis

O número inicial de células viáveis (N_0) das amostras antes da exposição à radiação UV e o número de células viáveis (N) das amostras após a exposição à radiação UV foram obtidos pelo método de contagem em placa de células viáveis (SIQUEIRA, 1995).

Em tubo de ensaio contendo 9mL de solução salina (0,9%) foi adicionado 1 mL de amostra (diluição 1:10 ou 10^{-1}); do tubo de diluição 10^{-1} , tomou-se 1 mL da amostra e transferiu-se para um novo tubo de ensaio com 9 mL de solução salina esterilizada (diluição 1:100 ou 10^{-2}) e assim sucessivamente até diluição 10^{-4} (Figura 3.8).

Após realizadas as diluições, retirou-se 0,1 mL de cada uma das diluições inoculando, em duplicata, placas de Petri contendo meios de cultivo, adequados a cada microrganismo, conforme descrito na Seção 3.2. A inoculação foi feita com alça de Drigalsky (plaqueamento em superfície) em câmara de fluxo laminar, a fim de manter o ambiente livre de contaminações.

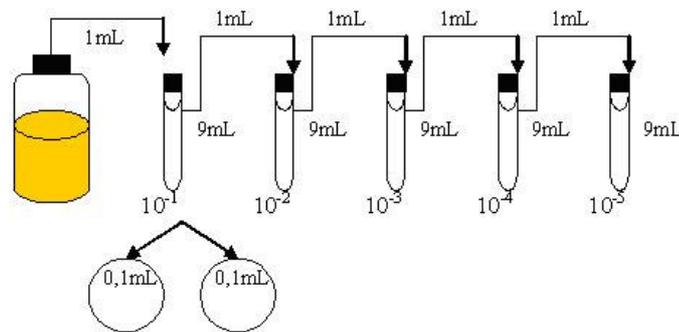


Figura 3.8 – Esquema de diluições e plaqueamento.

As placas inoculadas ficaram 24 horas em estufa a 37°C para *E. coli* e a 30°C para *S. cerevisiae* e a contagem de colônias de cada placa foi realizada. Para fins estatísticos, placas contendo entre 30 e 300 colônias, foram consideradas para o cálculo de UFC (Unidade Formadora de Colônia)/mL. O cálculo de UFC/mL foi realizado conforme Equação 3.13.

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{N \times d}{V} \quad (3.13)$$

Onde:

UFC – Unidade Formadora de Colônia

N – número de colônias na placa considerada

d – diluição da placa considerada

V – volume de amostra inoculada (0,1mL).

Após o tratamento da água com UV e contagem das células viáveis, foram separados em três frascos Duran de 250mL, previamente esterilizados, 300mL de amostra, 100mL em cada frasco. Os frascos foram armazenados em local arejado à temperatura ambiente e a após 24 e 96h a contagem de células viáveis foi realizada. Este experimento foi realizado a fim de confirmar a inativação das células após o tratamento com radiação UV, com a condição (concentração celular e tempo de exposição) considerada ideal, proveniente dos planejamentos experimentais.

3.7.5 Dose de radiação

A dose de radiação ultravioleta é o produto da intensidade de radiação pelo tempo de exposição, segundo Equação 3.14 (DANIEL *et al.*, 2001).

$$D = I.t \quad (3.14)$$

Onde:

D - dose de radiação ultravioleta (mWs/cm²)

I - intensidade de radiação (mW/cm²)

t - tempo de exposição à UV (s).

A dose de radiação, neste trabalho, foi estimada através de bioensaios, em que se adicionou à água concentração conhecida de *E. coli* ou de *S. cerevisiae* em cultura pura. Conhecendo-se os tempos de exposição à radiação UV (10, 20, 30, 40, 50 e 60s) e o número de células viáveis antes e após a irradiação, foi possível calcular qual a dose recebida em função de *k*, de acordo com a Equação 3.15 (Lei cinética de Chick), considerando as hipóteses básicas propostas por Harm (1980).

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k.I.t \quad (3.15)$$

Onde:

N_0 e N = Número inicial de células viáveis (N_0) e número de células viáveis após a irradiação (N), respectivamente (UFC/mL)

k = constante de inativação para cinética de 1ª ordem (cm²/mWs)

I = Intensidade de radiação (mW/ cm²)

t = tempo de exposição à radiação UV (s)

A fração de sobrevivência é dada pela Equação 3.16.

$$f(D) = \frac{N}{N_0} \quad (3.16)$$

Onde:

$f(D)$ = função da dose.

3.7.6 Inativação

Os percentuais de inativação dos microrganismos foram calculados de acordo com a Equação 3.17.

$$\text{Inativação}(\%) = \frac{N_0 - N}{N_0} \times 100 \quad (3.17)$$

3.7.7 Tratamento estatístico

Para a análise estatística dos resultados obtidos do planejamento experimental foi utilizada a análise de Pareto (BARROS NETO *et al.*, 1996), através do “software STATISTICA 7.0®”, que permite identificar e quantificar o efeito de cada um dos fatores e de suas interações nos experimentos realizados.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

4.1 Planejamentos experimentais

Os resultados de inativação de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces cerevisiae* obtidos no primeiro planejamento experimental (Tabela 3.5a), variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 30 e 60s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L estão apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 – Inativação (%) de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces cerevisiae* variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 30 e 60s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L. (a) e (b) são as repetições, em duplicata, de cada experimento.

Ensaio	Tempo de exposição (s)	Concentração celular (g/L)	Turbidez <i>E.coli</i> / <i>S.cerevisiae</i> (NTU)	Inativação de <i>Escherichia coli</i> (%)		Inativação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	
				(a)	(b)	(a)	(b)
1	30	0,01	0,8 / 13,0	99,620	99,580	99,040	98,810
2	30	0,1	5,0 / 25,0	89,750	89,870	95,860	95,400
3	60	0,01	0,8 / 13,0	99,955	99,957	99,770	99,750
4	60	0,1	5,0 / 25,0	99,933	99,934	96,420	96,640

Com os dados da Tabela 4.6 foram calculados os resultados apresentados na Tabela 4.7 que correspondem aos efeitos das variáveis sobre a inativação.

Tabela 4.7 - Efeitos do tempo de exposição à radiação UV e da concentração celular sobre a inativação de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces cerevisiae* calculados para o planejamento fatorial 2^2 com um nível mínimo de 95% de confiança, variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 30 e 60s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L.

Variáveis	Efeito \pm erro padrão	
	Inativação (%) <i>Escherichia coli</i>	Inativação (%) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
1. Tempo de exposição à UV (s)	5,23975* \pm 0,031628	0,86750* \pm 0,139933
2. Concentração celular (g/L)	-4,90625* \pm 0,031628	-3,26250* \pm 0,139933
Interação entre 1 e 2.	4,88375* \pm 0,031628	0,03250 \pm 0,139933

*Efeito significativo.

Um efeito negativo expressa que o valor da variável aumenta na direção do nível inferior e um efeito positivo que o valor da variável aumenta na direção do nível superior.

Com respeito ao tempo de exposição (s) de *E. coli* à radiação UV verifica-se, de acordo com a Tabela 4.7, que este apresentou influência positiva sobre a inativação, ou seja, o tempo de 60s foi mais efetivo que o de 30s. Já a concentração celular apresentou efeito negativo, sendo a concentração de 0,01g/L de células mais facilmente inativada. Observa-se, ainda, que o tempo de exposição apresentou um efeito mais significativo (5,23975 %) que o da concentração celular (4,90625 %). A inativação de *E. coli* sofreu, ainda, influência significativa, dos dois fatores simultaneamente. A Figura 4.9 apresenta o efeito do tempo de exposição à UV e da concentração celular sobre a inativação de *E. coli*, obtidos a partir dos dados apresentados na Tabela 4.6.

