UNIVERSIDADE DE UBERABA

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E EXTENSÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
MESTRADO PROFISSIONAL

BARBARA SANTOS RITT

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS DE CLORAÇÃO E RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE ÁGUA CONTAMINADA COM BACTÉRIAS

UBERABA-MG

2020

BARBARA SANTOS RITT

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS DE CLORAÇÃO E RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE ÁGUA CONTAMINADA COM BACTÉRIAS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química– Mestrado Profissional da Universidade de Uberaba (PPGEQ-MP/UNIUBE).

Orientador:
Profº. Dr. André Luís Teixeira Fernandes

Coorientador:
Profº. Dr. Geraldo Thedei Junior

UBERABA-MG

2020

Catalogação elaborada pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

R513a

Ritt, Barbara Santos.

Análise comparativa entre os métodos de cloração e radiação ultravioleta na desinfecção de água contaminada com bactérias / Barbara Santos Ritt. – Uberaba-MG, 2020.

xii; 64 f. il. : color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Profº. Dr. André Luís Teixeira Fernandes.

Coorientador: Profº. Dr. Geraldo Thedei Junior.

1. Água – Purificação. 2. Controle de qualidade da água. 3. Água - Purificação - Cloração. 4. Radiação ultravioleta. I. Fernandes, André Luís Teixeira. II. Thedei Junior, Geraldo. III. Universidade de Uberaba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

CDD: 628.166.2

BARBARA SANTOS RITT

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS DE CLORAÇÃO E RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE ÁGUA CONTAMINADA COM BACTÉRIAS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – Mestrado Profissional da Universidade de Uberaba (PPGEQ-MP/UNIUBE)

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos Agroindustriais.

Aprovada em: 27 / 02 / 2020.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. André Luís Teixeira Fernandes - Orientador
Universidade de Uberaba

Prof. Dr. Geraldo Thedei Junior
Universidade de Uberaba

Profª Dra. Mônica Hitomi Okura
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

DEDICATÓRIA

“Dedico esta pesquisa aos meus avós paternos e maternos *“in memoriam”,* aos meus pais e minha irmã, pois sem eles esta pesquisa e muitos dos meus sonhos não se realizariam”.

AGRADECIMENTOS

“Agradeço aos meus pais Humberto e Katia por sempre me apoiarem, por acreditarem na minha capacidade e pelo incentivo de continuar na caminhada para alcançar meus sonhos”.

“Agradeço a espiritualidade por toda proteção e orientação para passar por cada situação com muita força e fé de que tudo daria certo no final”.

“Ao meu orientador professor Dr. André Luís Teixeira Fernandes que eu tanto admiro e tenho respeito, por toda paciência, empenho, dedicação e desdobramentos que foram feitos para que conseguíssemos alcançar esta pesquisa”.

“Ao meu co-orientador professor Dr. Geraldo Thedei Junior por ter abraçado esta pesquisa com toda preocupação e vontade de desenvolvermos um excelente trabalho”

“A querida Aparecida, técnica do Laboratório de Microbiologia Alimentar, pela sua humildade, acolhimento e alegria”.

“Ao Rodolfo, técnico do Laboratório de Biologia Celular e Molecular, pela amizade e ensinamentos”.

“A professora Dra. Elizabeth Uber Bucek onde busco palavras para agradecer por todo carinho e incentivos que recebi, exímia pesquisadora de um coração ilustre”.

“Ao professor Dr. José Roberto Delalibera Finzer por ser um exemplo de mestre, professor e ser humano, doando sempre aos seus alunos a experiência, o carinho, atenção e preocupação para que fizéssemos um excelente trabalho”.

“Ao João Suss da ARAUNAH sempre solícito e engajado na parceria que possibilitou o principal insumo para realização desta pesquisa”.

“Aos demais mestres que me acompanharam durante esta jornada e que de alguma forma contribuíram para esta dissertação”.

“A Fundação de Amparo e Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo suporte dado ao desenvolvimento dessa dissertação”.

EPÍGRAFE

"O químico que puder extrair de seu coração os elementos compaixão, respeito, saudade, paciência, arrependimento, surpresa e esquecimento, e compô-los em um, pode se criar este átomo que é chamado de amor".

Kahlil Gibran

RESUMO

A preocupação com a qualidade dos processos que permitem a biosseguridade da água para consumo humano tem sido alvo de grandes organizações e pesquisadores, visto que o processo de desinfecção, etapa de grande importância nas estações de tratamento de água, não tem alcançado o seu devido propósito. Isso se deve ao fato dos frequentes relatos na ineficiência da dose de inativação de patógenos pelo uso do cloro, que é amplamente utilizado no Brasil, além da formação de subprodutos como trihalometanos e ácidos haloacéticos que são considerados tóxicos a saúde humana. Métodos que possam substituir ou complementar o processo de desinfecção por cloração, minimizando os riscos à saúde humana ganham cada vez mais visibilidade e condições de que seus usos sejam efetivados. A radiação ultravioleta (UV) é um desses métodos de desinfecção que tem sido amplamente explorado, devido à sua eficiência em inativar uma grande variedade de bactérias, vírus, fungos e protozoários, além da ausência da formação de subprodutos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o desempenho dos processos de cloração, radiação UV e combinação cloro/UV na inativação das bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa,* ambas indicadoras de qualidade da água. Para isso, água bruta captada no poço da Universidade de Uberaba foi contaminada com *Escherichia coli* (concentração final $1{,}5 \cdot 10^5$ UFC/ml) e *Pseudomonas aeruginosa* (concentração final $1{,}5 \cdot 10^5$ UFC/ml) e em seguida tratada com luz UV (30mJ/cm^2, utilizando o VIQUA ABSOLUTE H_2O®), com o cloro a 6,25ppm e por último a associação desses dois métodos, através do Plaqueamento *Spread Plate*. Utilizando-se o programa GraphPad Prism 7, foi possível verificar que, estatisticamente, o cloro e a UV obtiveram a mesma significância na inativação das bactérias. Em 48 horas, após os tratamentos, as bactérias não mostraram reativação. Desta forma, o estudo realizado permitiu demostrar que 6,25 ppm de cloro foi o suficiente para atingir estatisticamente o mesmo resultado da radiação UV a uma dose de 30mJ/cm^2. A ultravioleta como agente desinfetante agrega sempre eficiência por isso seu uso é difundido e empregado quando se busca excelência em processos.

Palavras-chave: Tratamento de água. Eficiência. Biosseguridade.

ABSTRACT

The concern with the quality of the processes that allow the biosecurity of water for human consumption has been the target of large organizations and researchers, since the disinfection process, a step of great importance in water treatment plants, has not achieved its proper purpose . This is due to the frequent reports on the inefficiency of the dose of inactivation of pathogens by the use of chlorine, which is widely used in Brazil, in addition to the formation of by-products such as trihalomethanes and haloacetic acids that are considered toxic to human health. Methods that can replace or complement the chlorination disinfection process, minimizing the risks to human health, are gaining increasing visibility and conditions for their uses to be effective. Ultraviolet radiation (UV) is one of those disinfection methods that has been widely explored, due to its efficiency in inactivating a wide variety of bacteria, viruses, fungi and protozoa, in addition to the absence of the formation of by-products. Therefore, the objective of this work was to evaluate the performance of the processes of chlorination, UV radiation and chlorine / UV combination in the inactivation of the bacteria *Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa*, both indicators of water quality. For this, raw water captured in the well of the University of Uberaba was contaminated with *Escherichia coli* (final concentration $1.5 \cdot 10^5$ UFC/ml) and *Pseudomonas aeruginosa* (final concentration $1.5 \cdot 10^5$ UFC /ml) and then treated with light UV ($30 mJ/cm^2$, using VIQUA ABSOLUTE H2O®), with chlorine at 6.25ppm and finally the association of these two methods, through the Spread Plate Plating. Using the GraphPad Prism 7 program, it was possible to verify that, statistically, chlorine and UV obtained the same significance in the inactivation of bacteria. In 48 hours, after the treatments, the bacteria did not show reactivation. Thus, the study carried out showed that 6.25 ppm of chlorine was enough to achieve statistically the same result as UV radiation at a dose of $30 mJ/cm^2$. Ultraviolet as a disinfectant agent always adds efficiency so its use is widespread and used when seeking excellence in processes.

Keywords: Water treatment. Efficiency. Biosafety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de cloração 13

Figura 2 - Risco biológico e formação de subprodutos 15

Figura 3 - Comprimentos de onda 16

Figura 4 - Formação de dímeros de timina pela incidência de UV 20

Figura 5 - Bactéria *E.coli* 25

Figura 6 - Distribuição dos alimentos incriminados em surtos de DTA 26

Figura 7 - Distribuição dos 10 agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA 26

Figura 8 - Patogênese das infecções por *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC) 29

Figura 9 - Bactéria *P.aeruginosa* 30

Figura 10 - Uma colônia de *P.aeruginosa* 31

Figura 11 - Aparelho VIQUA ABSOLUTE H2O® utilizado nos experimentos 33

Figura 12 - Lâmpadas UV 34

Figura 13 - Luva de Quartzo 35

Figura 14 - Controlador VIQUA UV - ½ 35

Figura 15 - Coleta de água bruta 41

Figura 16 - Análise da água bruta pela fita Pool Test 44

Figura 17 - Estrutura do sistema de desinfecção 45

Figura 18 - Tipos de água trabalhadas inoculadas em placa de Petri 49

Figura 19 - Número de UFC/ml para *E.coli* 50

Figura 20 - Número de UFC/ml para *P.aeruginosa* 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - As formas de representação da eficiência da desinfecção 5

Tabela 2 - Combinações da desinfecção combinada e da qualidade da água bruta 10

Tabela 3 - Dose de radiação (mJ/cm^2) necessária para obtenção de eficiência de 99,9% 21

Tabela 4 - Dados do reator UV 35

Tabela 5 - Diluições para *E.coli* e *P.aeruginosa* 38

Tabela 6 - Cálculo da vazão 46

Tabela 7 - Porcentagem de inativação para *E.coli* 47

Tabela 8 - Porcentagem de inativação para *P. aeruginosa* 48

Tabela 9 - Teste Kruskal-Wallis para *E.coli* 49

Tabela 10 - Teste Kruskal-Wallis para *P.aeruginosa* 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA	Agência Nacional de Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI	*Brain Heart Infusion*
CDC	*Center of Disease Control and Prevention*
CT	Enterotoxina da cólera
DAEC	*E.coli* Difusamente Aderente
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EAEC	*E.coli* Enteroagregativa
EBC	Empresa BRASIL de Comunicação
EHEC	*E.coli* Enterohemorrágica
EIEC	*E.coli* Enteroinvasora
EPA	*Environmental Protection Agency*
EPEC	*E.coli* Enteropatogênica
ETEC	*E.coli* Enterotoxigênica
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FDA	*Food and Drug Administration*
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
HAA	Ácidos Haloacéticos
LT	Enterotoxina lábeis ao calor
MDDA	Monitoramento das Doenças Diarreicas Agudas
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PCA	*Plate Count Agar*
pH	potencial Hidrogeniônico
ST	Enterotoxina estáveis ao calor
STEC	*E.coli* produtora de toxina Shiga
THM	Trihalometanos
UFC	Unidade Formadora de Colônia
USEPA	*United States Environmental Protection Agency*
UV	Ultravioleta
VTEC	*E.coli* Verocitotóxica

SUMÁRIO

RESUMO vii
ABSTRACT viii
LISTA DE FIGURAS ix
LISTA DE TABELAS x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS xi
SUMÁRIO xii
1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 4
2.1 Desinfecção 4
2.1.1 Mecanismos de Desinfecção 6
2.1.2 Cinética de Desinfecção 6
2.1.3 Métodos de desinfecção 9
2.1.4 Desinfecção combinada 10
2.2 Cloro 11
2.3 Radiação Ultravioleta 16
2.4 Microrganismos indicadores da qualidade da água 22
2.4.1 *Escherichia coli* 24
2.4.2 *Pseudomonas aeruginosa* 30
3. OBJETIVOS 32
3.1 Objetivo geral 32
3.2 Objetivos Específicos 32
4. MATERIAIS E MÉTODOS 32
4.1 Descrição Geral 32
4.2 Materiais e Equipamentos 33
4.2.1 Reator 33
4.2.1.1 Câmara do Reator 33
4.2.1.2 Lâmpada UV 34
4.2.1.3 Luva de quartzo 34
4.2.1.4 Unidade Controladora 35
4.2.2 Equipamentos principais 36
4.2.3 Equipamentos diversos 36
4.3 Metodologia 37
4.3.1 Delineamento experimental 37

4.3.1.1 Determinação da faixa operacional de bactérias em UFC/ml 38
4.3.1.2 Cálculo da dosagem de cloro 40
4.3.1.3 Coleta da água bruta 41
4.3.1.4 Análises 42
4.3.1.5 Tratamento dos dados 44
4.3.2 Segurança laboratorial 44
4.3.3 Estrutura de operação 45
4.3.4 Vazão 46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 47
5.1 Resultados 47
5.2 Discussão 51
CONCLUSÕES 54
REFERÊNCIAS 55
APÊNDICE 62

1. INTRODUÇÃO

A relação do ser humano com os corpos d'água vem desde sua existência. Estima-se que, há 10.000 anos, com a revolução da agricultura, o ser humano começou a aprimorar suas habilidades, deixando de lado a caça como principal fonte de sustento, dando origem ao cultivo das primeiras culturas e a criação de rebanhos. Com isso, os nômades foram formando as comunidades iniciais que necessitavam do abastecimento hídrico para suprir as novas práticas (LIBÂNIO, 2008). Dessa forma, a água tem um papel essencial para o desenvolvimento de todas as atividades cotidianas do homem. Sendo ainda, um bem de primeira necessidade, visto que sua ausência corresponde ao comprometimento da vida terrestre (PONTES, 2003).

Relacionando a importância da água para o ser humano, no Brasil, a água é utilizada principalmente para irrigação, consumo/abastecimento, fins industriais, geração de energia, mineração, aquicultura, navegação, turismo e lazer (BRASIL, 2019). A água para consumo humano é definida como toda água destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, conforme conceito presente no artigo 5º da Portaria nº 2.914/2011, do Ministério da Saúde, conhecida como a portaria da água para consumo humano (BRASIL, 2011).

O manejo da água para fins de consumo envolve diversos processos, destacando-se, dentre estes, a captação da água no corpo hídrico e o tratamento para tornar própria a sua distribuição e consumo. O controle e a vigilância da qualidade da água são mecanismos que atuam de forma conjunta para garantir que o consumo da mesma atenda às necessidades básicas humanas, bem como proteja a saúde e permita o pleno desenvolvimento humano (BRASIL, 2006).

Em contrapartida do que se espera de que todos tenham acesso a água de qualidade, o relatório GLASS (*Global Antimicrobial Surveillance System*) de 2014 apontou que 748 milhões de pessoas não possuem acesso à água potável no planeta e calcula-se que outros 1,8 bilhão usam fonte de água contaminada por fezes. O estudo mostra que nas duas últimas décadas, 2,3 bilhões de pessoas conseguiram ter acesso às fontes de águas melhoradas, ou seja, passaram por algum tipo de desinfecção e este melhoramento refletiu na diminuição de mortes de crianças devido a doenças diarreicas, caindo de 1,5 milhões em 1990 para 600 mil em 2012 (EBC, 2014; MDDA, 2015).

Em 2017, a ONU (Organização das Nações Unidas) publicou um relatório da OMS (Organização Mundial da Saúde) que aponta a diarreia, malária e pneumonia como causas mais comuns de mortes entre crianças de um mês até cinco anos. Segundo o documento, os três problemas de saúde podem ser evitados com intervenções nos espaços por onde os jovens circulam. Mais de um quarto das mortes de crianças com menos de cinco anos são causadas por fatores ambientais como poluição, falta de saneamento e uso de água imprópria para o consumo. Anualmente, 1,7 milhão de meninos e meninas nessa faixa etária morrem porque vivem em locais insalubres. Outros 361 mil meninos e meninas na mesma faixa etária morrem por diarreia porque não têm acesso água potável, esgoto e higiene. A escassez de recursos hídricos próprios ao consumo humano afeta também centros de saúde. A OMS estima que a falta de limpeza, saneamento e água limpa em unidades de tratamento estão associados à morte de 270 mil crianças que falecem durante o primeiro mês de vida. Complicações que incluem a prematuridade (ONU, 2017).

A desinfecção da água constitui-se em processo de extrema importância para a humanidade. Para se obter uma desinfecção eficiente, é preciso reduzir os microrganismos a um nível aceitável, dentro dos parâmetros regulamentadores, de forma que o consumo da água tratada seja seguro para a saúde, evitando qualquer tipo de doença ou danos. Uma das principais dificuldades para desinfecção da água é a seleção do processo que reduza a carga microbiológica aos padrões estabelecidos, que tenha um teor mínimo de formação de subprodutos, que seja o mais vantajoso do ponto de vista econômico, além da biosseguridade (SAKAI, 2012).