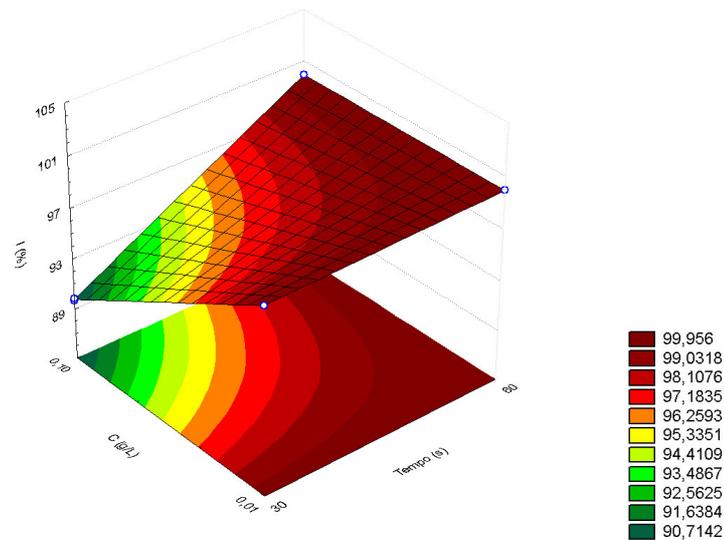


Figura 4.9 - Efeito do tempo de exposição à radiação UV, 30 e 60s e da concentração celular 0,01 e 0,1g/L sobre a inativação (I %) de *Escherichia coli*.

Analisando-se a Figura 4.9 verifica-se que os valores mais elevados de inativação, em torno de 100%, foram alcançados tanto com concentração de 0,01 quanto de 0,1 g/L, no entanto, em concentração menor, este percentual estende-se para qualquer valor de tempo, dentro da faixa estudada. Estes resultados estão de acordo com a análise estatística de Pareto (Tabela 4.7), que mostra que a concentração celular tem influência negativa sobre a inativação da *E. coli*, enquanto o tempo de exposição tem efeito positivo.

A Figura 4.10 mostra uma comparação de médias para a inativação de *E. coli* quando da interação entre o tempo de exposição à UV e a concentração celular. Verifica-se que quando o tempo de exposição à radiação UV aumentou de 30 para 60s promoveu um aumento na inativação que foi muito mais sentido na concentração de 0,1g/L que na concentração de 0,01g/L.

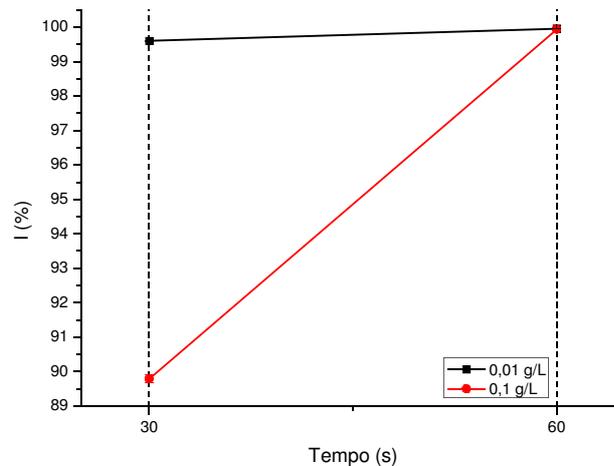


Figura 4.10 - Médias previstas para a inativação (I %) de *Escherichia coli* em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 30 e 60s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.

Com respeito à influência do tempo de exposição (s) à radiação UV de *S. cerevisiae* verifica-se, de acordo com a Tabela 4.7, um comportamento similar ao da *E. coli*, ou seja, o tempo de 60s inativou mais células que o de 30s e a concentração celular de 0,01g/L foi mais facilmente inativada. Porém, ao contrário do observado para *E. coli*, no caso de *S. cerevisiae* o efeito da concentração celular (3,26250 %) foi maior que o efeito do tempo (0,86750 %). Isto pode ser melhor observado na Figura 4.11 onde observa-se que quando o tempo de exposição à radiação UV aumentou de 30 para 60s houve um aumento na inativação de *S. cerevisiae* tanto em concentração 0,01g/L quanto 0,1g/L, no entanto, com a concentração menor, obteve-se maiores percentuais de inativação.

Os resultados deste planejamento mostram, sem dúvida, que o tempo de 60s, foi melhor para o processo de inativação de *E. coli* e de *S. cerevisiae* tanto para a concentração de 0,01g/L quanto para 0,1g/L.

Com base no exposto, um novo planejamento experimental foi realizado, conforme mostrado na Tabela 3.5b e os resultados gerais obtidos, variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 60 e 120s e mantendo-se a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L, estão apresentados na Tabela 4.8.

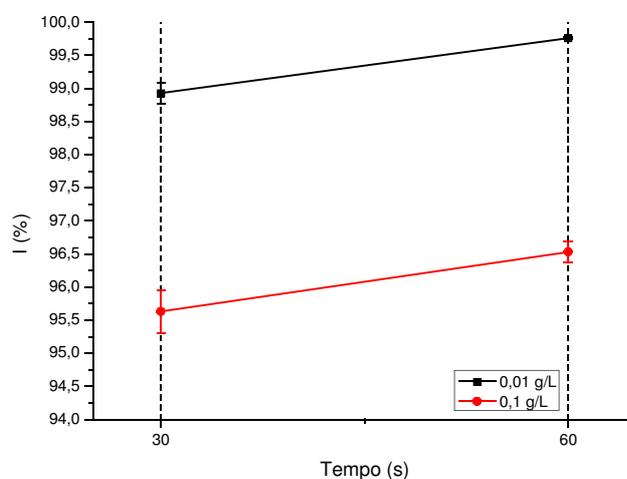


Figura 4.11 - Médias previstas para a inativação (I %) de *Saccharomyces cerevisiae* em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 30 e 60s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.

Tabela 4.8 – Inativação (%) de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces cerevisiae* variando-se o tempo de exposição à radiação UV em 60 e 120s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L. (a) e (b) são as repetições, em duplicata, de cada experimento.

Ensaio	Tempo de exposição (s)	Concentração celular (g/L)	Turbidez <i>E.coli</i> / <i>S.cerevisiae</i> (NTU)	Inativação de <i>Escherichia coli</i> (%)		Inativação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	
				(a)	(b)	(a)	(b)
1	60	0,01	0,8 / 13,0	99,955	99,957	99,77	99,75
2	60	0,1	5,0 / 25,0	99,934	99,933	96,42	96,64
3	120	0,01	0,8 / 13,0	99,94	99,94	99,76	99,77
4	120	0,1	5,0 / 25,0	99,63	99,70	99,60	99,60

Com os dados da Tabela 4.8 foram calculados os resultados apresentados na Tabela 4.9 que correspondem aos efeitos das variáveis sobre a inativação.

Tabela 4.9 - Efeitos do tempo de exposição à radiação UV e da concentração celular sobre a inativação de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces cerevisiae* calculados para o planejamento fatorial 2^2 com um nível mínimo de 95% de confiança, variando-se o

tempo de exposição à radiação UV em 60 e 120s e a concentração celular em 0,01 e 0,1 g/L.

Variáveis	Efeito \pm erro padrão	
	Inativação (%) <i>Escherichia coli</i>	Inativação (%) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
1. Tempo de exposição à UV (s)	-0,14225* \pm 0,017509	1,53750* \pm 0,055283
2. Concentração celular (g/L)	-0,14875* \pm 0,017509	-1,69750* \pm 0,055283
Interação entre 1 e 2.	-0,12625* \pm 0,017509	1,53250* \pm 0,055283

*Efeito significativo.

De acordo com a Tabela 4.9, verifica-se que todas as variáveis apresentaram efeito significativo para *E. coli* e *S. cerevisiae*. Com relação à *E. coli*, o tempo de exposição apresentou influência negativa sobre a inativação, ou seja, apesar do tempo de 120s ser maior, 60s foi mais efetivo. Da mesma forma, a concentração celular apresentou efeito negativo, sendo a concentração de 0,01g/L de células mais facilmente inativada. A interação do tempo de exposição e da concentração também apresentou efeito sobre a inativação de *E. coli*. A Figura 4.12 apresenta o efeito interativo do tempo de exposição à UV e da concentração celular e a Figura 4.13 a comparação de médias para a inativação de *E. coli*. Ambas mostram que a melhor condição de operação do reator tende para tempo de exposição à radiação de 60s para uma concentração celular de 0,01g/L.

A Figura 4.12 apresenta mais detalhadamente que em concentração baixa (0,01g/L) a inativação é praticamente constante para qualquer tempo de exposição testado e que em tempos menores, a inativação é praticamente constante para qualquer concentração avaliada. Assim, verifica-se que há uma interação entre os dois fatores, como já mostrado na Tabela 4.9. A Figura 4.13 mostra que quando o tempo de exposição aumentou de 60 para 120s na concentração de 0,01g/L praticamente não observa-se efeito, no entanto, para concentração maior (0,1g/L) a inativação cai de 99,93% para 99,67%.

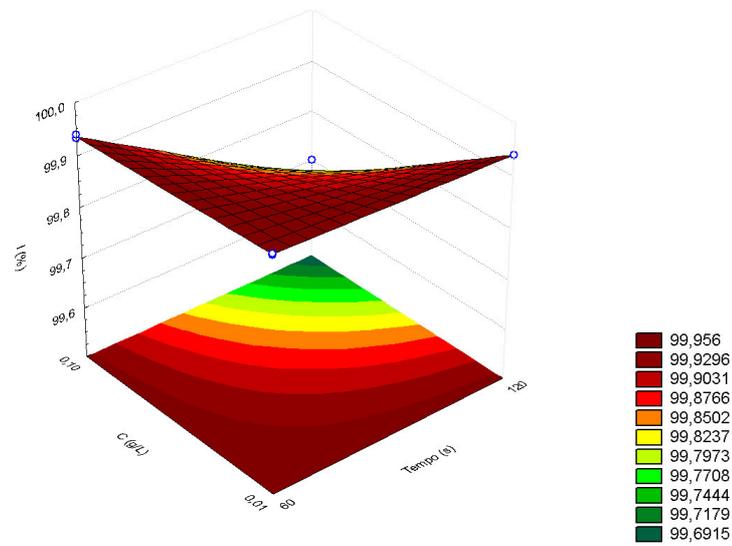


Figura 4.12 - Efeito do tempo de exposição à radiação UV, 60 e 120s e da concentração celular, 0,01 e 0,1g/L sobre a inativação (I %) de *Escherichia coli*.

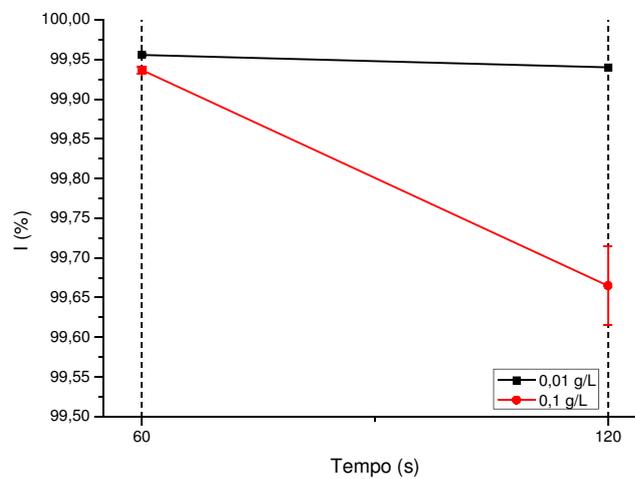


Figura 4.13 - Médias previstas para a inativação (I %) de *Escherichia coli* (%) em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 60 e 120s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.

Com respeito à influência do tempo de exposição à radiação UV sobre

S. cerevisiae verifica-se, de acordo com a Tabela 4.9, que este apresentou efeito positivo sobre a inativação enquanto a concentração celular apresentou um efeito negativo. A Tabela 4.9 mostra, ainda, que a inativação sofreu efeito interativo das duas variáveis. A Figura 4.14 detalha o efeito de interação, pois mostra que em concentração baixa (0,01g/L) a inativação é praticamente constante para qualquer tempo de exposição testado e que em tempos maiores (120s), a inativação é praticamente constante para qualquer concentração avaliada.

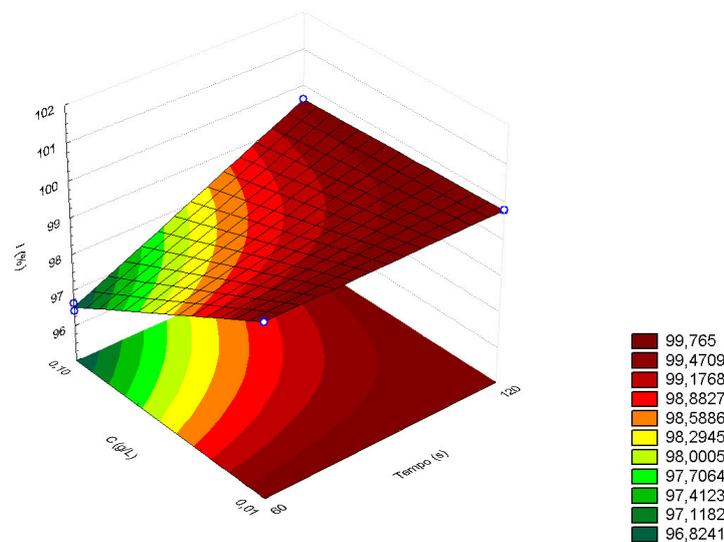


Figura 4.14 - Efeito do tempo de exposição à radiação UV, 60 e 120s e da concentração celular, 0,01 e 0,1g/L sobre a inativação (I %) de *Saccharomyces cerevisiae*.

Assim, para escolher qual o melhor tempo de exposição e melhor concentração celular para a inativação de *S. cerevisiae* e dar continuidade aos trabalhos foi construída a Figura 4.15 que mostra que, independentemente do tempo, a concentração de 0,01g/L de células apresentou inativação constante, sugerindo que um tempo maior de exposição (120s) não influencia a inativação das células nesta concentração. No entanto, com concentração maior de células (0,1g/L), para chegar a valores de inativação similares aos encontrados com concentração menor, um maior tempo (120s) de exposição à radiação UV foi exigido. Portanto, os resultados mostram que uma concentração de células de 0,01g/L com tempo de exposição de 60s é suficiente para obter-se os maiores percentuais de inativação (99,76%).

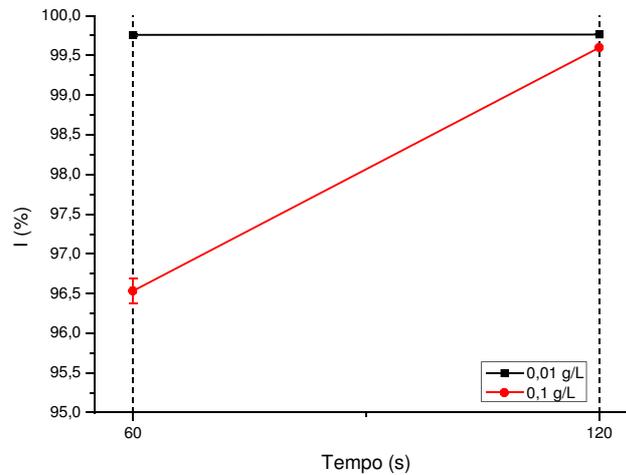


Figura 4.15 - Médias previstas para a inativação (I %) de *Saccharomyces cerevisiae* (%) em resposta a interação dos fatores tempo de exposição à UV, 60 e 120s e concentração celular, 0,01 e 0,1g/L.

As Tabelas 4.6 e 4.8, mostram, ainda, os valores de turbidez (NTU) obtidos para as concentrações de 0,01g/L (0,8 NTU) e de 0,1g/L (5,0 NTU) de *E. coli* e de 13 e 25NTU para as concentrações de *S.cerevisiae* de 0,01 e 0,1g/L, respectivamente. Segundo recomendações da Edstrom Industries Inc. (2003) para uma maior eficiência no tratamento de água por radiação UV esta deve apresentar no máximo um valor de turbidez de 5NTU e de sólidos suspensos de 10mg/L. Provavelmente essas partículas dificultam a incidência da luz UV nos microrganismos (SOUZA *et al.*, 2000).