Com as novas tendências sobre regulamentação dos padrões de potabilidade das águas de consumo humano que as organizações internacionais vêm apresentando como a EPA (*Environmental Protection Agency*) e OPAS/OMS (Organização Pan-Americana de Saúde/Organização Mundial de Saúde), indicam uma preocupação crescente com a presença de novos contaminantes orgânicos e inorgânicos.

Nesse cenário, objetiva-se controlar, em especial, os subprodutos produzidos pelos processos de desinfecção, seja pelo emprego do cloro ou pela utilização dos denominados desinfetantes alternativos aos compostos de cloro (DANIEL, 2001).

Segundo Souza (2006), cloro é o principal desinfetante utilizado no Brasil na desinfecção de água para abastecimento, devido ao seu amplo poder germicida, formação residual ativo que possibilita a biosseguridade da Estação de Tratamento até o consumidor

final e baixo custo de operação. Porém, pesquisas relacionam surtos de doenças emergentes com a insuficiência desinfetante da cloração na grande maioria dos casos estudados. Este acontecimento pode estar relacionado à existência de microrganismos resistentes à ação do cloro, que em condições usuais não foram inativados nos sistemas de desinfecção, como é o caso da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (AGUIAR, 2000).

Além disso, o cloro produz subprodutos tóxicos carcinogênicos como os ácidos haloacéticos (HAA), e os trihalometanos (THMs) quando em contato com compostos orgânicos presentes na água bruta (PIANOWSKI; JANISSEK, 2003). Com isso, a potencialidade de formação de subprodutos halogenados, quando águas naturais são desinfetadas com cloro, contribuiu para que ocorressem importantes mudanças nos setores de abastecimento de água e de saúde pública no mundo (SOUZA; DANIEL, 2005), mas no Brasil percebe-se certa resistência na aplicação de novas tecnologias de desinfecção em grandes escalas.

Nas 27 unidades federativas do Brasil, verifica-se que todas as empresas de Saneamento Básico Estaduais, fazem uso do cloro (gasoso ou líquido) no processo de desinfecção em suas respectivas ETA's. Até o desenvolvimento deste estudo, não foram encontradas o emprego de desinfetantes alternativos ao cloro nas ETA's do Brasil, apenas estudos referentes à implantação, eficiência e viabilidade do ozônio, radiação ultravioleta, ácido peracético entre outros, ao contrário de países como Canadá, Estados Unidos e a Europa Ocidental que tem optado por estas tecnologias. Esses desinfetantes que são considerados altamente efetivos por não fornecerem residuais podem ser combinados ao cloro, visando obter máxima inativação de microrganismos e mínima formação de subprodutos (SOUZA, 2006).

Conforme supracitado, a utilização da radiação ultravioleta pode ser uma alternativa à cloração devido, sobretudo, a não geração de subprodutos tóxicos e, por conseguinte, não gerar residuais prejudiciais à saúde. Além do mais, é um método efetivo na inativação de bactérias, vírus e protozoários, apresenta facilidade de operação e segurança, e exige baixo tempo de contato, o que possibilita o uso de unidades compactas (TINÔCO, 2011).

Assim, este trabalho objetivou analisar os resultados obtidos através do percentual de inativação, dos processos de desinfecção por meio da cloração utilizando hipoclorito de sódio (NaClO), um reator de radiação ultravioleta e a combinação dos dois métodos respectivamente em água bruta contaminada por *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Desinfecção

No século XVII o microscopista holandês Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) descobriu o mundo microbiológico (numa minúscula gota d'água um mundo incrível e até então desconhecido), alertando pela primeira vez para as descrições detalhadas de protozoários e bactérias presentes na água (LEEUWENHOEK, 1971).

Em meados do século XIX, cientistas começaram a desenvolver um novo olhar sobre a água e os possíveis contaminantes que não eram visíveis a olho nu, visto que a remoção de partículas da água através da filtração era considerada um meio eficaz de clarear e trata-la (PONTIUS; CLARK, 1999). A necessidade de se obter água limpa nesse período já era de entendimento de muitos, mas o que era preciso para se ter esse grau de limpeza ainda não era bem definido (BORCHARDT; WALTON, 1971).

Segundo Santos (1994), a cólera, considerada um marco profundo na história da humanidade devido a grande quantidade de mortes, foi também a causadora de grandes descobertas na área da medicina e no âmbito de saúde pública em especial no tratamento de água e esgoto. A explicação para a epidemia da cólera (*Vibrio cholerae*) em 1831 na Europa era baseada na teoria miasmática, onde emanações exaladas por água estagnadas, cadáveres ou qualquer outra matéria em decomposição em contato com pessoas suscetíveis ou enfraquecidas acabavam contraindo tal doença (SANTOS, 1994). A partir de 1854 o médico John Snow, por meio de experimentos conseguiu constatar empiricamente, a relação entre a água consumida e a transmissão da cólera (LIBÂNIO, 2008). Snow não identificou o bacilo causador, mas suas conclusões sobre a forma indireta de contágio puseram em dúvida a validade da teoria miasmática, sendo o médico e pesquisador alemão Robert Koch que décadas mais tarde descobriu as características gerais da cólera (SNOW, 1999). Até o fim do século XIX, apenas a cólera e a febre tifoide eram vinculadas à transmissão pela água. A partir da descoberta dos patógenos baseados nos trabalhos de Louis Pasteur, Ferdinand Cohn entre outros é que se tomou conhecimento de que muitas doenças eram causadas por microrganismos e que muitos estavam vinculados a água (SCHOENEN, 2002).

Com o aumento da incidência de doenças de veiculação hídrica, começaram a surgir às primeiras medidas em grande escala para o tratamento de água, destacando a filtração que

era utilizada para eliminar turbidez e odores e a cloração cujo objetivo era a desinfecção e que indubitavelmente contribuiu para tal fim (SOUZA, 2006).

Vários órgãos de saúde, legislações e pesquisadores tentam definir o conceito de desinfecção. Voltando ao século XIX, o termo desinfecção surgiu em 1844 significando a forma de remover o que é infecto, pestilento e o que causa mal cheio (LIBÂNIO, 2008). A Resolução RDC nº 59 de 2010, define que desinfecção é um processo físico ou químico que destrói a maioria dos microrganismos de objetos inanimados e superfícies, com exceção de esporos bacterianos (BRASIL, 2010)

A desinfecção tem por finalidade a destruição de parte ou todo um grupo de microrganismos patogênicos presentes na água, podendo ser bactérias, protozoários, vírus e vermes. Deve-se notar a diferença entre inativação e esterilização. Na inativação, os microrganismos pela ação do desinfetante tornam-se incapazes de se reproduzir e transmitir qualquer enfermidade, estando, portanto, inativados. A esterilização significa a destruição de todos os microrganismos, patogênicos ou não (RICHTER, 2009; LIBÂNIO, 2008).

O mecanismo da desinfecção depende, basicamente, da natureza do desinfetante e do tipo de organismo que se pretende inativar. Algumas espécies, como esporos e vírus são mais resistentes do que as bactérias (RICHTER; NETTO, 1991).

Usualmente, os níveis de redução do número de microrganismos patógenos podem ser representados pelo percentual da eficiência de remoção, pela fração remanescente ou pela escala logarítmica, segundo a Tabela 1.

Tabela 1: As formas de representação da eficiência da desinfecção

Eficiência de remoção (%)	**Fração remanescente (N/No)**	**Escala logarítmica (log N/No)**
90%	10^{-1}	-1
99%	10^{-2}	-2
99,9%	10^{-3}	-3
99,99%	10^{-4}	-4
99,999%	10^{-5}	-5

Fonte: Adaptado de HOYOS (2002) e DANIEL (2001).

Ao contrário da desinfecção, segundo Camargo (2004), a esterilização acontece quando há total eliminação de patógenos abaixo de um nível de medição especificado. A esterilização é definida como uma redução de contaminantes igual ou superior a 8 log (10^{-8} ou 99,999999%).

2.1.1 Mecanismos de Desinfecção

A ação dos desinfetantes sobre os microrganismos pode se dar sob três principais mecanismos. A primeira, a destruição ou danificação da organização estrutural da célula onde desinfetante atua sobre os constituintes da parede c1elular, que são destruídos ou danificados, gerando disfunções na ação da membrana semipermeável. O desinfetante age ainda combinando-se com os ácidos ribonucleicos, no interior do núcleo ou do citoplasma. A segunda é a interferência no nível energético do metabolismo que ocorre pela inativação de enzimas, competição com substratos de enzimas, entre outros. E por último, a interferência na biossíntese e crescimento devido à combinação de vários mecanismos, como síntese de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas ou células estruturais (STANIER et al, 1963).

Já segundo Daniel (2001), existem dois tipos predominantes de mecanismos de desinfecção no tratamento de água, sendo a oxidação, que ocasiona a ruptura da parede celular e a difusão no interior das células, que consequentemente interfere na atividade celular. Deste modo, a capacidade para oxidar moléculas biológicas e a capacidade de difusão, através da parede celular, são pré-requisitos primordiais para que o desinfetante seja considerado.

Ainda segundo Daniel (2001), a eficiência da desinfecção consiste no conjunto:

- Das características do desinfetante que relacionam a interação do desinfetante com as características físico-químicas e microbiológicas da água;
- Da dose do desinfetante e tempo de contato;
- Das características da água como turbidez, presença de matéria orgânica, presença de compostos inorgânicos, pH e temperatura;
- Da homogeneidade da dispersão do desinfetante na massa líquida seguindo a lei de Chick-Watson.

2.1.2 Cinética de Desinfecção

O primeiro modelo da desinfecção, e também o mais simples, foi estabelecido em 1908 pelo doutor Harriet Chick. Segundo ele, a taxa de reação é de primeira ordem em relação ao número de organismos sendo inativados pelo desinfetante, conforme a Equação 1.1.

$$\frac{dN}{dt} = -k \cdot N \qquad [1.1]$$

Considerando que N_0 é o número de organismos quando t=0, podemos integrar a Equação 2.1 nas condições com t=0, N=N_0 e t, N resultando na Equação 1.2:

$$ln\ \frac{N}{N_0} = -k \cdot t \qquad [1.2]$$

Em que:

dN/dt = taxa de variação do número (concentração) de microrganismos com o tempo;

N = concentração de microrganismos no tempo t (NMP/100ml);

N_0 = concentração de microrganismos no tempo t = 0 (NMP/100ml);

k = constante de decaimento ou inativação (T^{-1});

t = tempo de contato (T)

Segundo Daniel (2001), a Equação 1.2 somente é válida quando a população de microrganismos for homogênea, ou seja, uma cultura pura, sendo por escoamento pistão ou batelada de mistura completa, de forma que a distribuição do desinfetante e microrganismos seja homogênea, de forma que a concentração do desinfetante ao longo do processo seja constante e a constante *k* é válida para cada concentração de desinfetante, não sendo aplicada para outras concentrações.

Ainda em 1908, Herbert Watson relatou que a constante de inativação de microrganismos estava relacionada com a concentração do agente desinfetante, apresentando uma lei de decaimento semelhante a de Chick conforme a Equação 1.3 e 1.4

$$\frac{dN}{dt} = -k' \cdot C^n \cdot N \qquad [1.3]$$

$$k = k' \cdot C^n \qquad [1.4]$$

Em que:

k' = constante de decaimento bacteriano (T^{-1});

C = concentração de desinfetante (mg/L);

n = coeficiente de diluição.

Considerando a mesma analogia da Equação 1.2, onde integrando a Equação 1.4 nas condições t=0, N=N_0 e t, N, e considerando que a concentração de desinfetante não varia durante o tempo de contato, obtém-se a Equação 1.5:

$$ln\ \frac{N}{N_0} = -k \cdot C^n \cdot t \qquad [2.5]$$

Em que:

N = número de organismos no tempo t (NMP/100mL);

N_0 = número de organismos no tempo t = 0 (NMP/100mL);

k = constante de decaimento bacteriano (T^{-1});

C = concentração de desinfetante (mg/L);

n = coeficiente de diluição;

t = tempo de contato (T).

Em 1972, Leonard Hom apresentou o modelo empírico de decaimento de bactérias considerando a concentração do desinfetante e o tempo de contato, com a taxa de decaimento dada pela Equação 1.6:

$$\frac{dN}{dt} = -k' \cdot C^n \cdot t^{m-1} \cdot N \qquad [1.6]$$

Integrando os limites t=0, N=N_0 e t, N e considerando que a concentração de desinfetante é constante do tempo, obtém-se a Equação 1.7:

$$ln\ \frac{N}{N_0} = -k' \cdot t^m \qquad [1.7]$$

Sendo: $k' = k \cdot C^n$

N = número de organismos no tempo t (NMP/100mL)

N_0 = número de organismos no tempo t = 0 (NMP/100mL)

k' = constante de decaimento de Hom (T-1);

t = tempo de contato (T)

n = coeficiente de diluição

m = constante empírica

Através do coeficiente de diluição, n, é possível interpretar a importância do tempo de contato e da concentração de desinfetante em um determinado processo da desinfecção (RUBIN et al.,1983). A partir dos valores de n verifica-se:

- $n > 1$: redução da eficiência do desinfetante, com aumento da diluição;
- $n < 1$: maior interferência do tempo de contato na inativação;
- $n = 1$: igualdade de importância da concentração do desinfetante e do tempo de contato no processo da desinfecção.

Em geral se observam os seguintes fatos:

- Quanto maior a dosagem, menor o tempo para uma desejada porcentagem de inativação;
- Quanto maior o tempo de contato, maior é a inativação de microrganismos;
- Quanto maior a temperatura, maior eficiência na inativação de microrganismos.

2.1.3 Métodos de desinfecção

Os desinfetantes químicos constituem elementos ou compostos com potencial de oxidação, incluindo o cloro e seus compostos, dióxido de cloro e ozônio, como os mais extensivamente empregados em tratamento de água. Além destes, peróxido de hidrogênio, ácido acético, ácido peracético, bromo, iodo, permanganato de potássio e cloreto de bromo, constituem outros agentes químicos (LIBÂNIO, 2008).

Podem ser citados como agentes físicos na desinfecção da água a fotocatálise heterogênea que envolve a ativação de um semicondutor por luz, ou seja, apresentam ação referenciada à energia de radiação, destacando-se a radiação UV, a radiação gama, radiação solar e, em nível domiciliar, a fervura (DANIEL, 2001; LIBÂNIO, 2008).

Segundo Reiff e Witt (1995) e Spellman (1999), nos sistemas públicos de abastecimento de água, objetivam-se definir qual processo de desinfecção deve ser adotado, buscando a consecução dos seguintes objetivos:

- Máximo desempenho no sistema;
- Menor custo global;
- Atendimento ao padrão de potabilidade vigente e/ou às condições de segurança sanitária, visando minimizar os riscos de transmissão de doenças;
- Não deve adicionar gosto ou odor desagradável;
- Minimização da formação de subprodutos com possíveis efeitos deletérios à saúde humana;
- Os organismos patogênicos devem ser mais sensíveis à desinfecção que os nãos patogênicos;
- Máxima eficiência do desinfetante, considerando-se a amplitude de variação possível das características da água e do tempo de contato.

2.1.4 Desinfecção combinada

Segundo Daniel (2001), desinfecção combinada, comumente chamada de desinfecção interativa, implica no aproveito do efeito sinérgico de dois ou mais desinfetantes, devido à probabilidade do uso de apenas um desinfetante pode haver falhas em seu desempenho, como por exemplo, contra protozoários e organismos resistentes. Com isso, muitas pesquisas foram abordados com a combinação de desinfetantes que possam complementar o outro, conforme resultados apresentados na Tabela 2 abaixo:

Tabela 2: Combinações da desinfecção combinada e da qualidade da água bruta

Combinação Primário/secundário	**Aplicação típica**	**Comentários**
Cloro/cloro	Águas brutas de BPTHM*, baixo COT**, tratamento convencional	Sistema mais empregado Sistema eficiente
Cloro/cloraminas	Águas brutas de MPTHM*, tratamento convencional	Cloro para desinfecção Cloraminas para controlar a formação de subprodutos
Dióxido de cloro/dióxido de cloro	Alta produção de subprodutos, filtração para remover *Cryptosporidium*, baixa demanda de ClO_2 na água produzida	Usos requerem baixa dosagem de ClO_2 para limitar cloritos e cloratos
Dióxido de cloro/cloraminas	Águas brutas de APTHM*, filtração para remover *Cryptosporidium*	ClO_2 primário na dose mínima para cloritos e cloratos. Cloraminas para residual
Ozônio/cloro	Moderada formação de subprodutos, águas brutas de BPTHM*	Desinfecção eficiente com grande Log N/N0. Baixo PFTHM e cloro residual
Ozônio/cloramina	Moderada formação de subprodutos, águas brutas de BPTHM*	Desinfecção eficiente com Log N/N0 grande. Baixo PFTHM e cloro combinado
UV/cloro	Inativação de bactérias, vírus, fungos e protozoários Aplicável a águas subterrâneas de baixo PFTHM*	Pouco aplicado Desinfecção eficiente com Log N/N0 grande.
UV/ozônio	Inativação de bactérias, vírus, fungos e protozoários Aplicável a águas subterrâneas de baixo PFTHM*	Pouco aplicado. Desinfecção pouco eficiente.