Neste trabalho, para *E. coli*, um valor máximo de 5NTU foi utilizado para a concentração de 0,1g/L correspondente a 100mg/L de sólidos em suspensão, concentração 10 vezes maior que a máxima sugerida. Verificou-se que nesta concentração foi necessário um maior tempo de exposição à radiação (60s) para obter-se um valor de inativação similar (99,9%) ao encontrado para a concentração de 0,01g/L, ou seja de 10mg/L de sólidos em suspensão ou ainda de 0,8NTU. Souza *et al.* (2000) ao realizar experimentos de desinfecção de água contendo como indicador a bactéria *Escherichia coli* em concentrações conhecidas, também observaram a influência da turbidez na inativação, pois nos experimentos utilizando água com turbidez de 2 NTU, 99,99% de *E. coli* foram inativadas em 20s. Quando a turbidez foi aumentada para 50NTU este tempo aumentou para 120s com uma inativação de 99,97%.

Este efeito foi muito mais acentuado para *S. cerevisiae*, pois, como mostram as Tabelas 4.6 e 4.8, independentemente do tempo, as amostras de água com turbidez maior (25NTU) apresentaram menores percentuais de inativação que as amostras com turbidez menor (13NTU), no entanto, ainda assim, percentuais de inativação superiores a 99% foram obtidos com turbidez de 13NTU.

Segundo Cherchinaro *et al.* (2001) a inativação dos microrganismos por UV não sofre interferência de características físico-químicas tais como temperatura, alcalinidade e carbono inorgânico total. Assim sendo, como todas as amostras apresentaram temperatura em cerca de 25°C e valor de pH próximo ao neutro (6,5 - 7,0), estes fatores não influenciaram o processo de inativação.

Cabe lembrar que segundo Daniel *et al.* (2001), um equipamento de desinfecção de água por radiação ultravioleta, para ser eficiente, necessita garantir uma dose letal. No entanto, a dose letal, depende de uma série de condições físico-químicas da água entre elas, como já mencionado, a concentração dos sólidos em suspensão que deve ser de até 10mg/L. De acordo com o exposto é que foi elaborado o planejamento experimental apresentado na Tabela 3.5 (a e b). No entanto, a intenção de se verificar a eficiência de inativação de uma concentração celular maior (0,1g/L), ficou inviável de acordo com os resultados até o momento obtidos com este reator para *E. coli* e *S. cerevisiae*.

4.2 Avaliação pós-tratamento

Segundo Daniel (2001) um problema que pode ocorrer com a utilização da radiação UV é a indesejada recuperação de parcela dos microrganismos inativados. Isto significa que, sob irradiação de luz na faixa do visível, podem ocorrer reversões das reações fotoquímicas e os microrganismos podem recuperar a atividade. Este mecanismo permite que microrganismos irradiados recuperem-se caso tenham recebido dose subletal de radiação ultravioleta.

Para avaliar se a dose foi letal, realizou-se experimentos que consistiram na análise de amostras de água contendo, então, 0,01g/L de células de *E. coli* ou de *S. cerevisiae* imediatamente após a exposição por 60s à radiação UV e após 24 e 96h à exposição. As Figuras 4.16 e 4.17 apresentam a evolução do número de células (UFC/mL) de *E. coli* e de *S. cerevisiae*, respectivamente, após os períodos de estocagem das amostras em temperatura ambiente.

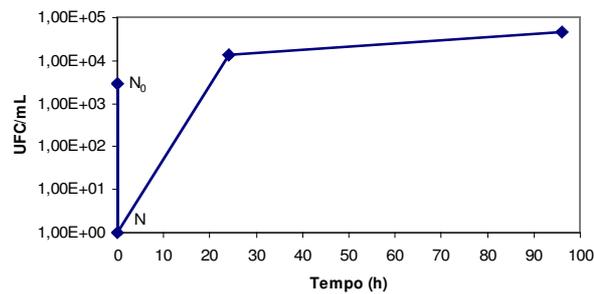


Figura 4.16 - Evolução do número de células viáveis de *Escherichia coli* (UFC/ml) com o tempo (h), após o tratamento da amostra por 60s de radiação UV.

Observa-se pela Figura 4.16 que inicialmente a amostra com 0,01g/L de *E. coli* continha $3,65 \times 10^3$ UFC/mL de células viáveis e após o tratamento por 60s apresentou uma inativação de 99,9%. Em aproximadamente 20h, houve um recrescimento celular alcançando o número inicial de células viáveis. Após 24 horas o número de células aumentou para $13,8 \times 10^3$ UFC/mL e continuou aumentado até 96h. Isto pode ser devido a uma dose não letal de radiação, mas também, ao fato de ter restado algumas células viáveis que poderiam estar se multiplicando nutrindo-se de restos celulares das células mortas. Até 20 horas, supõe-se estar havendo reativação das células, devido a uma dose não letal de radiação UV. No entanto, após 20h, o número de células viáveis é superior ao número inicial de células viáveis, pode-se supor, então, que as células estavam nutrindo-se de restos celulares, uma vez que não necessariamente, na concentração de 0,01g/L, existiam 100% de células viáveis.

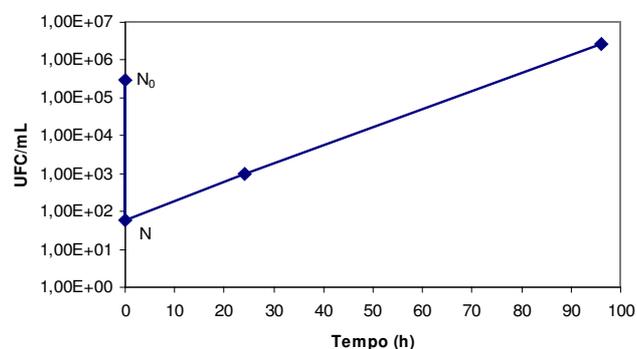


Figura 4.17 - Evolução do número de células viáveis de *Saccharomyces cerevisiae* (UFC/ml) com o tempo (h), após o tratamento da amostra por 60s de radiação UV.

O mesmo comportamento foi observado para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 4.17), após o tratamento da amostra por 60s de radiação UV, houve uma inativação de 99,7% das células viáveis e após 96 horas ao tratamento houve recrescimento celular. No entanto, observa-se que o processo de reativação da levedura, foi mais lento (37 UFC/mL.h) que da bactéria (575 UFC/mL.h), pois após 24 horas, o número de células viáveis de levedura ainda não havia alcançado o valor inicial.

Este fato pode estar relacionado com a fisiologia celular, como a levedura é um ser eucariótico, a sua reestruturação celular é mais complexa que a de um ser procariótico, como no caso da bactéria *E. coli* (PELCZAR, *et al.*, 1996), levando maior tempo para se reproduzir.

Sabe-se que em águas contaminadas existem diferentes microrganismos, inclusive os eucarióticos, assim, numa possível verificação de recrescimento após 24h ao tratamento por UV, se não apresentar crescimento, não significa que as células estão realmente inviáveis, pois podem estar, somente, levando um maior tempo para sua reestruturação.

Amaral *et al.* (2006) ao avaliaram a eficiência da exposição à radiação ultravioleta solar (natural), na desinfecção de água de poços rasos em garrafas “PET”, por 12 horas, observaram uma redução de 100% das células viáveis de *E. coli* e não verificaram recrescimento celular após 72h da exposição ao sol.

Aguiar *et al.* (2002) utilizaram a radiação ultravioleta (UV) na desinfecção de águas empregando dois tipos de água sintética contaminadas com *Escherichia coli* em concentrações de 10^2 a 10^7 NMP/100mL e submetidas à exposição UV por tempos de contato de 1, 3 e 5 minutos. Os ensaios realizados resultaram em inativação completa dos microrganismos nos tempos de contato de 3 e 5 minutos. Experimentos realizados por Bilotta e Daniel (2006) com *E. coli*, mostraram que 30s de exposição à radiação UV levaram à inativação de 100% das células. Souza *et al.* (2000), também realizaram experimentos de desinfecção de água contendo como indicador a bactéria *E.coli* em concentração conhecida e turbidez de 2 NTU. Verificaram que em apenas 20s de exposição das células à radiação UV, cerca de 99,99% de *E. coli* foram inativadas. No entanto, nenhum destes autores avaliou o processo de reativação.

Segundo Jagger (1958) são dois os mecanismos de recuperação dos microrganismos irradiados com ultravioleta:

. Reversão das alterações produzidas pela radiação ultravioleta – fotorreativação. A reversão é obtida por meio de recuperações fotoenzimáticas que monomerizam *in situ* os dímeros de pirimidina pela ação de enzima na presença de radiação de comprimento de onda de 300 a 500 nm;

. Substituição dos nucleotídeos lesados pela radiação ultravioleta - recuperação no escuro. A substituição pode ser feita por meio de remoção da parte lesada e de uma seqüência de nucleotídeos adjacentes, com posterior ressíntese da seqüência original de nucleotídeos. Esse processo denomina-se recuperação por excisão-ressíntese, e é feito na ausência de luz. A recuperação pós-irradiação será menor quanto maior for a dose recebida. Em doses elevadas, a quantidade de dímeros é maior que a capacidade de recuperação do microrganismo, não havendo tempo para reverter todas as alterações antes que inicie a duplicação da célula.

Como o objetivo inicial deste trabalho era a avaliação da eficiência da desinfecção de água por UV em processo batelada, através de planejamentos fatoriais, visando uma otimização do processo, não se esperava fotorreativação das células após 60s de exposição à radiação UV, uma vez que diversos autores utilizaram tempos de exposição ainda menores para inativação de, praticamente, 100% de células de *E. coli*.

Os resultados obtidos dos planejamentos experimentais, tanto para *E. coli*, quanto para *S. cerevisiae*, mostraram as condições ideais para obter-se maior inativação das células em menor tempo. No entanto, os resultados mostrados nas Figuras 4.16 e 4.17, sugerem que o tempo de 60s de exposição à radiação não promoveu uma dose letal às células.

4.3 Cinética de inativação

A dose de radiação ultravioleta é o produto da intensidade de radiação pelo tempo de exposição, sendo, então, a inativação de um número fixo de microrganismos alcançada em curto intervalo de tempo e alta intensidade ou em tempo longo e baixa

intensidade. Ou seja, a intensidade e o tempo de exposição podem ser variados reciprocamente para obtenção de uma mesma fração de sobrevivência (QUALLS e JOHNSON, 1985).

Segundo Cherchinaro *et al.* (2001) a intensidade de radiação pode, além de outros métodos, ser determinada pela utilização de bioensaios, em que se adiciona à água concentração conhecida de microrganismos desenvolvidos em cultura pura, com resposta conhecida à radiação ultravioleta. Conhecendo-se o tempo de exposição e as concentrações de microrganismos viáveis antes e depois da irradiação, é possível calcular qual a dose recebida

Assim, foram estudadas as cinéticas de inativação das células neste reator, para sugerir um valor de dose de radiação recebida pelas mesmas. A Figura 4.18 mostra as cinéticas de *E. coli* e de *S. cerevisiae*.

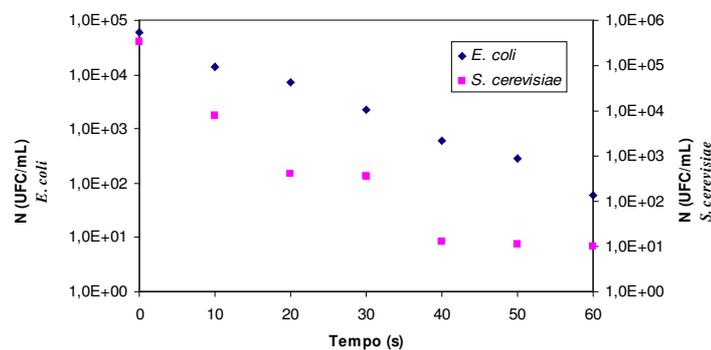


Figura 4.18 - Variação do número de células viáveis (UFC/mL) de *E. coli* e de *S. cerevisiae* com o tempo (s) de exposição à radiação ultravioleta.

A Figura 4.18 mostra que tanto *E. coli* quanto *S. cerevisiae* apresentam inativação linear.

Lembrando que segundo DANIEL (1993) a forma simples de relação dose-sobrevivência é estabelecida quando a cada aumento de dose reduz-se o número de unidades biológicas sobreviventes de uma população por um fator constante, conforme a lei cinética de Chick ($\ln N = -k.I.t + \ln N_0$), a Figura 4.19 mostra as equações cinéticas obtidas para *E. coli* e *S.cerevisiae*.

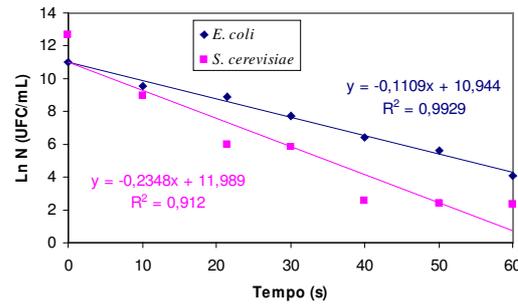


Figura 4.19 - Variação logarítmica do número de células viáveis ($\ln N$) de *E. coli* e de *S. cerevisiae* com o tempo (s) de exposição à radiação ultravioleta.

Pela Figura 4.19 pode-se observar um valor de $k.I$ para *E. coli* de $0,1109s^{-1}$ e para *S. cerevisiae* de $0,2348s^{-1}$, mostrando uma maior velocidade de inativação da levedura que da bactéria. Isto pode estar relacionado, novamente, com as diferenças fisiológicas das espécies microbianas. Como a radiação ultravioleta é absorvida por muitos compostos intracelulares, além do DNA (PELCZAR *et al.*, 1996), pelo fato da levedura ser um microrganismo eucariótico, contendo organelas e mais compostos que as bactérias, este material, pode, juntamente com o DNA, estar sendo prejudicado, levando a uma inativação mais rápida.

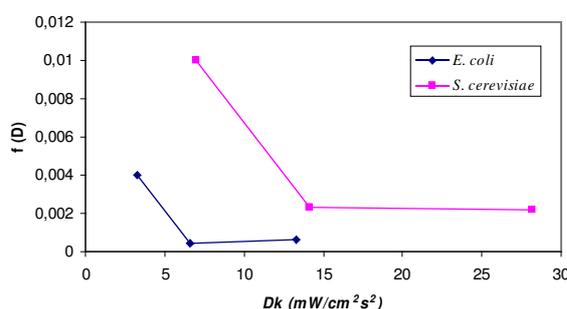
Como $D = I.t$ e na lei cinética de Chick k e I são constantes, a dose pôde ser calculada, no entanto ficou multiplicada por k (Dk).

A Tabela 4.10 apresenta a fração de sobrevivência que é função da dose $f(D)$ e a dose de radiação em (Dk), para os ensaios 1 e 3 da Tabela 4.6 e o ensaio 3 da Tabela 4.8. Estes ensaios foram realizados nas mesmas condições dos bioensaios que resultaram na cinética apresentada nas Figuras 4.18 e 4.19, ou seja, com $0,01g/L$ de *E. coli* ou *S. cerevisiae* expostas à radiação UV por 30, 60s ou 120s.

Observando a Tabela 4.10, verifica-se que apesar do tempo de 120s ter promovido uma maior dose, o fator de sobrevivência não variou em relação ao tempo de 60s, tanto para *E. coli*, quanto para *S. cerevisiae*. Apesar de não obter-se o valor real da dose recebida pelas células, a análise da relação de Dk com a fração de sobrevivência, é válida, uma vez que o perfil comportamental será o mesmo daquele analisado por D , uma vez que k é uma constante. (Figura 4.20).

Tabela 4.10 - Fração de sobrevivência ($f(D)$) e dose de radiação (Dk) obtidas através da Lei de Chick.

Tempo de exposição (s)	$f(D)$		(Dk) (mWs^2/cm^2)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>
30	4×10^{-3}	1×10^{-2}	3,3	7,0
60	$4,4 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-3}$	6,6	14,1
120	$6,3 \times 10^{-4}$	$2,2 \times 10^{-3}$	13,3	28,2

Figura 4.20 - Variação da fração de sobrevivência de *E. coli* e de *S. cerevisiae* com a dose de radiação (Dk).