Notas:

* APTHM, MPTHM, BPTHM: alto, médio e baixo potencial formador de THMs e HAAs, respectivamente.
** COT: carbono orgânico total

Fonte: Adaptado USEPA (1999); Lourenção (2009)

2.2 Cloro

Do grego "*chloros*" que significa verde, o cloro (Cl_2) ganhou este nome devido à sua aparência amarelo esverdeado quando em estado gasoso. Foi descoberto pelo cientista Carl William Scheele em 1774, quando tentava reagir o ácido clorídrico (HCl) com o dióxido de manganês (MnO_2), levantando a suspeita de que o gás resultante contivesse oxigênio (O_2) (PEREIRA, 2018). Em 1810, quase 40 anos depois, Humphry Davy mostrou que ele não podia ser decomposto e que o próprio ácido clorídrico era, na verdade, um composto de hidrogênio e cloro (PEIXOTO, 2003).

Ainda segundo Peixoto (2003), o cloro é encontrado em gases vulcânicos na forma de HCl, nos oceanos como íon cloreto Cl^- e também nos fluidos dos corpos de animais e seres humanos e como suco gástrico na forma de ácido clorídrico. Industrialmente, o cloro é preparado através da eletrólise de uma solução de cloreto de sódio (NaCl), da eletrólise de NaCl fundido, entre outros. Um dos seus principais compostos é o sal comum, NaCl que tem duas principais fontes, o sal de rocha cujas jazidas são mineradas e o sal que é evaporado através da água retirada do mar.

Conforme já abordado no tópico 2.1, o cloro desde os primórdios do século XIX, tem sido amplamente utilizado com o desinfetante de águas para consumo humano. Entretanto, com o passar dos séculos, as bactérias foram ganhando mais resistência devido aos usos indiscriminados de antibióticos e também foram sofrendo mutações que as tornaram mais resistentes ao processo de desinfecção por cloro. Além da baixa eficiência que o cloro vem apresentando como desinfetante, este possui a capacidade de gerar subprodutos que são tóxicos e podem ser fatais ao homem.

Quando se adiciona cloro na água, ocorre a formação de ácido hipocloroso (HOCl) e ácido clorídrico (HCl):

$$Cl_2 + H_2O \leftrightarrow HOCl + HCl \qquad [1.8]$$

Para valores de pH acima de 4,0, o equilíbrio se desloca para a direita e a quantidade de Cl_2 que existe na solução é pequena. O ácido hipocloroso sofre ionização em uma reação praticamente instantânea, formando íon hidrogênio (H^+) e íon hipoclorito (OCl^-), sendo que o grau de ionização depende do pH e da temperatura.

$$HOCl \leftrightarrow H^+ + OCl^- \qquad [1.9]$$

Para valores de pH inferiores a 6,0 predomina o ácido hipocloroso; porém, à medida em que a temperatura e o pH se elevam, aumenta o grau de ionização do ácido e consequentemente, a concentração do íon hipoclorito. Para valores maiores que 9,6 e a temperatura de 20°C, praticamente todo ácido hipocloroso sofreu ionização. O ácido hipocloroso e o íon hipoclorito são denominados cloro livre. O hipoclorito de sódio (NaOCl) e de cálcio $Ca(OCl)_2$ também produzem íon hipoclorito, o qual estabelecerá um equilíbrio com o íon hidrogênio da mesma forma que a Equação 1.8.

$$NaOCl + H_2O \rightarrow Na^+OCl^- + H_2O \quad [2.0]$$

$$Ca(OCl)_2 + H_2O \rightarrow Ca^{2+} + 2OCl^- + H_2O \quad [2.1]$$

Portanto, independentemente de se utilizar o cloro gasoso ou hipocloritos o equilíbrio entre o ácido hipocloroso e o íon hidrogênio se estabelecerá conforme equação [1.9] (ZARPELON; RODRIGUES, 2002; DEGREMONT, 1979)

Segundo Zarpelon e Rodrigues (2002), não se sabe ao certo com precisão de que forma o cloro atua como desinfetante sobre patógenos. Uma das teorias mais difundidas se refere à reação do ácido hipocloroso (HOCl), com um sistema enzimático (possivelmente sobre triosefosfato dihidrogenase) que é essencial na oxidação da glicose processo este muito importante para o metabolismo celular bacteriano.

> Comprovadamente o ácido hipocloroso (HOCl) exerce maior ação desinfetante que o íon hipoclorito (OCL^-), o que se explica pela maior facilidade de penetração do ácido através da parede celular, por ser uma molécula pequena e neutra. O íon hipoclorito por sua vez tem maior dificuldade em atravessar a parede celular e atingir o sistema enzimático em função da sua carga negativa. Portanto, é possível que a maior dificuldade na eliminação das formas esporuladas se deva à resistência a penetração do agente desinfetante oferecido pelo seu envoltório de proteção (ZARPELON; RODRIGUES, 2002, p.20).

A presença de amônia e compostos amoniacais na água quando adicionado o cloro, são formados compostos clorados ativos, denominados de cloraminas, ou seja, o cloro na forma de cloramina é denominado cloro residual combinado (MEYER, 1994). As reações do ácido hipocloroso com a amônia ocorrem de acordo com as Equações 2.1, 2.2 e 2.3.

$$NH_3 + HOCl \rightarrow NH_2Cl + H_2O \quad [2.2]$$

$$NH_2Cl + HOCl \rightarrow NHCl_2 + H_2O \quad [2.3]$$

$$NHCl_2 + HOCL \rightarrow NCl_3 + H_2O \quad [2.4]$$

As reações acima são governadas pelo pH e temperatura da água, fatores intervenientes na dissociação do ácido hipocloroso, além das próprias concentrações de amônia e do cloro. As monocloraminas (NH_2Cl), dicloraminas ($NHCl_2$) e tricloraminas ($NC1_3$) contribuem para a concentração do cloro residual combinado. Desta forma, o cloro total disponível constitui-se no somatório entre o cloro livre ($HOC1 + OC1^-$) e o combinado (LIBÂNIO, 2010).

Segundo Meyer (1994), o cloro residual (cloro residual combinado) inicialmente aumenta com o aumento do cloro aplicado, passando por um máximo, e, em seguida, diminui até um mínimo; a partir deste mínimo, o cloro residual, agora sob a forma de cloro residual livre, aumenta proporcionalmente com a quantidade de cloro aplicada. O ponto de inflexão encontrado é chamado de *breakpoint* (cloração ao *breakpoint*). Com o início da cloração, o nitrogênio amoniacal consome o cloro na formação de cloraminas. O ponto máximo é atingido quando toda a amônia disponível se combinou com o cloro para a formação de cloraminas. Como são compostos quimicamente instáveis, quando a curva atinge o máximo, com a continuação da adição de cloro à água as cloraminas são oxidadas e destruídas, formando produtos inertes, como N_2 e HCl. O ponto mínimo de inflexão é atingido depois da destruição das cloraminas, conforme a Figura 1:

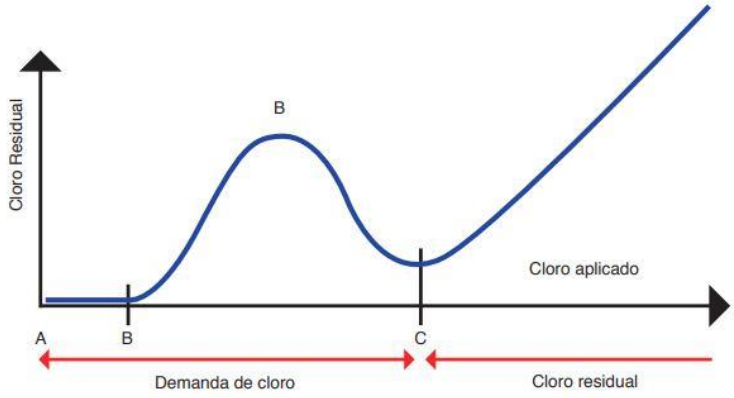


Figura 1: Processo de cloração
Fonte: BRASIL (2014)

Entre AB o cloro introduzido na água é imediatamente consumido na oxidação da matéria orgânica e inorgânica. Enquanto esses compostos não forem totalmente destruídos, não ocorrerá desinfecção e o cloro residual será nulo. Entre os pontos BB, o cloro combina-se com compostos nitrogenados, produzindo cloro residual combinado. São as cloraminas. A queda da curva representada entre B e C, é quando o cloro oxida as cloraminas formadas na fase anterior, reduzindo os teores de cloro residual combinado. E do ponto C em diante é

completada a oxidação do cloro residual combinado, elevam-se os teores de cloro residual livre, mais eficaz como desinfetante (BRASIL, 2014).

Os trihalometanos em estado puro são substâncias líquidas (clorofórmio, bromofórmio) ou sólidas (iodofórmio) pouco solúveis em água, mas muito solúveis em diluentes orgânicos (ZARPELON; RODRIGUES, 2002).

A cloração está associada a numerosos subprodutos. As classes desses compostos incluem: trihalometanos (THMs), ácidos haloacéticos (HAAs), halocetonitrilas, halopicrin, cloreto e brometo de cianogênio, cloral hidrato, MX e outros. Embora, esses sejam apenas uma pequena porcentagem dos haletos orgânicos totais (TOX), o que indica que há vários outros subprodutos orgânicos halogenados que não são detectados. Os THMs e HAAs são considerados os principais subprodutos associados com o cloro e os Mx são considerados os principais mutagênicos (SOUZA, 2006) e carcinogênicos (DEGREMONT, 1979).

O valor máximo permissível (VMP) para THM somente foi estabelecido na Portaria 36 em 1990 que dispõe sobre normas e o padrão de Potabilidade da Água destinada ao Consumo Humano, mantido pela Portaria 2.914 de 2011 que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, onde foi acrescido de outros quatro subprodutos incluindo o bromato. Assim como o padrão americano inclui valor máximo para HAA, procedimento não seguido pelo canadense, a Portaria 2.914 brasileira estabelece este limite. Novamente reportando-se aos Guias da OMS, foram inseridas cinco novas substâncias em termos de subprodutos com interessante variação. O valor máximo para THM total no anexo VII da Portaria supracitada, é de 0,1 mg/L, onde discriminam-se quatro subprodutos: clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio. E para os HAA total temos como valor máximo permitido 0,08 ml/L, tendo como subprodutos o ácido monocloroacético, ácido monobromoacético, ácido dicloroacético, ácido 2,2 – dicloropropiônico, ácido tricloroacético, ácido bromocloroacético, 1,2,3, tricloropropano, ácido dibromoacético e ácido bromodicloroacético.

Segundo Libânio (2010), em relação aos subprodutos da desinfecção surgiu-se uma preocupação nos EUA e estendeu-se aos países desenvolvidos onde não foi difundida - por conta da infraestrutura sanitária já consolidada e também por diferenças climáticas - endemias de transmissão hídrica comuns nos países em desenvolvimento, especialmente os localizados entre os dois trópicos. Nesta vertente insere-se o exemplo do sistema de abastecimento de

água de Amsterdam, no qual não se confere cloro residual na rede de distribuição (em etapa alguma do processo de tratamento este desinfetante faz-se presente). A despeito da inexistência de reservatórios domiciliares - situação similar de outros países como EUA e Canadá -, impondo a manutenção de pressões positivas na rede, as menores possibilidades de disseminação de algumas doenças de transmissão hídrica favorecem este modelo operacional. Desta forma, nos países em desenvolvimento o controle do risco biológico deve se sobrepor ao risco químico, cujo equilíbrio, em função da dosagem de desinfetante, exemplifica-se teoricamente por meio da Figura 2.

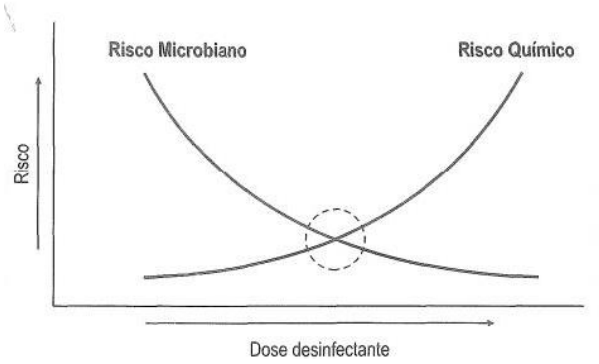


Figura 2: Risco biológico e formação de subprodutos
Fonte: LIBÂNIO (2010)

Esta premissa foi contemplada nos Guias da OMS que enfatizam a importância da manutenção do cloro residual nas redes de distribuição - para minimizar o recrudescimento microbiológico - e o fato dos riscos à saúde decorrentes da formação de subprodutos da desinfecção serem significativamente inferiores aos biológicos na perspectiva de disseminação de doenças de transmissão hídrica (LIBÂNIO, 2010).

No artigo 34 da portaria 2.914 de 2011, consta que é obrigatória a manutenção de, no mínimo, 0,2 mg/L de cloro residual livre ou 2 mg/L de cloro residual combinado ou de 0,2 mg/L de dióxido de cloro em toda a extensão do sistema de distribuição (reservatório e rede). Conhecer o teor de cloro ativo que permanece após a definição (cloração) da água, permite garantir a qualidade microbiológica da água, ou seja, se ela está em condições de uso (MACEDO, 2005).

A portaria de consolidação nº 5 de 2017 do Ministério da Saúde, também traz que a relevância do indicador do residual de cloro livre, permite avaliar a eficácia da água utilizada para consumo humano e da manutenção de teor mínimo para inativação dos patogênicos, pois previne a propagação de doenças por veiculação hídrica.

O processo de desinfecção utilizando os dois métodos (cloração e radiação UV) é justificado no artigo 35 da portaria 2.914 de 2011, onde dispõe que no caso do uso de ozônio ou radiação ultravioleta como desinfetante, deverá ser adicionado cloro ou dióxido de cloro, de forma a manter residual mínimo no sistema de distribuição (reservatório e rede), de acordo com as disposições do art. 34 supracitado.

2.3 Radiação Ultravioleta

Os primeiros cientistas a relatarem que a luz solar tinha a capacidade de destruir bactérias maléficas aos seres humanos foram Downes e Blunt em 1877. Eles não sabiam se esse efeito era causado pelo calor da radiação solar ou por alguma outra característica. Só mais tarde Duclaux, em 1885, e Ward, em 1892, demostraram que a radiação ultravioleta era responsável pela ação bactericida (OKUNO, 2005).

Ainda segundo o autor Okuno (2005), dois colaboradores V. Bie e S. Bang estabeleceram em 1900 que ondas eletromagnéticas com comprimento de onda menor do que 300 nm, em especial as de 250 nm, eram as mais eficientes para matar bactérias.

A radiação UV é dividida em três bandas conforme Figura 3, que são relacionadas com o comprimento de onda, sendo UVA (320 a 400nm), UVB (280 a 320nm) e UVC (200 a 280nm). Na Figura 7 consta a divisão do espectro visível, sendo o Raio X, a Ultravioleta e a Luz visível, onde o comprimento de onda normalmente utilizado pelas lâmpadas UV é de aproximadamente 254nm.

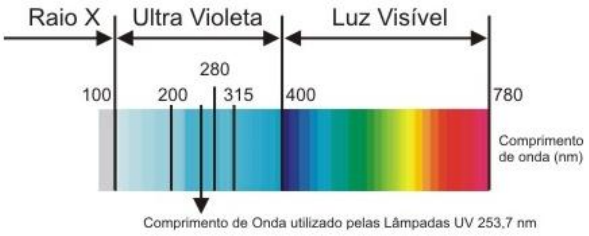


Figura 3: Comprimentos de onda
Fonte: Natural Tech (2018)

O sistema de UV é composto por alguns principais componentes: lâmpada de mercúrio, um reator e um quadro de controle. A origem da radiação UV é lâmpada de arco de mercúrio de baixa e média pressão com baixa ou alta intensidade. Exceto a exagerada exposição ao sol, a luz ultravioleta (UV-C) não causa danos à saúde ou meio ambiente (CHEIS, 2013).

Segundo Cheis (2013), existem dois tipos de lâmpadas UV que são: as de baixa pressão (monocromáticas), amálgama e as lâmpadas de média pressão (policromáticas). O tipo mais comum são as lâmpadas de baixa pressão, que possuem um tubo de quartzo e dois filamentos de tungsténio e contém 60mg de mercúrio a 10 Torr, aproximadamente, e apresenta uma eficácia de 25 a 30%, dependendo da temperatura da água. As lâmpadas amálgama contém mais de 120 mg de mercúrio em cada lâmpada, aproximadamente (amálgama de mercúrio) e uma eficácia superior a 35%, no entanto, necessita de mais tempo para alcançar o máximo de rendimento. Com capacidade germicida de 15 a 20 vezes mais intensa, as lâmpadas de média pressão desinfecta rapidamente, devido a intensidade consegue furar a membrana das células, entretanto, tem um consumo de energia elevado.