Bilotta e Daniel (2006) verificaram em experimentos de desinfecção de água com *E. coli*, que a fração de sobrevivência diminuía em tempos de exposição de 30 para 60s, no entanto, com 120s a fração de sobrevivência voltava a aumentar, ou seja, observaram redução do número de sobreviventes com o aumento do intervalo de exposição.

Observa-se na Figura 4.20 que a fração de sobrevivência diminui com o aumento da dose até $6,6 mWs^2/cm^2$, correspondente a 60s de exposição, para *E. coli* e de $14,1 mWs^2/cm^2$, correspondente a 60s de exposição, para *S. cerevisiae*.

Existem, na literatura (WRIGHT e CAIRNS, 1998; DANIEL, 1993; WEF, 1996) valores de constantes cinéticas de inativação por UV, segundo a lei cinética de Chick, para diferentes microrganismos, entre eles o valor de $0,72 cm^2/mWs$ para *E. coli*. Se considerarmos esta constante de inativação, a dose de radiação recebida pelas células de *E. coli* em 60s de exposição, foi de $9,2 mWs/cm^2$. Esta estimativa não foi realizada para *S. cerevisiae* por não ter sido encontrado, na literatura, um valor de constante de inativação por UV para esta levedura.

Segundo Wright e Cairns (1998) a dose de radiação UV necessária para inativar 99% de células viáveis de *E. coli* é de 6,6 mWs/cm² (Tabela 2.3). Comparando este valor com o valor da dose estimada (9,2 mWs/cm²) verifica-se que este valor está acima do recomendado. No entanto, segundo os resultados obtidos nas Figuras 4.16 e 4.17 que mostram recrescimento celular, verifica-se que, ou esta dose não é letal ou as condições de operação do reator ainda não estão otimizadas.

Souza (2000) fez uma comparação da eficiência da radiação ultravioleta na inativação de *E. coli* utilizando uma água com turbidez de 2 NTU e verificou que com dose de 2,46mWs/cm² a eficiência (%) foi de 99,976. Observa-se que a dose utilizada pelo autor é bastante inferior à dose estimada neste trabalho.

Oliveira (2003), ao avaliar as doses de radiação UV para tratamento de efluente de ETE insular (lodo ativado), observou que uma dose média na faixa de 20 a 30 mWs/cm² levou a percentuais de 99,9% de inativação de *E. coli*, independente da concentração de SST presentes na amostra. Verifica-se, neste caso de tratamento de efluente, que as doses necessitam ser mais elevadas para obter-se boa eficiência.

Capítulo 5

Conclusões

. A maior inativação, 99,96%, foi obtida com amostra de 0,8NTU com 0,01g/L de células de *Escherichia coli* irradiadas durante 60s por UV a uma dose de radiação estimada de 9,2 mWs/cm².

. Para *Saccharomyces cerevisiae* a maior eficiência de inativação de 99,76% foi obtida, com amostra de 13NTU quando 0,01g/L de células foram tratadas durante 60s por radiação UV.

. A concentração de 0,1g/L e os tempos de exposição à radiação de 30 e 120s levaram a menores percentuais de inativação de *E. coli* e de *S. cerevisiae*.

. As amostras estocadas após o tratamento com UV por 60s apresentaram recrescimento de *E. coli* após, aproximadamente, 20h. *S. cerevisiae* levou em torno de 72h para reativar 100% das células. Supõe-se estar havendo reativação das células, devido a uma dose não letal de radiação UV ou devido ao fato de ter restado algumas células viáveis que poderiam estar se multiplicando nutrindo-se de restos celulares de células mortas.

. A velocidade de inativação de *S. cerevisiae* (0,23 UFC/mL.s) é maior que a velocidade de inativação de *E. coli* (0,11 UFC/mL.s).

. A fração de sobrevivência diminui com o aumento da dose de radiação até 60s de

exposição à radiação.

. Com a verificação do recrescimento celular, verificou-se que, ou a dose aplicada não foi letal ou as condições de operação do reator ainda não estão otimizadas.

. Águas tratadas nas condições consideradas ideais, neste trabalho, para este reator, não poderão ser utilizadas como água potável, uma vez que estas condições deixam resíduos de microrganismos na água e não atendem a Portaria 518 do Ministério da Saúde de 2004. No entanto, poderiam ser reutilizadas em outros processos industriais devido à rapidez do processo, bem como, a facilidade de ampliação de escala, desde que, o processo não promova condições para o recrescimento celular.

Como perspectivas de continuidade de trabalho pode-se sugerir:

. Definir a intensidade de radiação do equipamento através de medição por radiômetro no comprimento de onda de 254nm.

. Realizar experimentos para a confirmação da dose letal, com concentrações menores e tempos de exposição maiores, pois o fato de as células terem reativado após o tratamento por UV, leva à conclusão de que a radiação UV não foi efetiva, na desinfecção de *E. coli* e de *S. cerevisiae* no reator testado.

. Alcançar 100% de eficiência de inativação, pois, pode a parcela de células que resistiu à radiação, ter uma grande capacidade de se multiplicar, utilizando-se de células mortas presentes no meio como substrato.

. Avaliar a eficiência de inativação de microrganismos, principalmente *E. coli* e coliformes totais em regime contínuo, em situação real, por exemplo em amostras de água de chuva provenientes de telhados, de precipitação direta, água de poços, etc.

Referências

- [0] AGUIAR, A.M.S., FERNANDES NETO, M.L., BRITO, L.L.A., REIS, A.A., MACHADO, P.M.R., SOARES, A.F.S., VIEIRA, M.B.C.M., LIBÂNIO, M. Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção de águas com turbidez e cor moderadas. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.7, p. 37-47, 2002.
- [0] ALVES, C.V.P. **Ampliação de escala e avaliação de um fotorreator simplificado de radiação UV na desinfecção de esgotos tratados**. 124p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- [0] ANVISA. Portaria MS nº 518, de 25 de março de 2004.
- [0] AMARAL, L.A., NUNES, A.P., CASTANIA, J., LORENZO, C.S., BARROS, L.S.S., NADER FILHO, A. Uso da radiação solar na desinfecção da água de poços rasos. *Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo)*, v.73, n.1, p.45-50, 2006.
- [0] BABBIT, H.E., DOLAND, J.J., CLEASBY, J.L. **Abastecimento de água**. São Paulo: Edgar Blücher, 592p., 1973.
- [0] BARROS NETO, B., SCARMINIO, I.S., BRUNS, R.E. *Planejamento e Otimização de Experimentos*. 2.ed. Campinas: Editora da Unicamp, 299p., 1996.

- [0] BR BUSINESS. Cogumelos. Disponível em: <<http://www.br-business.com.br/port/images/fungos2.jpg>>. Acesso em julho de 2008.
- [0] BRAGA, B., HESPANHOL, I., CONEJO, J., BARROS, M., PORTO, M., NUCCI, N., JULIANO, N., EIGER, S. **Introdução à engenharia ambiental**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.
- [0] BRANCO, S.M.; PORTO, R.L. **Hidrologia ambiental**. Coleção Associação Brasileira de Recursos Hídricos, v. 3. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1991.
- [0] BASTOS, R.K.X., EVILACQUIA, P.D. Coliformes como indicadores da qualidade da água: alcance e limitações. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre, RS, 2000.
- [0] BILOTTA, P. **Inativação de indicadores patogênicos em sistemas combinados de tratamento e pré-desinfecção de esgoto sanitário**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), São Carlos/SP, Universidade de Engenharia de São Carlos, 2006.
- [0] BILOTTA, P., DANIEL, L.A. Ozônio e radiação UV na inativação de indicadores patogênicos em esgoto sanitário: análise comparativa. *Minerva*. v. 3, n.2, 2006.
- [0] BOLTON R. J. Calculation of ultraviolet fluence rate distributions in an annular reactor: Significance of refraction and reflection. *Water Research*, v. 34, n. 13, p. 3315-3324, 2000.
- [0] BURCH J., THOMAS, K. Water disinfection for developing countries and potential for solar thermal pasteurization. *Solar Energy*, v. 64, p. 87-97, 1998.
- [0] CAMPOS, J.R., PIZZIRANI, J.A. **Desinfecção com radiação ultravioleta**. In: IX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária, Belo Horizonte: 1977.

- [0] CHERCHINARO, C.A., DANIEL, L.A., SENS, M., CORAUCCI FILHO, B. Pós-tratamento de efluentes anaeróbios por sistemas de desinfecção. In: CHERCHINARO, C.A. (Coord). *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios*. Cap. 7., PROSAB, p. 1-66, 2001.
- [0] COMITÊS PCJ (Comitês das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí). Disponível em: <<http://www.comitepcj.sp.gov.br/comitespcj.htm>>. Acesso em julho de 2007.
- [0] CIPRIANO, R.F.P. **Tratamento das águas de chuva escoadas sobre telhado e avaliação do seu uso**. 89pp. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Regional de Blumenau (FURB), SC, 2004.
- [0] DANIEL, L.A. **Desinfecção de esgoto com radiação ultravioleta: fotorreativação e obtenção de parâmetros cinéticos**. 164p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos/SP, 1993.
- [0] DANIEL, L. A. Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável. *PROSAB – Rede Cooperativa de Pesquisas*, São Carlos: Rima Artes e Textos, 139p., 2001.
- [0] DENG, N, LUO, F., WU, F., XIAO, M. Discoloration of aqueous reactive dye solutions in the UV/Fe⁰ system. *Water Research*, v. 34, p. 2408-2411, 2000.
- [0] DERISIO, J.C. **Introdução ao Controle de Poluição Ambiental**. 2. ed. São Paulo: Signus Editora, 2000.
- [0] DI BERNARDO L. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. In: Radiação ultravioleta VII. Rio de Janeiro: Abes, cap. 4., p. 486-498, 1993.
- [0] DI BERNARDO, L.D. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**. v. 2. Rio de Janeiro: ABES, 503p., 1993.

- [0] DOWNEY, D., GILES, D., DELWICHE, M. J. Finite element analysis of particle and liquid flow through an ultraviolet reactor. *Computers and Electronics in agriculture*, v.21, p. 81-105, 1998.
- [0] EDSTROM INDUSTRIES INC. **Ultraviolet disinfection**, p. 3-8, 2003. Disponível em: <<http://www.edstrom.com/DocLib/MI4178.pdf>>. Acessado em abril 2007.
- [0] FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. *Escherichia coli*. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/.../novidades/out04/coli_fer.jpg>. Acesso em: jul. 2008.
- [0] GUARATINI, C.C.I., ZANONI, M.V.B. Corantes Têxteis. *Revista Química Nova*, v.23, n.1, p. 71-78, 2000.
- [0] GOLIMOWSKI, J. GOLIMOWSKI, K. UV – Photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples. *Analytica Chimica Acta*, v. 325, n.3, p.111-133, 1996.
- [0] HARM, W. **Biological effects of ultraviolet radiation**. New York: Cambridge University Press, 216p., 1980.
- [0] HARRIS, G.D., ADAMS, V.D.; SORENSEN, D.L; CURTIS, M.S. Ultraviolet inactivation of selected bacteria and viruses with photorreactivation of bacteria. *Water Research*, v. 21, n.6, p.687-692, 1987.
- [0] HIRNOVEN, A., TUHKANEN, T., KALLIOKOSKI, P. Treatment of TCE and PCE contaminated groundwater using UV/H₂O₂ and O₃/H₂O₂ oxidation processes. *Water Science and Technology*, v.33, p. 67-73, 1996.
- [0] JAGGER, J. Photoreactivation. *Bacteriological Reviews*, v. 22, 99-142, 1958.
- [0] KOLLER, L.R. **Ultraviolet radiation**. Londres: John Wiley & Sons, 270p.,1952.
- [0] LAURENTI, A. Qualidade da Água I. Florianópolis: Imprensa Universitária, p. 42, 1997.

- [0] LEAL, F.C.T. **Contribuição ao estudo da remoção da cor natural no tratamento das águas de abastecimento.** 155p. Dissertação (Mestrado em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos) Escola de engenharia. Universidade Federal de Minas Gerais, 2001.
- [0] LIMA, E., KOLLNBERGER, G. Tecnologias Modernas para Desinfecção de Água e Esgotos. *Revista Meio Ambiente Industrial*, v. 13, 1998.
- [0] MASSCHELEIN, W.J. **Ultraviolet light in water and wastewater sanitation.** Boca Raton: Lewis Publisher, 2002.
- [0] MERTEN, G.H., MINELLA, G.P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, v.3, n.4, p. 33-38, 2002.
- [0] MONTAGNER, C.C., PASCHOALINO, M.P. **Caderno Temático Volume 4: Aplicação da Fotocatálise Heterogênea na Desinfecção de Água e Ar.** Universidade Estadual de Campinas, 16p., 2005.
- [0] OLIVEIRA, E.C.M. Desinfecção de efluentes sanitários tratados através de radiação ultravioleta. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- [0] PADUA, E.A., OLIVEIRA A.C., SGARBIERI, V.C. Importância da parede celular de levedura (*Saccharomyces sp.*) como fonte de fibra na alimentação. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, n.2, p. 233-239, 2000.
- [0] PELCZAR, M., KRIEG, N.R, CHAN, E.C.S. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996.
- [0] QUALLS, R.G.; JOHNSON, J.D. Modeling and efficiency of ultraviolet disinfection systems. *Water Research*, v.19, n.8, p.1039-1046, 1985.
- [0] ROSE, J.B. Emerging issues for the microbiology of drinking water. *Water Engineering & Management*, v.137, p.23-29, 1990.

- [0] ROSSI-ESPAGNET, A., GOLDSTEIN, G.B., TABIBZADEH, I. Urbanization and health in developing countries: a challenge for health for all. *World Health Stat. Q.*, v. 44, n.4, p.186-284, 1991.
- [0] SÁ SILVA, C.A., ANDRADE N.J., SOARES, N.F.F., FERREIRA, S.O. Evaluation of ultraviolet radiation to control microorganisms adhering to low-density polyethylene films. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.34, p. 175-178, 2003.
- [0] SHABAN, A.M., TAWHEEL, G.E.E., ALI, G.H. UV Ability to inactive microorganisms combined with factors affecting radiation. *Water Science Technology*, v.35, p.107-112, 1997.
- [0] SILVA, J.C.C., CHERNICHARO, C.A.L., ZERBINI, A.M., GODINHO, V.M., LAUFFER, J. Desenvolvimento e avaliação de um fotorreator simplificado de radiação UV para inativação de coliformes e ovos de helmintos em esgotos tratados. In: CHERCHINARO, C.A.L. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbicos. Coletânea de artigos técnicos - volume II. PROSAB, p. 229-240, 2001.
- [0] SILVA, M., SARDANHA, J.M., FERREIRA, F. **Sistemas de Desinfecção de Águas Residuárias – Tendências Atuais**. Associação Portuguesa de Drenagem de Água – APDA, 2003.
- [0] SIQUEIRA, R.S. *Manual de microbiologia de alimentos*. EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, CTAA, Rio de Janeiro, 1995.
- [0] SKOOG, D.A., WEST, D.M., HOLLER, F.J. *Analytical chemistry*. 6ª ed. Saunders College Pub., 1994.
- [0] SOUZA, J.B. Desinfecção de águas com cor e turbidez elevadas: comparação técnica de processos alternativos ao cloro empregando radiação ultravioleta e ácido paracético. São Carlos. 147p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2000.