A luz ultravioleta (UVC) é uma tecnologia de intervenção aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*) que pode ser usada para inativar bactérias patogênicas em alimentos líquidos, água, superfícies de contato com alimentos e superfícies de alimentos (SOMMERS et al, 2016).

O sistema de desinfecção por ultravioleta tem sido utilizado com segurança em hospitais, clínicas, laboratórios e indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas, de laticínios e outras, há mais de cinquenta anos. Aparelhos domésticos de radiação ultravioleta na Europa e EUA se tornaram populares devido à tendência do uso em piscinas substituindo o cloro formador de cloraminas (THMs) (NATEURALTECH, 2018).

A água utilizada nos processos de produção de hospitais, clínicas, laboratórios e indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas, de laticínios e outras, deve ser tratada a fim remover toxinas, materiais de risco biológico e qualquer tipo indesejável de matéria orgânica, além de evitar gostos residuais, cores ou reagentes que possam afetar outra parte da produção (ABEQ, 2014).

Ainda segundo ABEQ (2014), a questão da biossegurança sob os pontos de vista tanto do fornecedor quanto do consumidor é constituído de um equilíbrio entre promover um sistema de tratamento apropriado, enquanto assegura um custo viável, sendo a luz ultravioleta, um tratamento ideal para essas aplicações. Quando um sistema UV tem como um alvo específico, seja uma bactéria, vírus ou outro material biológico, a dose mínima exata para atingir a redução necessária desse material é garantir sua eficácia, levando em consideração também a potência de energia da fonte de UV, a taxa de fluidez da substância na câmara de

tratamento, o valor da transmissão (habilidade de transmitir luz UV) do fluido sendo tratado e a geometria da câmara.

Jermann et al. (2015) listaram 12 tecnologias inovadoras para a conservação de alimentos, identificando o potencial de uso comercial de cada uma no momento atual e nos próximos anos, sendo a luz ultravioleta a terceira na listagem.

> A baixa relação de investimento e custo operacional (CAPEX x OPEX) do UV está sendo visto hoje no mercado com bons olhos, pois devido à conscientização das empresas públicas e privadas e as novas normas ambientais, implantar um sistema de cloro requer muito mais investimento do que no passado. Isso porque, hoje é necessária a construção de áreas de contenção de vazamentos, plano de evacuação e emergência para a operação, circulação de caminhões com cloro em áreas populosas, além dos custos de civil gerados pela necessidade de grandes áreas de contato (FREITAS, 2013, p. 1).

Atualmente no Brasil e outros países, existem inúmeras empresas que comercializam equipamentos de desinfecção de água por radiação ultravioleta para uso doméstico. No entanto, é preciso avaliar aonde e como será usada a tecnologia por luz ultravioleta, pois não se deve ter substituição total do cloro, primeiro, porque na legislação atual, há necessidade de adição do cloro residual na água, e, segundo, em alguns casos, como por exemplo, na desinfecção da água para consumo humano, muitas vezes não há recirculação constante e a água parada, sem o cloro, fica 100% desprotegida. Isto é, se água vai ser armazenada será indispensável um tratamento posterior, por exemplo, a dosagem de químicos com efeito residual como bactericida (CHEIS, 2013).

Nos países de primeiro mundo, segundo Freitas (2013), utiliza-se um modelo de equipamento que pode ser instalado nas pias de cozinha como um filtro convencional. Na indústria é diferente porque muitas vezes o uso da água e o tratamento se realizam em linha ou há um sistema de tratamento sobre recirculação de água nos tanques de armazenamento

A diferença da tecnologia de UV em relação ao uso industrial e doméstico existe apenas nos modelos oferecidos que podem ser de reatores fechados e canais abertos. O que difere é a forma de aplicação da tecnologia, cujos fatores já mencionados, dependem do uso constante ou não do efluente ou, em outros casos, que precisem de maiores doses para tipos de desinfecções, etc. (CHEIS, 2013).

A atividade agropecuária é grande consumidora de água e geradora de resíduos, e o meio agrícola não é contemplado com abastecimento de água potável, coleta e tratamento de

esgotos e dejetos. O binômio fossa-poço e a disposição não controlada de dejetos animais em solos é realidade no meio rural brasileiro, ocasionando contaminação ambiental e problemas de saúde pública (BERTONCINI, 2008). Com isso, pesquisas com água de reuso para irrigação na agricultura tem se mostrado promissor. Em Israel, por exemplo, aproximadamente 75% da vazão de efluente sanitário é reutilizada, principalmente para agricultura (JUANICÓ, 2007). Na Jordânia, 90% da vazão do efluente sanitário é reutilizada para irrigação (ONU, 2017).

Em tese apresentada sobre reuso de água residuária tratada na irrigação da cultura do pimentão, Duarte (2006), constatou que entre os tratamentos estudados (filtração, injeção de CO_2 e radiação ultravioleta), o tratamento UV foi o mais eficiente na remoção de *E.coli*, uma vez que nesse tratamento não apresentou indícios dessas bactérias. O processo de desinfecção com radiação ultravioleta é viável em águas de abastecimento ou residuárias com baixa concentração de sólidos suspensos, matéria orgânica e turbidez, e consequentemente baixa absorbância (COLLETI, 2003). Questão essa comprovada por Daniel (1989) onde aplicou radiação ultravioleta em esgoto sanitário pré-decantado e diluído utilizando instalação piloto. Com base nos resultados obtidos durante o trabalho, concluiu que os sólidos em suspensão apresentam significativa influência sobre a eficiência de desinfecção e que a distribuição dos seus tamanhos possivelmente exerça maior influencia que a concentração total.

Outro exemplo de aplicação de radiação ultravioleta para tratamento de água residuária, foi realizado por Blatchley et al. (1996) operaram um sistema de desinfecção com radiação ultravioleta em uma estação de tratamento de água em West Lafayette, Indiana, em escala piloto, em paralelo com um sistema de cloração já existente no local em escala real, para comparação do desempenho dos dois processos. O nível de tratamento existente na estação era secundário e a desinfecção era realizada somente por cloração. Para a estação analisada, com relação ao emprego da desinfecção por radiação ultravioleta, mostrou-se ser uma alternativa confiável, alcançando efetiva inativação de bactérias coliformes. Ao contrário da desinfecção por cloração, que não alcançou o limite permitido pela legislação dos Estados Unidos da América com relação à concentração de coliformes no efluente.

Em uma célula básica de bactéria, o que interessa é a parede da célula, a membrana citoplasmática e o ácido nucleico, pois o alvo principal da desinfecção por luz ultravioleta é o material genético, também chamado ácido nucleico. Os microrganismos são destruídos quando a luz penetra a célula e é absorvida pelo ácido nucleico. Esta absorção provoca um

rearranjo da informação genética que interfere com a capacidade de reprodução da célula. Os microrganismos são inativados pela luz UV resultado de um dano fotoquímico ao ácido nucleico (NATURALTECH, 2018).

Os efeitos biológicos da radiação UV derivam da excitação e não da ionização de moléculas (KAREL; LUND, 2003). A energia, meio germicida, não fornece radioatividade residual como a radiação ionizante (radiação gama). No comprimento de onda germicida, a radiação UV é suficiente para causar deslocamento físico de elétrons e quebra de ligações no ácido desoxirribonucleico (DNA) dos microrganismos. Conforme Figura 4, este processo altera seu metabolismo e reprodução, ou seja, há injúria aos sistemas de reprodução das células e as levam à morte (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004).

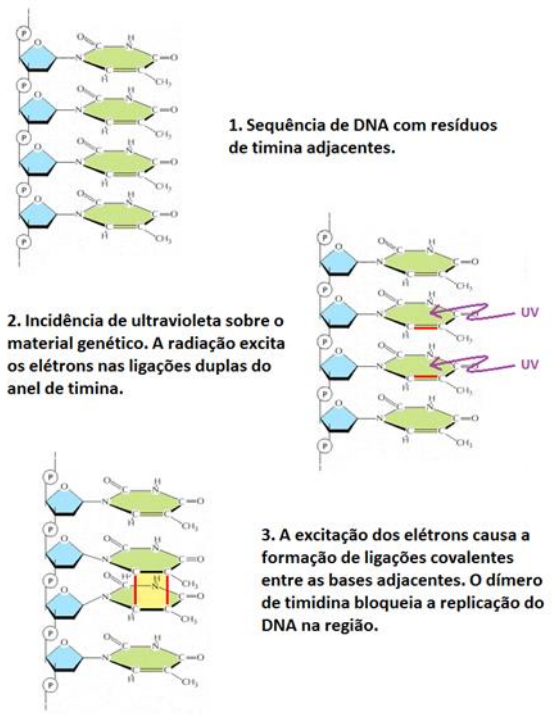


Figura 4: Formação de dímeros de timina pela incidência de UV
Fonte: ALBERTS et al (2002)

Segundo Aguiar (2000), até o momento, não foram estabelecidos valores de doses mínimas a serem adotados na descontaminação com radiação UV para água. Essa definição está vinculada a diversas características particulares de cada sistema, dentre as quais se destacam:

- Características físico-químicas da água;
- Nível de contaminação;
- Impacto sobre os microrganismos das etapas de tratamento anteriores ao UV.

Em geral, para água potável e efluentes tratados se usam dosagens de 30 a 100 mJ/cm^2 que relaciona intensidade da lâmpada de ultravioleta com tempo de exposição. Na Tabela 3 consta que a dose para controle de 99,9%, ou seja, 3 log, para *Escherichia coli* é de 7,0 $\mu Ws/cm^2$ (mJ/cm^2) e para *Pseudomonas aeruginosa* é de 10,5 $\mu Ws/cm^2$ (mJ/cm^2).

Tabela 3: Dose de radiação (mJ/cm^2) necessária para obtenção de eficiência de 99,9%

Espécie	Dose	Espécie	Dose
Bactérias		*Streptococcus lactase*	8,800
Bacillus anthracis	8,700	*Streptococcus viridans*	3,800
B. enteritidis sp. (vegatative)	7,600	*Vibrio cholerae*	6,500
B. Megatherium sp. (spores)	52,000	**Fungos**	
B. paratyphosus	6,100	*Aspergillus flavus*	99,00
B. subtilis (vegatative)	11,000	*Aspergillus glaucus*	88,000
B. subtilis (spores)	58,000	*Aspergillus niger*	330,000
Clostridium tetani	22,000	*Mucor racemosus A*	35,200
Corynebacterium diphtheria	6,500	*Mucor racemosus B*	35,200
Eberthella typhosa	*4,100*	*Oospora lactis*	11,000
Escherichia coli	7,000	*Penicillium digitatum*	88,000
Leptospira interrogans	6,000	*Penicillium expasum*	22,000
Micrococcus candidus	12,300	*Penicillium roqueforti*	26,400
Micrococcus sphaeroides	15,400	*Rhizopus nigricans*	220,000
Mycobacterium tuberculosis	10,000	**Algas/Protozoários**	
Neisseria catarrhalis	8,500	*Chorella vulgaris (algae)*	22,000
Phytomonas tumefaciens	8,500	*Nematode eggs*	92,000
Proteus vulgaris	6,600	*Paramecium*	200,000
Pseudomonas aeruginosa	10,500	**Vírus**	
Pseudomonas fluorescens	6,600	*Bacteriophage (E.coli)*	6,600
Salmonella enteritidis	7,600	*Hepatitis virus*	8,000
Salmonella paratyphi	6,100	*Influenza virus*	6,600
Salmonella typhimurium	15,200	*Pollio virus*	6,000
Salmonella typhus (Typhoid)	6,000	*Rotavirus*	24,000

Sarcina lutea	26,400	*Tobacco mosaic*	440,000
Serratia marcesnces	6,200	**Levedos**	
Shigella dysenteriae	4,200	Levedo de padaria	8,800
Shigella paradysenteriae	3,400	Levedo de cerveja	6,600
Spillum rubric	6,160	Levedo de bolo	13,200
Staphylococcus albus	5,720	*Saccharomyces cerevisiae*	13,200
Staphylococcus aureus	6,600	*Saccharomyces ellipsoideus*	13,200
Streptococcus hemolyticus	5,500	*Saccharomyces sp.*	17,600

Fonte: Adaptado Lobo (2008) apud Edstrom Industries (2003)

Segundo Daniel (2001), uma adversidade que pode ocorrer com a utilização de radiação UV é a recuperação de parcela dos microrganismos inativados. Isso significa que, sob a irradiação de luz na faixa do visível, pode ocorrer reversão das reações fotoquímicas e os microrganismos podem recuperar a atividade. Esse mecanismo permite que microrganismos irradiados recuperem-se caso tenham recebidos dose subletal de radiação ultravioleta.

Ao longo de seu processo evolutivo, os microrganismos desenvolveram mecanismos bioquímicos próprios capazes de regenerar células lesadas na presença e ausência de luz (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996; MENCK; MENEGHINI, 2015). O fenômeno descoberto por Kelner e Dulbecco em 1949 é conhecido como fotorreativação, e por décadas diversos cientistas aprimoraram os estudos sobre o reparo do DNA após radiação com luz ultravioleta (MENCK; MENEGHINI, 2015).

2.4 Microrganismos indicadores da qualidade da água

As bactérias são microrganismos procariontes. Algumas têm papéis importantes na natureza, como nos processos de decomposição e fermentação da matéria orgânica, enquanto outras são prejudiciais à saúde humana. Os seres procariontes são caracterizados por uma estrutura celular simples desprovidos de membrana nuclear. O envoltório celular destes organismos é formado pela membrana citoplasmática e pela parede celular. A membrana citoplasmática é uma estrutura altamente especializada, constituída de lipídeos e proteínas (MATOS; PACHECO, 2002).

Bactérias são organismos unicelulares, classificados geralmente pela forma de bacilos, cocos e espirilos. Variam em tamanho de 0,5 a 5 µm. A maior parte é inofensiva, porém algumas espécies encontradas na água são patogênicas (RICHTER, 2009).

Por questões de viabilidade prática, técnica e econômica, é ilusório examinar todos os potenciais organismos patogênicos presentes na água. Tradicionalmente são usados microrganismos indicadores para sugerir a ocorrência de contaminação fecal, verificar a eficiência de processos de tratamento de água e esgoto e possível deterioração ou pós-contaminação da água no sistema de distribuição (SOUZA, 2006).

Contudo, uma classe importante de bactérias indicadoras é representada pelos coliformes. A prática de controle microbiológico de qualidade da água de consumo no Brasil se fundamenta no controle da presença de bactérias do grupo coliformes. Tal controle se baseia na lógica de organismos indicadores, a partir 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. O extensivo emprego dos coliformes fecais como indicadores microbiológicos de qualidade da água é fundamentado pela inexequibilidade do monitoramento individual dos diversos parasitos presentes nas águas naturais (DANIEL, 2001).

Os coliformes se encontram largamente espalhados no meio ambiente e nas fezes humanas e dos animais de sangue quente (RICHTER, 2009). O grupo de coliformes pode ser definido como totais e fecais. O grupo de coliformes totais inclui cerca de 20 espécies de bactérias na forma de bacilos Gram negativos, não esporogênicos anaeróbios ou aeróbios facultativos, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato gastrintestinal, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas. Por essa razão, para a indicação de contaminação fecal, a quantificação em água e alimentos dos coliformes totais é menos representativa quando comparada aos coliformes fecais ou *E. coli* que representa cerca de 95% dos coliformes existentes (SILVA, 2002).

Todavia, a despeito dos avanços, tem sido constatada a fragilidade deste controle. Embora de grande praticidade, o teste de coliformes não garante a ausência de outros patogênicos nas águas, mais resistentes que as bactérias (DANIEL, 2001). Preocupações mais recentes com o potencial patogênico das águas de consumo vêm se dirigindo a outras bactérias, como *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas spp*., *Legionella spp*., *Mycobacterium spp*.

e *Pseudomonas aeruginosa*, além de diversos tipos de vírus entéricos, protozoários e cianobactérias (DANIEL, 2001; SZEWZYK et al., 2000).

2.4.1 *Escherichia coli*

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35-37ºC, por 48 horas. São bacilos gram-negativos e não formadores de esporos; fazem parte desse grupo predominantemente bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como hábitat primário o trato intestinal do homem e animais homeotérmicos. O *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como na vegetação e no solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Samonella* e *Shigella*. Conseqüentemente, a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (CUNHA; SILVA, 2006).

De acordo com Franco e Landgraf (2003) as bactérias pertencentes ao grupo de coliformes fecais e *Escherichia coli*, correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubadas a temperaturas de 44- 45ºC. Os critérios microbiológicos que envolvem *E.coli* são úteis quando é desejável determinar se houve contaminação fecal. Atualmente, ao invés de enumerar os coliformes fecais e *E.coli* alguns laboratórios estão preferindo enumerar as bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* como um todo, isto é, as fermentadoras e não fermentadoras de lactose, pois números falsos seriam obtidos ao se verificar apenas a presença de microrganismos fermentadores de lactose, quando a população fosse constituída, na sua maioria, por microrganismos não fermentadores, incluindo-se aqui as salmonelas lactose-negativas ou outros fermentadores tardios desses açúcares (CUNHA; SILVA, 2006).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a *E.coli* é uma bactéria normalmente encontrada no intestino de humanos e animais de sangue quente. A maioria das cepas de *E.coli* são inofensivas. No entanto, algumas delas, podem causar doenças como a diarreia, dor abdominal, febre e, às vezes vomito (OPAS, 2018).