- [0] SOUZA, J.B., SARTORI, L., DANIEL, L.A. Influência da cor e turbidez na desinfecção de águas de abastecimento utilizando-se cloro e radiação ultravioleta. Anais do XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre, p. 1-6, 2000.
- [0] SOUZA, J.B., DANIEL, L.A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v.10, p.111-117, 2005.
- [0] SOUZA, J.B. **Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro.** Tese (Doutorado: Hidráulica e Saneamento) Escola de engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos – SP, 2006.
- [0] STANDARD METHODS. Standard Methods for the examination of water and wastewater. EATON, A.D., CLESCERI, L.S., RICE, E.W., GREENBERG, A.E. Edts., Hardcover: 21Ed., 2005.
- [0] TANAKA, K., ABE, K., HISANAGA, T. J. Photocatalytic water treatment on immobilized TiO₂ combined with ozonation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v.101, p. 85-87, 1996.
- [0] TARRÁN, E.P. Desinfección por luz ultravioleta. Disponível em: <<http://www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/3-4-02inter.pdf>>. Acesso em agosto de 2008.
- [0] TECHNOLAMP. Tecnologia de ponta no serviço da qualidade de vida. Disponível em: <<http://www.technolamp.com.br/uv%20lamp.htm>>. Acesso em: 02 abr. 2007.
- [0] TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia.** 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

- [0] TRATAMENTO DE ÁGUAS E EFLUENTES. Desinfecção ultravioleta. Disponível em: http://www.tratamentoaguaefluentes.com.br/uv/Tratamento_Agua_Desinfeccao_Ultravioleta_Equipamentos.htm. Acesso em junho de 08.
- [0] TUNDISI, J.G. O futuro dos Recursos. *Revista interdisciplinar dos Centros e Núcleos da Unicamp*, São Paulo: Multiciência, 2003.
- [0] USP - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Ciclo da Água. Disponível em: <http://www.usp.br/qambiental/imagens/tratamentoAgua/ciclodaagua.GIF>. Acesso em agosto de 2008.
- [0] VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. v. 1, Ed. 2. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais, 243p., 1996.
- [0] WALKLING-RIBEIRO, M., NOCI, F., CRONIN, D.A., RIENER, J., LYNG, J.G., MORGAN, D.J. Reduction of *Staphylococcus aureus* and quality changes in apple juice processed by ultraviolet irradiation, pre-heating and pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, v. 89, p. 267–273, 2008.
- [0] WEF – Water Environment Research Foundation. **Wastewater disinfection: manual of practice**. Washington, USA, 1996.
- [0] WHITE, G.C. **Handbook of chlorination**. Nova York: Van Nostrand Reinhold Company Inc., 965 p., 1986.
- [0] WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION *Creating health cities in the 21st century*. Geneva, 1996.
- [0] WISBECK, E. Estudo da produção de glicose-frutose oxidoredutase por linhagem floculante de *Zymomonas mobilis*. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1995.

- [0] WRIGTH, H.B., CAIRNS, W.L. **Desinfección de agua por medio de luz ultravioleta** In: Simposio Regional sobre Calidad del Agua: Desinfección Efectiva, p.1-28, Lima, 1998.

Apêndice A

Dados experimentais

A.1 Dados para os planejamentos experimentais

A.1.1 Dados de *Escherichia coli*

Tempo (s)	Concentração (g/L)	<i>E. coli</i>		
		N_0 (UFC/mL)	N (UFC/mL)	
30	0,01	$2,9 \times 10^6$	$1,1 \times 10^4$	$1,22 \times 10^4$
60	0,01	$2,9 \times 10^6$	$1,31 \times 10^3$	$1,25 \times 10^3$
120	0,01	$2,73 \times 10^6$	$1,70 \times 10^3$	$1,68 \times 10^3$
30	0,1	$2,44 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$	$2,47 \times 10^6$
60	0,1	$2,43 \times 10^7$	$1,59 \times 10^4$	$1,61 \times 10^4$
120	0,1	$2,44 \times 10^7$	9×10^4	$7,1 \times 10^4$

A.1.2 Dados de *Saccharomyces cerevisiae*

Tempo (s)	Concentração (g/L)	<i>S. cerevisiae</i>		
		N_0 (UFC/mL)	N (UFC/mL)	
30	0,01	$2,62 \times 10^5$	$2,5 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
60	0,01	$2,62 \times 10^5$	6×10^2	$6,6 \times 10^2$
120	0,01	$2,68 \times 10^5$	$6,4 \times 10^3$	$6,2 \times 10^3$
30	0,1	$8,7 \times 10^5$	$3,6 \times 10^4$	4×10^4
60	0,1	$7,1 \times 10^5$	$2,54 \times 10^4$	$2,38 \times 10^4$
120	0,1	$8,7 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$	$3,45 \times 10^3$

A.2 Avaliação pós-tratamento

Tempo	N (UFC/mL) <i>E. coli</i>		N (UFC/mL) <i>S. cerevisiae</i>	
	0 (inicial)	$3,4 \times 10^3$	$3,9 \times 10^3$	$2,97 \times 10^5$
60s	5×10^1	1×10^1	5×10^1	7×10^1
24h	$1,62 \times 10^4$	$1,14 \times 10^4$	9×10^2	10×10^2
96h	$5,3 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$	$2,98 \times 10^6$	$2,25 \times 10^6$

A.3 Cinética de inativação

Tempo (s)	N (UFC/mL) <i>E. coli</i>		N (UFC/mL) <i>S. cerevisiae</i>	
	0	$6,35 \times 10^4$	$5,8 \times 10^4$	$3,34 \times 10^5$
10	$1,66 \times 10^4$	$1,09 \times 10^4$	$7,5 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
20	$8,1 \times 10^3$	$6,6 \times 10^3$	$3,8 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$
30	$2,68 \times 10^3$	$1,89 \times 10^3$	$3,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$
40	$7,0 \times 10^2$	$5,2 \times 10^2$	$1,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$
50	$3,0 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$	$1,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$
60	$8,0 \times 10^1$	$4,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$1, \times 10^1$

A.4 Curva de Calibração para *Escherichia coli*

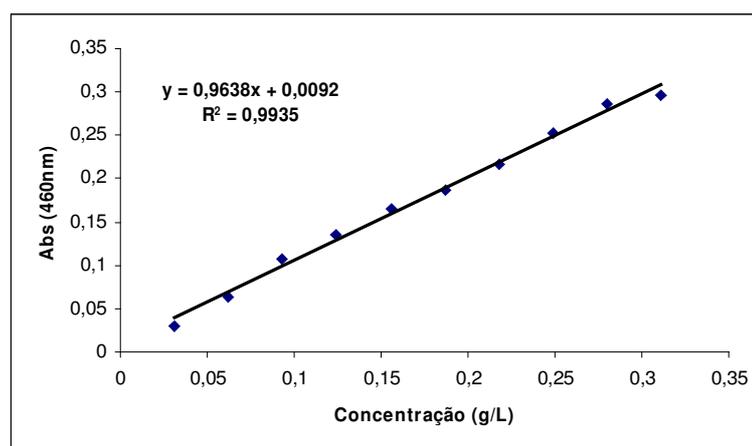
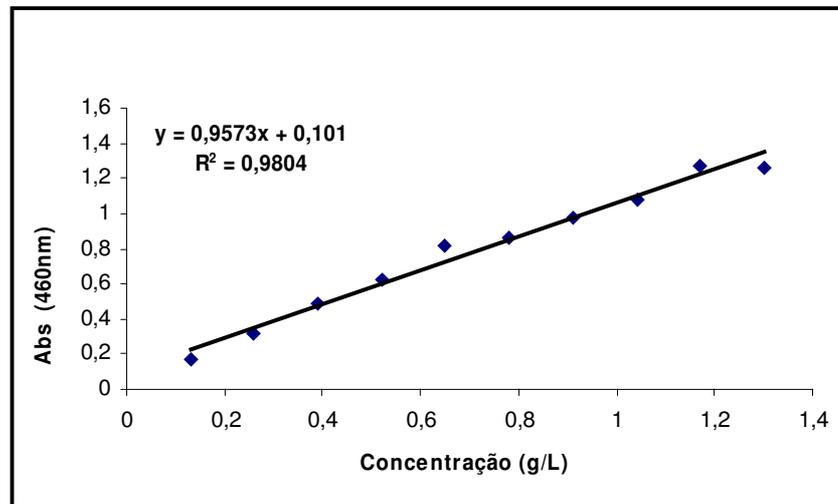


Figura A.21 - Curva de calibração para *Escherichia coli*.

A.5 Curva de Calibração para *Saccharomyces cerevisiae*Figura A.22 - Curva de calibração para *Saccharomyces cerevisiae*.