A espécie *E.coli* classificada como bacilo Gram-negativo flagelado, conforme Figura 5 possui uma grande capacidade de causar doenças em humanos devido ao fato de possuírem

fímbrias ou adesinas que permitem sua eficaz fixação e pode atingir quase todos os sistemas do organismo, como o sistema digestivo, sistema nervoso, sistema urinário e a corrente sanguínea, causando desde gastroenterite até meningite severa, (OLIVEIRA; REYGAERT, 2019). As enterobactérias são capazes de fermentar a glicose, podendo produzir gás ou não (muito utilizado para método presuntivo), são aeróbias ou anaeróbias facultativas e conseguem reduzir o nitrato (NO_3) para nitrito (NO_2) (ANVISA, 2008).

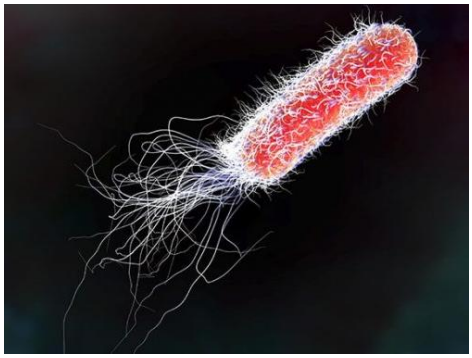


Figura 5: Bactéria *E. coli*
Fonte: OPAS (2018)

No Informe lançado em fevereiro de 2019 pelo Ministério da Saúde, envolvendo a Secretaria de Vigilância em Saúde, o Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis e a Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis, foi traçado um perfil epidemiológico de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. A Doença Transmitida por Alimento (DTA) é uma síndrome geralmente constituída de anorexia, náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhada ou não de febre, relacionada à ingestão de alimentos ou água contaminados. Os sintomas digestivos não são as únicas manifestações, podendo ocorrer afecções extra intestinais em diferentes órgãos, como rins, fígado, sistema nervoso central, dentre outros (BRASIL, 2019).

As doenças relacionadas à água dividem-se em quatro grupos que dependem de como ocorre a transmissão. As doenças de veiculação hídrica, propriamente ditas, constituem o grupo no qual o agente patogênico é ingerido junto com a água. Relacionam-se também com a água as doenças passíveis de ser transmitidas durante atividades de higiene pessoal, no contato com água contaminada, e as doenças cujo vetor apresenta parte de ser ciclo desenvolvido no ambiente aquático (CAIRNCROSS; FEACHEM, 1990).

Analisando-se a Figura 6, observa-se que, de 2.403 surtos de DTA no Brasil de 2009 a 2018, 21,2% foi através da água, ocupando o segundo lugar. Os demais foram provenientes

de alimentos como carnes, hortaliças, leite e derivados, ou seja, quase 500 surtos são oriundos da água. Não se pode descartar a possibilidade que os 78,8% restantes tenham sido contaminados pela água através da irrigação, lavagem e dessedentação dos animais.

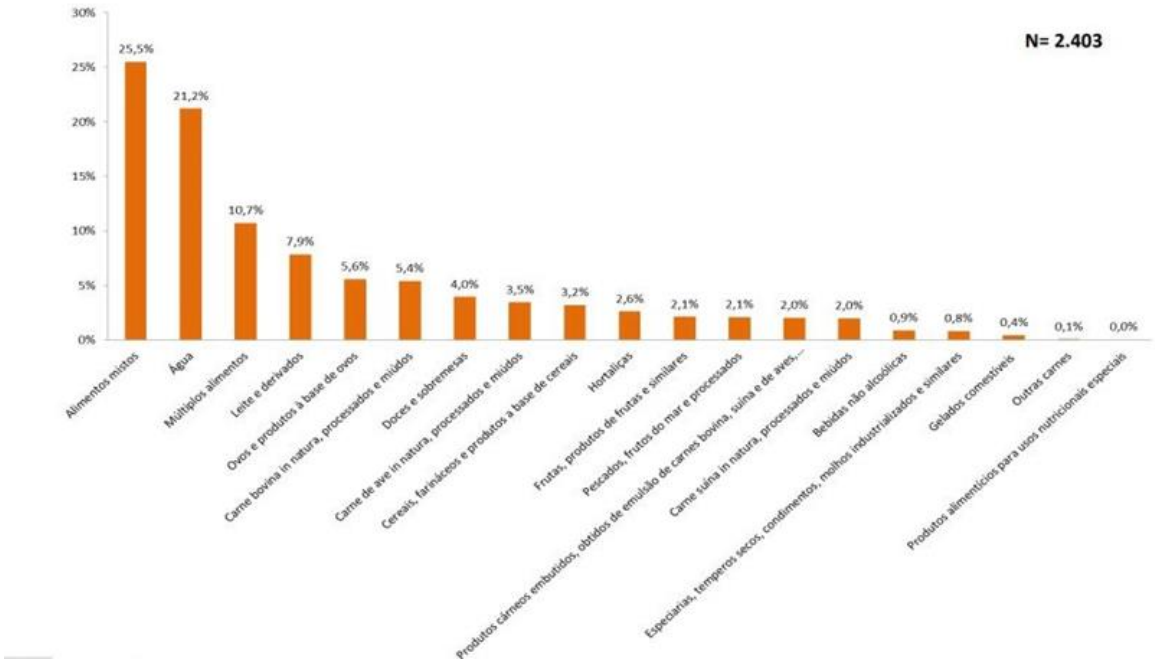


Figura 6: Distribuição dos alimentos incriminados em surtos de DTA
Fonte: BRASIL, 2019 (adaptado de Sinan/SVS/Ministério da Saúde)

Analisando-se a Figura 7, observa-se que, de 2.030 surtos de DTA no Brasil de 2009 a 2018, 24% foi ocasionado pela *E.coli*, ocupando o primeiro lugar entre os 10 agentes etiológicos identificados, o que justifica ainda mais a necessidade de analisar essa bactéria indicadora.

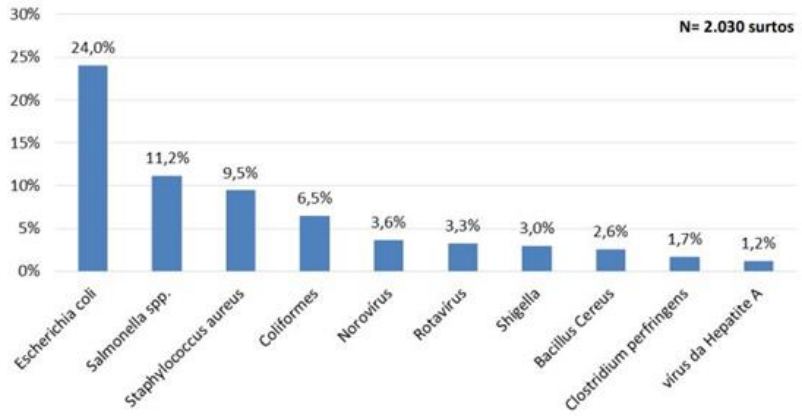


Figura 7: Distribuição dos 10 agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA
Fonte: BRASIL, 2019 (adaptado de Sinan/SVS/Ministério da Saúde)

A portaria nº 2.914 de 2011 que dispõe sobre a qualidade da água para consumo humano e revogou a portaria nº 518 de 1994, estabelece que a água potável esteja em conformidade com o padrão microbiológico, determinando a ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* em 100 mL e bactérias heterotróficas em menos que 500 UFC/mL.

As cepas patogênicas de *E.coli* são categorizadas em seis patótipos, estando associadas à diarreia e coletivamente são referidos como *E.coli* diarreiogênica (CDC, 2014), sendo elas a Shiga Enterohemorrágica (STEC/EHEC) ou Verocitotóxica (VTEC), Enterotoxigênica (ETEC), Enteropatogênica (EPEC), Enteroinvasora (EIEC), Enteroagregativa (EAEC) e Difusamente aderente (DAEC) (SOUTO, 2011). Os patótipos são as combinações de *E.coli* que adquiriram atributos específicos de virulência que proporcionaram uma maior capacidade de adaptação a novos nichos e um maior espectro de doenças. Apenas as combinações mais bem sucedidas de fatores de virulência persistiram para se tornarem os patótipos (KAPER et al, 2004).

A Shiga Enterohemorrágica (STEC/EHEC) foi a primeira cepa da *E.coli* a ser reconhecida como uma doença humana em 1982 (KAPER et al, 2004). Caracteriza-se pela produção de no mínimo um membro da classe de citotoxinas denominadas Shiga (SOUTO, 2011). Sua transmissão se dá pela ingestão de carnes cruas ou mal cozidas, leite não pasteurizado, legumes, frutas e verduras. Devido a baixa dose necessária para contaminação (menos que 100 células), o surto de STEC, em diversas pesquisas de vários países, estava associado com o uso de água para consumo humano, águas recreativas, transmissão de pessoa para pessoa e em locais onde havia muitos animais como em zoológicos e fazendas (KAPER et al, 2004). A Shiga Enterohemorrágica possui alguns sorotipos diferentes, entre eles estão as estirpes O157:H7, O26, O111 e O103 (CDC, 2014), sendo a primeira a mais conhecida.

A *E.coli* Enterotoxigênica (ETEC) é a causadora da diarreia aquosa bacteriana, conhecida como diarreia dos viajantes e também como uma das principais doenças dos países de baixa renda, afetando principalmente crianças. A ETEC é transmitida pela água ou alimentos contaminados com fezes de animais ou humanos (CDC, 2014). Pertencem apenas a um de dois grupos existentes, a enterotoxina lábeis ao calor (LTs) e enterotoxina estáveis ao calor (STs), ou seja, as estirpes de ETEC podem ser expressas apenas como uma LT, uma ST, ou ambos. As enterotoxinas lábeis ao calor estão relacionadas com a enterotoxina da Cólera (CT) que é expresso por *Vibrio cholerae* (KAPER et al, 2004). O diagnóstico da infecção por ETEC muitas vezes é suspeito com base na epidemiologia e na apresentação clínica, no

entanto, raramente é confirmado. O diagnóstico microbiológico requer o uso de bioensaios para identificar as toxinas LT e ST ou o uso de técnicas que empregam sondas de DNA ou, ainda, reação em cadeia da polimerase para detectar os genes codificadores dessas toxinas (DONNENBERG, 2012).

A *E.coli* Enteropatogênica (EPEC) foi o primeiro patótipo a ser descrito em 1945 devido a um grande surto de diarreia infantil ocorrido no Reino Unido. Por muitos anos os mecanismos pelos quais a EPEC ocasionava diarreia era desconhecida, sendo de extrema importância o seu estudo por ser potencialmente fatal em crianças. Na década de 70, foi possível identificar o patótipo com base na serotipagem de O:H. Desde então, inúmeros avanços foram alcançados sobre a patogênese da diarreia por EPEC, e atualmente é uma das mais bem compreendidas de toda a E.coli patogênica (KAPER et al, 2004). Nos dias de hoje já existem dados indicando que adultos podem também apresentar essa síndrome (SILVA, 2004).

A *E.coli* Enteroinvasora (EIEC) possui características similares com a *Shigella*. Estas são responsáveis pela disenteria bacilar, uma doença inflamatória intestinal aguda (PARSOT, 2005), que ocasionam cólicas abdominais, mal-estar e ocasionalmente causam febre e diarreia com sangue ou disenteria sendo consideradas incomuns. A EIEC não produz enterotoxinas conforme as demais (SHUETZ, 2019). Apesar da semelhança entre a EIEC e a *Shigella*, a infecção por *Shigella* é mais frequente e por isso há um maior número de estudos relacionados com a patogenicidade desta. Entretanto, as pesquisas sobre a *Shigella* podem ser aplicadas a EIEC devido a similaridade que estas cepas bacterianas apresentam (PARSOT, 2005).

A *E.coli* Enteroagregativa (EAEC) é cada vez mais reconhecida como causa da diarreia persistente em adultos e crianças. Tanto em países desenvolvidos quanto os em desenvolvimento, foram identificados como a causa de inúmeros casos em todo o mundo (KAPER et al, 2004). Os mecanismos envolvidos na enteropatogenicidade desses microrganismos ainda não foram esclarecidos e a virulência das EAEC parece estar associada a uma multiplicidade de fatores e restrita a subgrupos bacterianos carreadores de propriedades específicas (MANGIA et al, 2009).

O termo "*E.coli* difusamente aderente" (DAEC) foi inicialmente usado para se referir a qualquer cepa de *E.coli* HEp-2-aderente que não formava micro colônias do tipo EPEC. Com a descoberta do EAEC, a maioria dos autores reconhece o DAEC como uma categoria independente de *E.coli* potencialmente diarreiogênica (NATARO; KAPER, 1998).

Contudo, podemos verificar a existência de uma grande variedade de categorias diarreiogênicas e que o estudo de processos eficazes de desinfecção da água se torna cada vez mais importante, visto que estes microrganismos estão se tornando mais resistentes aos métodos convencionais devido a mutações que sofreram e consequentemente responsáveis por surtos em todo o mundo. Na Figura 8 está ilustrada a ocorrência de infecção causada pela *E.coli* ETEC, sendo esta bactéria utilizada neste trabalho.

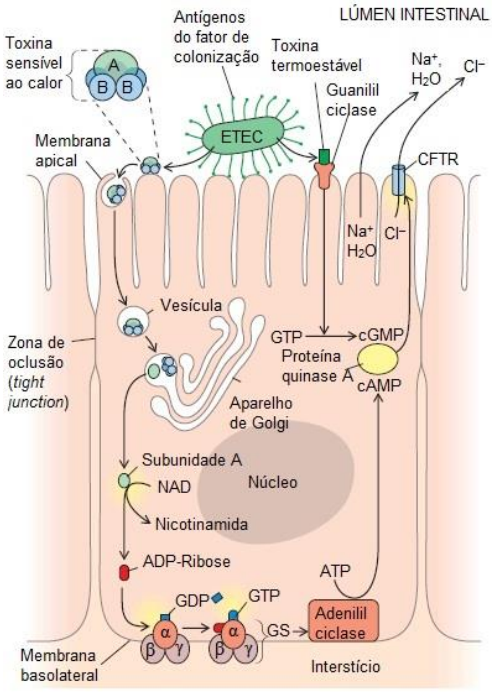


Figura 8: Patogênese das infecções por *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC)
Fonte: Donnenberg (2010)

O Centro Europeu para a Prevenção e Controle de Doenças divulgou em meados de maio a junho de 2011, um surto de pacientes infectados pela bactéria *E.coli*. Os primeiros casos ocorreram na Alemanha e se espalhou para os países da Áustria, República Tcheca, Dinamarca, França, Holanda, Noruega, Polônia, Espanha, Suécia e Reino Unido. Muitas pessoas infectadas com a bactéria *E.coli* enterohemorrágica (STEC/EHEC), desenvolveram a Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU), uma variação rara da *E.coli*, conhecida como O1574:H7 que pode ser fatal. Na Alemanha foram relatados 4.000 casos ao todo, e 48 mortes. Os demais países relataram um total de 31 casos de SHU, com uma morte e 71 casos de STEC/EHEC. Depois de muita investigação, mas até hoje com incertezas, pesquisadores acreditam que este surto tenha ocorrido por sementes de feno grego vindas do Egito e que foram plantadas em 2010 na Alemanha (GALLAGHER, 2011; FUCHS, 2011; ANS, 2011).

2.4.2 *Pseudomonas aeruginosa*

A primeira descrição de *P.aeruginosa* como espécie bacteriana distinta foi feita no final do século XIX, após o desenvolvimento realizado por Louis Pasteur em meios de cultura estéreis (BOTZENHART; DORING, 1993).

A *P. aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa extremamente versátil, que pode ser encontrada em diversos ambientes, principalmente solo e água, ou ainda associada a plantas e animais (BALDINI, 2009). Em seres humanos, *P. aeruginosa* causa infecções em indivíduos com a imunidade comprometida, como pacientes de AIDS e câncer, vítimas de queimaduras, portadores de fibrose cística, em bebês prematuros e em idosos e por isso é conhecida como uma bactéria oportunista (BALDINI, 2009).

Todavia, Stryjewski e Sexton (2003) argumentam que esta bactéria também é capaz de causar infecções em pessoas que se encontram saudáveis imunologicamente. Este quadro de infecção pode acontecer pelo ouvido externo, pele e tecidos moles, mas são raros os casos de pessoas saudáveis que desenvolveram uma infecção pseudomonal grave ou até fatal nos pulmões ou no sangue (STRYJEWSKI; SEXTON, 2003).

As bactérias da espécie *P. aeruginosa* pertencem à família *Pseudomonadaceae*. São aeróbias, na forma de bastonetes ou ligeiramente curvos como podemos verificar na Figura 9. Os membros da espécie são 0,5 a 1 µm de largura e 1,5 a 5µm de comprimento, possuem flagelos que possibilitam movimentar-se e em algumas cepas apresentam uma camada de lodo (HOLT et al., 1994; MOUTINHO, 2013).



Figura 9: Bactéria *P. aeruginosa*
Fonte: HARRIS (2018)

A *P.aeruginosa* detém a capacidade de mudar o seu fenótipo para se adaptar ao seu ambiente e pode mudar reversivelmente de uma variante não-mucóide para uma variante mucoide. *P.aeruginosa* pode colonizar desinfetantes (BURDEN; WHITBY, 1967), incluindo

compostos de amônio quaternário. Em 1992, foi documentada a sua resistência a antibióticos em humanos (BINGEN et al, 1992) e isolados ambientais, que incluíram água potável (PAPAPETROPOULOU et al, 1994).

Em águas tratadas sua análise é necessária porque sua presença tem sido relatada por diversos pesquisadores. Também apresenta capacidade de formar limo, que causa interferência em processos industriais, particularmente nas indústrias farmacêuticas (INMETRO, 2000).

É inerente da bactéria ser resistente a diversos antimicrobianos e com as mutações que sofre, conferem a ela uma maior resistência a drogas e processos de desinfecção (CHEN et al, 1995). Esta grande resistência é devido a sua membrana citoplasmática (NEVES, 2008), onde se vê nitidamente na Figura 10 a presença dessa membra em uma colônia da bactéria.

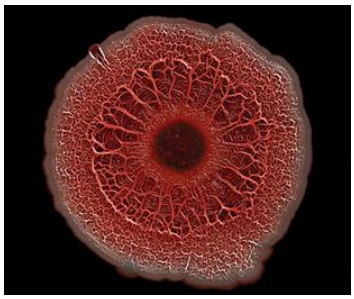


Figura 10: Uma colônia de *P. aeruginosa*
Fonte: KOLTER (2017)

Segundo Hancock (1998), a membrana externa constitui uma barreira semipermeável à absorção de antibióticos e moléculas de substrato. Porque a absorção de pequenas moléculas hidrofílicas, tal como os β-lactâmicos (classe ampla de antibióticos), é restrita a uma pequena porção da membrana externa (ou seja, os canais cheios de água das proteínas porinas), que são os limites da membrana externa limitam o movimento de tais moléculas (β-lactâmicos) para dentro da célula. Isto é verdade para todas as bactérias Gram negativas, mas é especialmente verdadeiro no caso de *P. aeruginosa*, que tem uma membrana externa que é 12 a 100 vezes menor do que, por exemplo, a da *E.coli* (HANCOCK, 1998).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho dos métodos de cloração, radiação UV e combinação cloro/UV na inativação de *E.coli* e *P.aeruginosa* inoculadas em água bruta.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar o número de microrganismos em UFC/ml antes (N_0) e após (N) os processos de desinfecção;
- Comparar a taxa de inativação (I%) e por meio estatístico ANOVA a eficiência dos processos de desinfecção;
- Analisar os resultados de inativação dos microrganismos pelo cloro, radiação UV e a combinação do cloro/UV através do recrescimento microbiano após 48 horas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Descrição Geral

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade de Uberaba (UNIUBE), sendo eles a determinação da faixa ideal de bactérias (UFC/ml) para contaminação da água bruta, o processo de desinfecção por cloro, radiação ultravioleta, o processo combinado de ambos, análises de cloro livre, alcalinidade, pH e dureza cálcica. Para tal, foram subdivididos nas seguintes Etapas tendo em vista os objetivos do trabalho:

a) Etapa 1: padronização da faixa ideal de *E.coli* e *P.aeruginosa* em UFC/ml;

b) Etapa 2: experimentos de avaliação da eficiência do sistema de desinfecção Cloro, reator UV e Cloro/UV.

Os experimentos referentes à Etapa 1 consistiram em repetições para encontrar a melhor diluição que permitiria a contaminação de 20 litros de água bruta para testar a eficiência desinfetante do cloro e o reator UV.

Os experimentos referentes à Etapa 2 foram conduzidos em duas fases distintas, devido a necessidade de evitar a contaminação cruzada das bactérias trabalhadas para que os resultados das análises não fossem comprometidos:

b.1) Fase 1: ensaios baseados na inativação de *E.coli;*

b.2) Fase 2: ensaios baseados na inativação de *P.aeruginosa*.

4.2 Materiais e Equipamentos

4.2.1 Reator

O reator de radiação ultravioleta utilizado foi o VIQUA ABSOLUTE H_2O ® (UV-1/2) cedido pela empresa ARAUNAH TECH, como parceria entre a empresa e a Universidade de Uberaba a fim de contribuir para o desenvolvimento de pesquisas.

O VIQUA UV-1/2® é um sistema doméstico que foi desenvolvido especialmente para tratar bactérias. É constituído por quatro componentes principais:

- A câmara do reator;
- A lâmpada UV;
- A luva de quartzo;
- A unidade controladora.

4.2.1.1 Câmara do Reator

A câmara do reator, conforme Figura 11, também conhecida como apenas uma câmara ou um reator, é a parte do sistema que abriga fisicamente a lâmpada e a luva UV, além de controlar o fluxo de água através do sistema. Sendo o VIQUA UV-1/2® construído em aço inoxidável.



Figura 11: Aparelho VIQUA ABSOLUTE H2O (UV-1/2) ® utilizado nos experimentos
Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

4.2.1.2 Lâmpada UV

A lâmpada UV produz o UV-C, que é o comprimento de onda da luz UV considerado germicida. Para que isso ocorra, todas as lâmpadas consideradas UV possuem mercúrio, sendo este uma parte vital da capacidade da lâmpada de produzir o comprimento de onda germicida da luz UV-C. Gotas mínimas de mercúrio líquido se acumulam no "ponto frio" da lâmpada e, quando atingem a temperatura máxima, a luz UV-C é emitida.

Durante a operação da lâmpada, o mercúrio está completamente contido na estrutura da lâmpada e, com a reciclagem adequada, essas lâmpadas são inofensivas e não oferecem riscos ao meio ambiente.

Todas as lâmpadas UV possuem filamentos como uma lâmpada comum para produzir uma corrente elétrica que aquece o mercúrio e evapora-o no ar dentro da lâmpada. Esse mercúrio evaporado ajuda a criar arcos elétricos que produzem UV-C em diferentes níveis de intensidade para desinfetar a água. A Figura 12 abaixo mostra as lâmpadas UV, sendo a com a extremidade verde a lâmpada do VIQUA UV-1/2.



Figura 12: Lâmpadas UV
Fonte: VIQUA (2019)

4.2.1.3 Luva de quartzo

A luva de quartzo é um tubo cilíndrico longo de vidro de quartzo destinado a proteger a lâmpada UV, que é alimentada por eletricidade do fluxo de água. A lâmpada é inserida no tubo e transmite a luz através do tubo para a água. Na Figura 13 consta a luva de quartzo e a lâmpada já inserida. É um componente relativamente simples, mas fundamental para a operação eficiente de um sistema UV.



Figura 13: Luva de quartzo
Fonte: VIQUA (2019)

4.2.1.4 Unidade Controladora

Também chamado de Controlador, é a parte da unidade que controla a saída elétrica da lâmpada e a alimenta para produzir luz UV-C, ou seja, é o cérebro de todo o sistema UV. Como podemos ver na Figura 14, o controlador do VIQUA UV-1/2® é relativamente simples quando comparado com outros sistemas que possuem um painel indicando temporizadores de troca de lâmpadas, alarmes de baixa radiação UV ou luzes indicadoras de problemas para mostrar quando o sistema não está funcionando como deveria.



Figura 14: Controlador VIQUA UV-1/2®
Fonte: VIQUA, 2019

O manual do aparelho VIQUA UV-1/2®, traz as seguintes informações sobre o produto, conforme Tabela 4:

Tabela 4: Dados do reator UV

Nome	VIQUA ABSOLUTE H_2O
Modelo	UV-1/2
Origem	Ontario, Canadá
US Public Helth 16mJ/cm^2	2 gpm (7.5 lpm) (0,45 m^3/hr)
VIQUA Standard 30 mJ/cm^2	1 gpm (4lpm) (0,24 m^3/hr)
NSF/EPA 40 mJ/cm^2	0,5 gpm (2lpm) (0,12 m^3/hr)

Comprimento	31,7 cm (12,5”)
Diâmetro	6,5 cm (2,5”)
Watts da lâmpada	9 w
Pressão operacional máxima	125 psi (861 kPa)
Pressão operacional mínima	5 psi (34 kPa)
Tipo da lâmpada	Sterilume™-EX (stardard-output)
Dose de radiação	30mJ/cm²

Fonte: Adaptado Manual VIQUA ABSOLUTE H_2O® (2019)

4.2.2 Equipamentos principais

Durante a condução dos experimentos, foram utilizados os seguintes equipamentos do laboratório da Universidade de Uberaba (UNIUBE):

- Estufa para cultura bacteriológica MERSE modelo 502;
- Espectrofotômetro PG Instruments modelo T60U;
- Balança Marte modelo AL500;
- Refrigerador Eletrolux modelo R280;
- Autoclove vertical Phoenix modelo AV30;
- Medidor de pH, cloro livre (ppm), alcalinidade (ppm) e dureza cálcica (ppm), em fita da HidroAll;
- Contador de colônias Phoenix modelo CP 600 Plus.

4.2.3 Equipamentos diversos

Foram utilizados os seguintes materiais e reagentes no decorrer do experimento:

Vidrarias:

- Becker (500ml);
- Balão volumétrico (50 ml);
- Bastão de vidro;
- Pipeta volumétrica (5ml);
- Placas de Petri (90mm x 15mm);

- Alça de Drigalski.

Reagentes:

- Ágar PCA (Plate Count Agar);
- Caldo BHI (Brain Heart Infusion);
- Água peptonada 0,1%

Materiais diversos:

- Pipeta automática;
- Pera de sucção;
- Mangueira atóxica;
- Bombona plástica atóxica azul com tampa removível de 20 litros;
- Bombona plástica branca com tampa removível de 20 litros;
- Balde plástico de 11 litros;
- Ponteiras;
- Eppendorf.

4.3 Metodologia

4.3.1 Delineamento experimental

Após a estrutura estar apta para operar, foi possível dar sequência à Etapa 2. Os ensaios tiveram uma duração de seis semanas, de forma que as três primeiras foram com a bactéria *E.coli* e as seguintes foram com a *P.aeruginosa*. Para melhor entendimento, cada semana corresponde a um ciclo, sendo então os ciclos (semanas) divididos da seguinte forma:

- 1º ciclo: análise com *E.coli*;
- 2º ciclo: análise com *E.coli*;
- 3º ciclo: análise com *E.coli*;
- 4º ciclo: análise com *P.aeruginosa*;
- 5º ciclo: análise com *P.aeruginosa*;
- 6º ciclo: análise com *P.aeruginosa*.

Este período de uma semana para cada análise foi necessário, pois todo o procedimento requer tempo e cuidado para que os resultados não fossem prejudicados.

O período de coleta da água bruta coincidiu com a época de altos índices de pluviosidade.

4.3.1.1 Determinação da faixa operacional de bactérias em UFC/ml

A determinação da faixa ideal de operação para contaminação da água bruta, da *E.coli* e *P.aeruginosa*, conforme já citado na Etapa 1, consistiu nos resultados obtidos nas padronizações onde foi possível antepor a melhor diluição que permitisse uma quantidade de UFC/ml ideal para a devida contaminação.

Inicialmente, as duas cepas, *Pseudomonas aeruginosa* NEW 0027 (1242) NEWPROV - Similar ao ATCC 9027 e *Escherichia coli* ATCC 25922, mantidas liofilizadas, foram incubadas em Caldo BHI (*Brain Heart Infusion)* por 24horas a 37°C, posteriormente foram estocadas em criogenia à –70ºC em criotubos contendo meio de Caldo BHI e 50% de glicerina. Para a utilização na pesquisa, as cepas crio-preservadas foram reativadas em 10 ml de caldo BHI a 37ºC por 24 horas.

Após a reativação, alíquotas das cepas ATCC reativadas foram submetidas a dosagens de densidade óptica, pela realização de leituras de absorbâncias em espectrofotômetro digital em filtro de 600nm, aos quais foram diluídos em solução salina 0,9% estéril, até obtenção de absorbâncias iguais a absorbância de 0,2.

Posteriormente, a partir das soluções de 0,2 de absorbância, 100 µl de cada cepa foi submetida à diluição decimal seriada até 10^8 em 900 µl do meio BHI de onde 100 µl de cada diluição foram transferidas para a superfície de placas meio BHI em duplicata, pela técnica de espalhamento com alça de Drigalsky com posterior incubação a 37ºC por 24 horas.

Para a padronização do volume a ser despejado no galão para a devida contaminação das bactérias, seguindo o previsto na Etapa 1, na Tabela 5, estão os resultados obtidos do número de colônias nas análises laboratoriais das diluições de 10^5 a 10^8 em duplicata.

Tabela 5: Diluições para *E.coli* e *P.aeruginosa*

Diluição	**10^5**	**10^6**	**10^7**	**10^8**
		Colônias		
E.coli	180	14	5	0

	146	11	6	1
	129	17	5	2
	130	11	6	2
P.aeruginosa	155	18	2	0
	158	17	8	1
	156	18	2	0
	132	16	5	0

Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

Com os resultados obtidos na padronização, optou-se por trabalhar com a diluição 10^5 que apresentava uma média de 150 colônias, visto que a recomendação é trabalhar na faixa de 30 a 300 colônias, conforme o Manual de Métodos de Análise Microbiológica da água (SILVA, 2005), correspondendo a uma faixa ideal para a contaminação. Para se determinar quantos *ml* seriam necessários para contaminar 20 litros ou 20.000 ml de água, foi preciso encontrar as UFC por 1 ml da diluição a 10^5.

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{Nº\ colonias\ \cdot 10}{diluição} \qquad [2.5]$$

$$UFC/ml = \frac{150\ \cdot 10}{10^{-5}}$$

$$\boldsymbol{UFC/ml = 1,5 \cdot 10^{8}}$$

Com o intuito de encontrar o volume necessário para a contaminação da água bruta, foi utilizada a equação 2.6 que representa a fórmula de diluição:

$$C_1\ \cdot\ V_1 =\ C_2\ \cdot\ V_2 \qquad [2.6]$$

Em que:

C_1 = concentração inicial

V_1 = volume inicial

C_2 = concentração final

V_2 = volume final

Sendo o V_1 o valor a ser encontrado, C_1 corresponde a $1{,}5 \cdot 10^5$ UFC/ml, o C_2 a média de 1.000 UFC/ml desejada e o V_2 sendo o volume do galão (20.000 ml), substituindo temos:

$$1{,}5 \cdot 10^8 \cdot V_1 = 1 \cdot 10^3 \cdot 20.000$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 10^3 \cdot 20.000}{1{,}5 \cdot 10^8}$$

$$\boldsymbol{V_1 \cong 0{,}15\ ml}$$

Espera-se então que em 15 ml tenha-se 10.000 UFC/100µl.

4.3.1.2 Cálculo da dosagem de cloro

Para quantificar a dosagem de cloro a ser utilizada para a desinfecção da água contaminada, seguiram-se as recomendações do informativo divulgado pelo Ministério da Saúde através da Secretaria de Vigilância em Saúde de 2006 (BRASIL, 2006), onde para 20 litros de água a ser tratada para consumo humano são necessários 5 ml de hipoclorito de sódio (NaClO) a uma concentração de 2,0 a 2,5% durante 15 minutos. Também foi utilizado como referência o Manual de Cloração de Água em Pequenas Comunidades (2014) desenvolvido pela FUNASA, que fornece a equação abaixo da qual foi possível calcular a quantidade em ppm (partes por milhão) de hipoclorito de sódio para o processo de desinfecção (BRASIL, 2014).

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot d}{c \cdot 10} \qquad [2.7]$$

Em que:

V_1 = Volume de hipoclorito de sódio a 12% ou outra concentração, em mL;

V_2 = Volume de água a ser desinfetada, em litros;

d = dosagem de cloro desejada – em mg/litro;

c = concentração em % do hipoclorito de sódio utilizada;

1*0* = constante.

Com isso, temos que para o valor de V_1 temos os 5 ml, o valor de V_2 os 20 litros e *c* a concentração em % do hipoclorito de sódio utilizada:

$$5 = \frac{20 \cdot d}{2{,}5 \cdot 10}$$

$$\boldsymbol{d = 6{,}25\ ppm}$$

Então, verificou-se que a dosagem de cloro desejada em mg/L ou ppm foi de 6,25ppm.

4.3.1.3 Coleta da água bruta

A retirada da água foi executada através da submersão de um balde previamente e devidamente desinfetado, devido à ausência de uma torneira para coleta. A água coletada foi imediatamente transferida para o galão de 20 litros. A cada nova análise era coletada uma nova amostra de água. Na Figura 15 consta uma das coletas da água bruta no poço.



Figura 15: Coleta de água bruta no poço
Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

Optou-se por trabalhar com a água bruta (antes de passar pelo processo de desinfecção com o cloro) captada em um dos poços artesiano da Universidade de Uberaba (UNIUBE) devido à sua qualidade em termos de parâmetros físico-químicos e a intenção de manter o processo de desinfecção o mais próximo do real, tanto para o cloro quanto para o reator UV que é instalado nas residências. Descartou-se, portanto, o uso de água destilada e água sintética para os experimentos.

4.3.1.4 Análises

As análises foram realizadas seguindo rigorosamente a cronologia abaixo:

1) Água bruta (A1);
2) Água contaminada com a bactéria (A2);
3) Água contaminada tratada com radiação UV (A3);
4) Água contaminada tratada com cloro (A4);
5) Água contaminada tratada com cloro e radiação UV (A5);

Para cada uma das águas (A1, A2, A3, A4 e A5) foi realizada a amostragem na saída do processo de 50 ml em um balão previamente esterilizado e vedado com uma porção de algodão para dar início à diluição seriada igualmente desenvolvido no tópico 4.3.1.1.

Posteriormente os experimentos foram conduzidos em batelada, utilizando para desinfecção o aparelho VIQUA ABSOLUTE H_2O (UV), o cloro e o processo combinado cloro/UV com o objetivo de avaliar e comparar a ação dos referidos processos de desinfecção na inativação dos microrganismos indicadores *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Para a análise de inativação das amostras após passarem pela desinfecção com UV, cloro e a desinfecção combinada entre cloro e UV, os percentuais de inativação dos microrganismos foram calculados de acordo com a Equação 2.8:

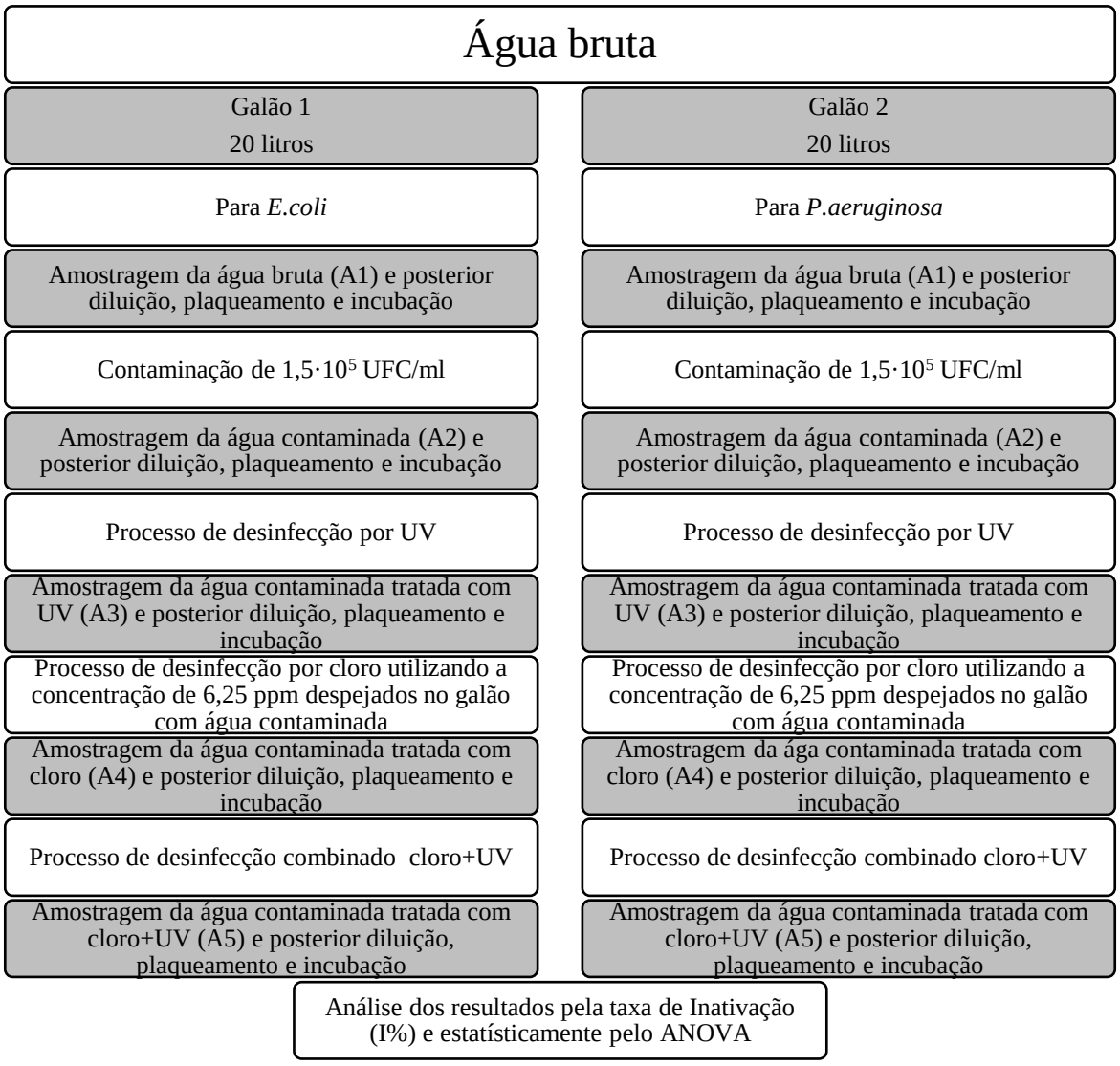
$$Inativação\ (\%) = \frac{N_0 - N}{N_0} \cdot 100 \qquad [2.8]$$

Em que:

N_0 = número inicial de microrganismos;

N = número de microrganismos remanescentes após desinfecção

Para melhor visualização dos procedimentos executados, no fluxograma abaixo consta o passo a passo desde a captação da água bruta até a análise dos dados obtidos, divididos entre as bactérias trabalhadas.



Utilizando-se a fita Pool Test para medir o pH, alcalinidade, dureza e cloro livre, nas amostras de água bruta e água tratada com cloro, foi possível obter uma média de valores qualitativos (resultados no Apêndice) que permitiram identificar que os parâmetros analisados estavam de acordo com o esperado e também com a legislação vigente. Onde foi constatado o valor de 0 ppm para cloro livre, a variação de 80 a 120 ppm para alcalinidade, o pH variou entre 7,2 a 8,3 e a dureza total de 100 a 250 ppm. Com exceção do residual de cloro livre, onde após os cálculos de dosagem do cloro, era esperado que houvesse um residual de no mínimo 0,2mg/L o que não foi possível ser evidenciado. Na Figura 16 consta uma das medições realizadas com a fita.



Figura 16: Análise da água bruta pela fita Pool Test
Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

4.3.1.5 Tratamento dos dados

Para tratamento dos dados foi utilizado o programa GraphPad Prism 7, a fim de verificar incialmente qual método estatístico seria o mais indicado. A partir do teste de normalidade de D'Agostino & Pearson e Shapiro-Wilk, constatou a não normalidade, descartando o uso do Desvio Padrão como método estatístico. Com isso, recomenda-se usar ANOVA não paramétrico do teste de Kruskal-Wallis, avaliando a média, o mínimo e o máximo e os valores de Skewness e Kurtosis e posteriormente o teste de comparações múltiplas de Dunn. Para todas as análises estatísticas o nível de significância foi de 5% ($p<0,05$).

4.3.2 Segurança laboratorial

Antes de iniciar e após finalizar as análises, efetuava-se a lavagem do galão a ser utilizado com água e uma pequena dosagem de cloro, agitando-se para que o desinfetante entrasse em contato com todo o galão. Posteriormente este era lavado excessivamente para retirada do agente desinfetante. Para a lavagem das mangueiras e do reator, o outro galão em desuso era preenchido com água e o sistema (galão, mangueira e reator UV) conectado para que ocorresse a lavagem dos mesmos, mantendo o reator UV ligado durante o processo.

A água presente no galão de descarte era tratada com a aplicação de uma grande quantidade de cloro antes de ser despejada na pia do laboratório, respeitando o tempo de contato especificado pelo fabricante.

Todos os materiais utilizados nesta pesquisa a cada repetição eram esterilizados duas vezes na autoclave e os materiais descartáveis eram depositados no lixo específico para resíduos contaminados.

4.3.3 Estrutura de operação

A estrutura montada para o presente experimento constituiu-se de uma estante de 2 metros de altura, dividia em três níveis, onde foram dispostos os galões de 20 litros, o aparelho UV, as mangueiras atóxicas e o galão para descarte. A Figura 17 abaixo mostra a estrutura pronta com todos os seus componentes. Como se pode constatar, a entrada de água no reator acontece na parte inferior e a saída da água tratada na parte superior do reator. Seguindo as recomendações do aparelho UV, o controlador foi posicionado acima do reator permitindo que a disposição do fio do controlador formasse o devido "loop de gotejamento" para impedir a entrada potencial de água no mesmo.



Figura 17: Estrutura do sistema de desinfecção
Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

4.3.4 Vazão

Com a estrutura de operação devidamente montada, foram realizados testes de vazão. Devido à altura em que a torneira foi instalada, não foi possível contabilizar a vazão final, pois a lâmina de água ficou abaixo da saída da torneia, desse modo, foi calculada a vazão de 4 em 4 litros, sendo o volume inicial em 20 litros e o volume final em 8 litros. Foram realizadas três repetições, a fim de se obter uma média do tempo de escoamento e consequentemente da vazão a ser trabalhada, conforme Tabela 6.

Tabela 6: Cálculo da vazão

Volume do galão (litros)	**Tempo de escoamento (segundos)**	**Vazão (l/s)**
20	65”55	0,061
16	43”16	0,092
12	41”79	0,096
8	43”28	0,092

Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

Conforme o conceito de vazão, espera-se que quanto maior o tempo de escoamento do galão, menor o volume interno. Porém, verificando-se na tabela apresentada, o tempo de escoamento entre 20 e 16 litros, foi maior. Esse evento ocorreu devido ao fato que quando os testes foram iniciados, o reator UV encontrava-se vazio, ou seja, essa diferença de tempo é relacionada com o tempo que o reator UV demorava a ser preenchido pela água, que segundo as especificações no manual dadas pelo fabricante o volume do reator é de aproximadamente 1 litro.

Levando-se este fato em consideração, foi priorizado fazer o tratamento e a amostragem da água após 1 minuto de escoamento para que o tratamento ocorresse com a água transitando por dentro do equipamento em um fluxo estável, isto é, após o preenchimento do equipamento com a água, para que o fluxo de água estivesse na sua velocidade máxima e constante.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados

Para o desenvolvimento da Etapa 2 e das Fases 1 e 2, que consistem nos ensaios baseados na inativação da *E.coli* e da *P.aeruginosa*, foram então realizados os cálculos da porcentagem de inativação dos processos de desinfecção por UV, cloro e cloro+UV. Nas Tabelas 7 e 8 constam os resultados compilados obtidos a partir da Equação 2.8:

Tabela 7: Porcentagem de inativação para *E. coli*

Ciclos	**A4 Cloro**	**A3 UV**	**A5 Cloro+UV**
1º	99,390	100	100
	99,342	100	100
	100	100	100
	100	100	100
2º	99,242	100	100
	100	100	100
	100	100	100
	99,431	100	100
3º	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100
	99,253	100	100

Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

Tabela 8: Porcentagem de inativação para *P. aeruginosa*

Ciclos	A4 Cloro	A3 UV	A5 Cloro+UV
4º	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100
5º	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100
6º	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100
	100	100	100

Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

Na Tabela 7, percebe-se que a radiação UV foi eficiente em todas as análises e consequentemente o processo combinado com o cloro também. O processo de desinfecção realizado apenas com o cloro, das 12 análises, 5 apresentaram colônias da *E.coli*.

Na Tabela 8, percebe-se com os resultados apresentados, que a *P.aeruginosa* teve menos resistência ao cloro do que a *Escherichia coli.*

Após a incubação de 24 horas onde foram constatados os resultados, uma placa de Petri de cada processo que obteve 100% de inativação foi armazenada na estufa até completar 48 horas a fim de verificar se houve reativação das bactérias. Com isso, inferiu-se que não houve a retomada da viabilidade celular após o tratamento. Tal observação reforça a eficácia dos tratamentos, sugerindo que a inativação observada após o tratamento é definitiva, não havendo possibilidade de retomada do metabolismo ou da viabilidade celular em decorrência, por exemplo, dos sistemas intracelulares de reparo ao DNA no período de tempo estudado.

Como resultado da metodologia utilizada na contagem das colônias, demonstram-se na Figura 18 cinco placas de Petri referentes aos tipos de águas analisadas, sendo elas a água bruta (a), água contaminada (b), água contaminada tratada com UV (c), água contaminada tratada com cloro (d) e água contaminada tratada com cloro/UV (e) respectivamente.

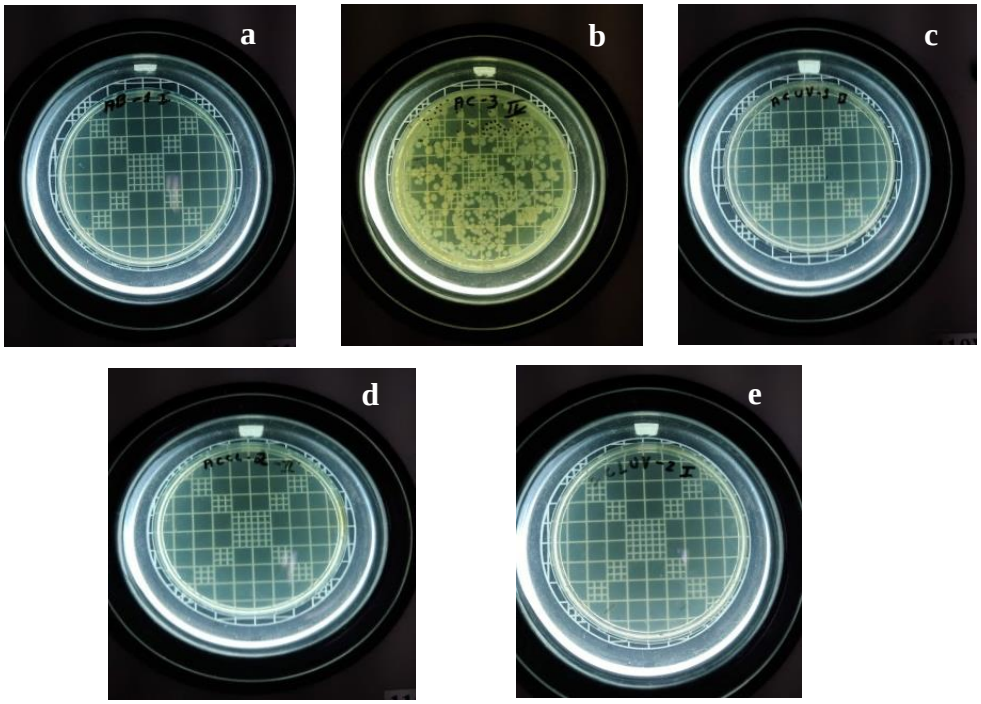


Figura 18: Tipos de água trabalhadas inoculadas em placa de Petri (a) água bruta; (b) água contaminada; (c) água contaminada tratada com UV; (d) água contaminada tratada com cloro; (e) água contaminada tratada com cloro/UV
Fonte: Arquivo Ritt, B.S. (2019)

O teste de Kruskal-Wallis permitiu determinar a mediana, a mínima e a máxima, conforme Tabelas 9 e 10 abaixo.

Tabela 9: Teste Kruskal-Wallis para *E.coli*

Testes	**A1** **Bruta**	**A2** **Contaminada**	**A3** **UV**	**A4** **Cloro**	**A5** **Cloro+UV**
Mediana	$1 \cdot 10^3$	$1{,}53 \cdot 10^5$	0	0	0
Mínima	0	$1{,}01 \cdot 10^5$	0	0	0
Máxima	$1{,}7 \cdot 10^4$	$1{,}92 \cdot 10^5$	0	$1 \cdot 10^3$	0
Skewnnes	2,4	-0,15	-	0,39	-
Kurtosis	5,1	-1,4	-	-2,3	-

Fonte: GraphPad Prism (2020)

Tabela 10: Teste Kruskal-Wallis para *P.aeruginosa*

Testes	**A1** **Bruta**	**A2** **Contaminada**	**A3** **UV**	**A4** **Cloro**	**A5** **Cloro+UV**
Mediana	0	$1{,}39 \cdot 10^5$	0	0	0
Mínima	0	$1{,}06 \cdot 10^5$	0	0	0
Máxima	$1 \cdot 10^3$	$1{,}65 \cdot 10^5$	0	0	0
Skewnnes	1,3	-0,059	-	-	-
Kurtosis	-0,33	-1,1	-	-	-

Fonte: GraphPad Prism (2020)

Os valores encontrados nas Tabelas 9 e 10 estão representados nas Figuras 19 e 20.

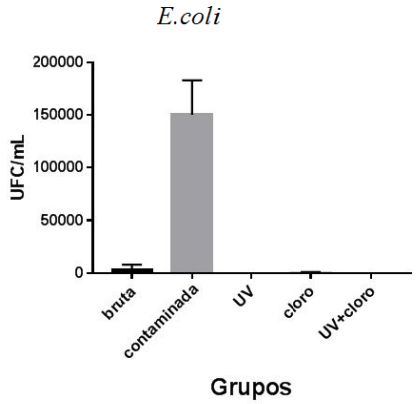


Figura 19: Número de UFC/ml para *E. coli*
Fonte: GraphPad Prism (2020)

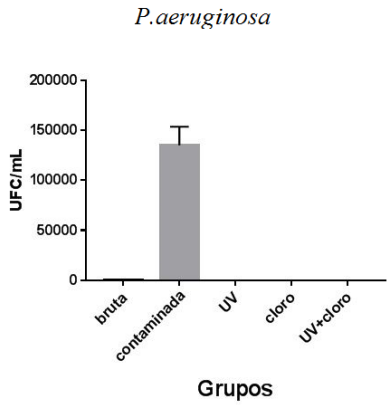


Figura 20: Número de UFC/ml para *P. aeruginosa*
Fonte: GraphPad Prism (2020)

5.2 Discussão

Após apresentados os resultados obtidos pelos experimentos realizados neste trabalho, surgiu à necessidade de comparar os efeitos da aplicação dos sistemas de desinfecção pesquisados cloro, UV, e cloro/UV.

Comparando-se a desinfecção por cloro e UV, sem levar em consideração a desinfecção combinada e dos resultados estatísticos, a ação da UV foi superior e mais eficaz na inativação das bactérias, principalmente da *E.coli*. Isso pode ser evidenciado através dos resultados das análises de água contaminada (A2), onde tanto para *E.coli* quanto para *P.aeruginosa* a taxa de inativação foi de 100%. Ao contrário do que ocorreu com os valores de inativação da *E.coli* pelo cloro, onde a taxa de inativação das 12 análises foi ao todo de aproximadamente 58%.

Considerando a desinfecção combinada, observou-se que para as análises onde o cloro não alcançou o seu objetivo de agente desinfetante, a utilização do reator UV em sequência foi eficiente, inativando 100% da concentração celular da *E.coli*. Fato esse que fundamenta a justificativa de que quando se complementa um agente desinfetante com outro, o processo se torna muito mais eficiente e seguro.

Segundo Souza (2006), desinfetantes altamente efetivos que já tiveram sua eficiência comprovada por diversos estudos e pesquisas como a radiação UV, o ozônio, ácido peracético entre outros, destinados apenas para tratamento de água e por não fornecerem residual ao sistema de distribuição, podem ser combinados a outros, como o cloro, que apresentam tal capacidade de deixar o residual para a biosseguridade da água de consumo humano. Com isso, os processos combinados podem ser otimizados visando obter máxima inativação de microrganismos e mínima formação de subprodutos tóxicos.

Lobo (2008) em sua pesquisa utilizou um reator de radiação UV para avaliar a inativação da *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, variando a concentração dos microrganismos e o tempo de exposição à radiação UV. A maior inativação, 99,96%, foi obtida com amostra contendo $3{,}65 \times 10^3$ UFC/mL de células viáveis de *Escherichia coli* irradiadas durante 60s por UV a uma dose de radiação estimada de 9,2 mWs/cm. Em aproximadamente 20h, após o tratamento, as células irradiadas de *E. coli* apresentaram reativação.

Segundo Gardner e Shama (2000) os microrganismos expostos aos raios UV são afetados ao nível do DNA (ácido desoxirribonucleico), ou seja, o efeito bactericida da UV ocorre principalmente no DNA. Uma ligação cruzada entre os vizinhos timina e citosina (bases de nucleosídeos de pirimidina) na fita do DNA ocorre devido exposição da célula ao UV. O efeito resultante dessa ligação cruzada é que a transcrição e replicação do DNA são bloqueadas, comprometendo as funções celulares e eventualmente levando à morte celular. Os efeitos de reticulação no DNA são proporcionais à quantidade de exposição UV. A irradiação também pode produzir mutações no DNA no organismo lesionado (SASTRY; DATTA; WOROBO, 2000).

Apesar dos diversos estudos que concretizam a eficiência da radiação UV como agente desinfetante da água, assim como a sua viabilidade e benefícios, a legislação brasileira Portaria nº 2.914/2011 que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, no Capítulo IV, artigo 24, consta que toda água para consumo humano, fornecida coletivamente, deverá passar por processo de desinfecção ou cloração. E no artigo 35 conforme já citado no tópico 2.2 desta pesquisa, traz que no caso do uso de ozônio ou radiação ultravioleta como desinfetante, deverá ser adicionado cloro ou dióxido de cloro, de forma a manter residual mínimo no sistema de distribuição (reservatório e rede).

Em relação à sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa* ao cloro, esta apresentou um comportamento inesperado, pois segundo a Organização Mundial da Saúde considera-se a *P.aeruginosa* um microrganismo moderadamente resistente ao cloro (WHO, 2003).

Medeiros, Vasconcelos e Calazans (2007) estudou a resistência da *P.aeruginosa* variando o tempo de contato (1, 5, 10, 20, 30, e 40 minutos) com a concentração de cloro livre (0,5, 1,0 e 2,0 ppm) e verificou que todas as linhagens isoladas utilizadas apresentaram habilidade de sobrevivência a diferentes concentrações de cloro livre nos diferentes tempos de contato, onde uma das linhagens suportou por 10 minutos de contato na concentração de 2,0 ppm.

A dosagem de cloro aplicada para a desinfecção da *P.aeruginosa* que foi de 6,25 ppm não permitiu a produção de cloro livre. Levando-se em consideração os valores obtidos de pH pela fita, podemos correlacionar com a ausência de cloro livre, pois quanto mais alcalina a água menor é o teor de cloro livre.

A tendência desta bactéria é ser mais resistente ao cloro, fato esse que se verifica nos problemas das águas de piscina tratadas com cloro, pois apresentam elevada carga de *Pseudomonas aeruginosa*.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, conclui-se:

- Os processos de desinfecção foram altamente eficazes na inativação de ambas as bactérias testadas;
- A inativação bacteriana foi definitiva, pois não houve crescimento bacteriano mesmo após 48 horas de incubação da bactéria em tal condição após os tratamentos;
- Não houve diferença entre os métodos de desinfecção UV, cloro e associação cloro+UV;

REFERÊNCIAS

ABEQ (Associação Brasileira de Engenharia Química). **Luz UV é eficiente em desinfecção e tratamento de águas para indústrias**. Meio ambiente. 2014

AGUIAR, A. M. de S. **Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção de águas com cor e turbidez moderadas.** Belo Horizonte, MG. 2000. 107p.

ANS (Agência Nacional de Saúde Suplementar). **Qualidade da saúde:** Ministério da Saúde faz alerta sobre surto de infecção por bactéria. 2011.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Gram-negativos fermentadores**: módulo 2. Curso de boas práticas. 2008.

ALBERTS, B.; Johnson A.; Lewis, J. **Molecular biology of the cell**. New York. Garland Science. 2002.

BALDINI, R. C. **Genes envolvidos na patogenicidade da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* PA14:** caracterização das regiões promotoras e ensaios de virulência no hospedeiro modelo Dictyostelium discoideum. Instituto de Química. USP. 2009.

BINGEN, E; E, Denamur; B, Picard; P, Goullet; N, Lambert-Zechovsky; P, Foucaud; J, Navarro; J, Elion. **Molecular epidemiological analysis of *Pseusomonas aeruginosa* strains causing failure of antibiotic therapy in cystic fribrosis patientes**. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 1992. p. 432-437.

BORCHARDT, J. A.; Walton, G. **Water quality**: in water quality and treatment. New York: McGraw-Hill, 1971.

BOTZENHART, K.; Doring, G. **Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit**. Cambridge University Press. 1993. 427-436 p.

BRASIL. Agência Nacional de Águas (ANA). **Manual de usos consuntivos da água no Brasil**. Brasília, DF: ANA, 2019. 75 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006. 212 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2011. 10 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução (RDC) nº59**. Dispõe sobre os procedimentos e requisitos técnicos para a notificação e o registro de produtos saneantes e dá outras providências. 2010. 6 p.

BRASIL. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no BRASIL**: informe 2018. Ministério da Saúde. 2018. 16 p.

BRASIL. Fundação Nacional da Saúde (FUNASA). **Manual de cloração de água em pequenas comunidades**: utilizando o clorador simplificado desenvolvido pela FUNASA. Brasília, DF. 2014. 36 p.

BLATCHLEY, E. R.;Bastian, C. K.; Duggirala, R. K.; Alleman, J. E.; Moore M.; Schuerch P. **Ultraviolet irradiation and chlorination/dechlorination for municipal wastewater disinfection**: assessment of performance limitations. Water Environment Research. 1996. p.194-204.

BERTONCINI, E. I. **Tratamento de efluentes e reúso da água no meio agrícola**. Revista Tecnologia e Inovação Agropecuária. 2008. 18 p.

BURDEN, F. D. W.; Whitby, J. L. **Contamination of hospital disinfectants with Pseudomonas species**. British Medical Journal 2. 1967. p. 153-l 55.

CAMARGO, J. G. **Aplicação do dióxido de cloro na desinfecção de efluentes domésticos tratados pelo sistema de lodos ativados**. Florianópolis, SC. 2004. 95 p.

CAIRNCROSS, S.; Feachem, R. **Environmental health engineering in the tropics**: an introductory text. Wiley. 1993. 320 p.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). ***Escherichia coli***: questions and answers. 2014.

CHEN, H. Y; Yuan, M; Ibrahim-Elmagboul, I. B; Livermore, D. M. **National survey of susceptibility to antimicrobials amongst clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa.*** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1995. p. 521-534.

CHEIS, D. **Desinfecção de água e efluentes com raio ultravioleta**. Revista TAE. 2013.

CHICK, H. **An investigation of the lacos of disinfection**. Journal of Hygiene. 8 ed. 1908

COLLETI, F. J. **Inativação de microrganismos indicadores presents em efluentes secundários de esgoto sanitário com radiação ultravioleta**. São Carlos, SP. 2003. 273 p.

CUNHA, M. A. da; Silva, M. R. **Métodos de detecção de microrganismos indicadores**. Saúde & Ambiente em Revista. Duque de Caxias, RJ. 2006. p.09-13.

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, 2001. 139p.

DANIEL, L. A. **Desinfecção de efluentes de esgotos sanitários pré-decantados empregando radiação ultravioleta**. São Carlos, SP. 1989. 124 p.

DEGREMONT. **Water, a fundamental element**. Water treatment handbook. Halsted Press. 1979. p. 1571.

DONNENBERG, M. S. **Infections due to *E.coli* and other enteric Gram-negative bacilli**. ACP Medicine. 2010. 10p.

DUARTE, A. de S. **Reuso de água residuária tratada na irrigação da cultura do pimentão (*Capsicum annun L.*)**. Piracicaba, SP. 2006. 188 p.

EBC (Empresa BRASIL de Comunicação). **OMS**: 748 milhões de pessoas não tem acesso à água potável. Agência Lusa. 2014.

EDSTROM INDUSTRIES INC. **Ultraviolet disinfection**. 2003. p. 3-8.

FERREIRA, D. F. **Estatística Básica**. UFLA. 2005. 664 p

FUCHS, A. **Artigo esclarece sobre o surto de *E.coli* na Europa**. ENSP (Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca). 2011.

FRANCO, B. D. G. M; Landgraf, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo. Editora Atheneu. 2003.

FREITAS, A. C. **Desinfecção de água e efluentes com raio ultravioleta**. Revista TAE. 2013.

GALLAGHER, J. **Origem de surto de *E.coli* pode estar ligada a semente do Egito**. BBC News. 2011.

GARDNER, D. W. M.; Shama, G. **Modeling UV induced inactivation of microorganisms on surfaces**. Journal of Food Protection. 2000. p. 63–70.

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; Barbosa-Cánovas, G. V. **Review: advantages and limitations on processing foods by UV light**. Food Science and Technology International. 2004. p.137-147.

HANCOCK, R. E. W. **Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other non-fermentative gram-negative bacteria.** Department of Microbiology and Immunology. Vancouver, CA. Clinical Infectious Diseases. 1998. p. 93-99.

HARRIS, S. ***Pseudomonas aeruginosa***: what to know. Medical News. 2018.

HOLT, J; N, Krieg; D,Sneath; T, Staley; S, Williams. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 1994.

HOYOS, R. **Progreso de la filtración casera em América Latina**: agua latinoamérica. 2002. p. 44-45.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia). **Análise de produtos**. Informação ao consumidor. 2000.

JERMANN, C.; Koutchma, T.; Marga, E.; Leadley, C.; Ros-Polski, V. **Mapping trends in novel and emerging food processing technologies around the world.** Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2015. p. 14-27.

JUANICÓ, M. **Reutilización de águas residuales**.: qué se puede aprender de la experiencia israelí. Revista Tecnologia Del Água. 2007. p.58-67.

KAPER, J. P.; Nataro, J. P.; Mobley, H. L.T. **Pathogenic Escherichia coli**. Nature Reviews Microbiology. 2004. 18p.

KAREL, M.; Lund, D. B. **Physical principles of food preservation**. New York: Marcel Dekker, 2003.

KOLTER, R. **Life at the Edge of Sight:** A Photographic Exploration of the Microbial World. 2017.

LEEUWENHOEK, A. van. **Opera omnia**. Digitalização Eletrônica da Biblioteca Nacional da França (BNF), 1995. Hildesheim/New York: G. Olms, 1971. Reprodução, Fac-sim. de l'éd. de Leiden: J. A. Langerak, 1715.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água.** 2. ed. Campinas: Átomo, 2008. p. 379-394.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água.** 3. ed. Campinas: Átomo, 2010. p. 421-443.

LOBO, M. G. **Avaliação da desinfecção de água por reator utilizando radiação ultravioleta**. Joinville, SC. 2008. 88p.

LOURENÇÃO, J. **Avaliação da resistência de microrganismos patogênicos à desinfecção sequencial com oxônio-radiação ultravioleta e cloro-radiação ultravioleta**. São Carlos, SP. 2009. 162 p.

MACÊDO, J. A. B. de. **Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas**. CRQ. Belo Horizonte, MG. 2005. 601p.

MANGIA, A. H. R.; Bezerra, R. M. P.; Esparis, C. M.; Teixeira, L. M. ***Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC)**: filotipagem e resistência a antimicrobianos em um enteropatógeno emergente. Revista de Patologia Tropical. 2009. p. 27-34.

MATOS, B.; Pacheco, A.. **Avaliação da ocorrência e do transporte de microrganismos no aqüífero freático do cemitério de Vila Nova Cachoeirinha, município de São Paulo.** São Paulo, SP. 2002. 21 p.

MEDEIROS, L. V. de; Vasconcelos, U.; Calazans, G. M. T. **Ocorrência de linhagens de Pseudomonas aeruginosa em cloro resistentes em água de diferentes origens**. Acta Scientiarum Biological Sciences. Maringá, PR. 2007. p. 309-313

MENCK, C. F. M.; Meneghini, R.. **Prêmio Nobel de Química 2015**: os mecanismos de reparo de DNA. Atualidades em Química. 2015. 6 p.

MEYER, S. T. **O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública**. Caderno de Saúde Pública. Rio de Janeiro, RJ. 1994. p. 99-110.

MMDA (Monitorização das Doenças Diarreicas Agudas). **Protocolo estadual da monitorização das doenças diarreicas agudas**. Secretaria da Saúde. Curitiba, PR. 2015. 25p.

MOUTINHO, C. I. C. **Pesquisa e quantificação de Pseudomonas aeruginosa**: metodologia para acreditação do método normalizado. Bragança, SP. 2013. 126p.

NATARO, J. P.; Kaper, J. B. **Diarrheagenic *Escherichia coli***. American Society for Microbiology. 1998. p.142-201.

NATURALTEC. **Desinfecção Ultravioleta.**

NEVES, H. J. P.. **Desinfecção de água contaminada por *Pseudomonas aeruginosa* via radiação ultravioleta**: modelagem e desenvolvimento cinético. Recife, PE. 2008. 161p.

OKUNO, E. **Radiação Ultravioleta:** características e efeitos. São Paulo: Livraria da Física, 2005. 75 p.

OLIVEIRA, J.; Reygaert, W. C. **Gram negative Bacteria**. NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). 2019.

ONU (Organização Nações Unidas Brasil). **Poluição e falta de saneamento matam 1,7 milhão de crianças por ano**. OMS (Organização Mundial da Saúde). 2017.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). **Infecções por *Escherichia coli***. 2018.

PAPAPETROPOULOU, M; Iliopoulou, J; Rodopoulou, G; Detorakis, J; Paniara, O. **Occurrence and Antibiotic-Resistance of Pseudomonas Species Isolated from Drinking Water in Southern Greece**. Journal of Chemotherapy. 1994. p. 111-116

PARSOT, C. ***Shigella spp*. and enteroinvasive *Escherichia coli* pathogenicity factors**. Elsevirer. FEMS Microbiology Letters. 2005. p. 11-18.

PEIXOTO, E. M. A. **Elemento químico**: cloro. Química Nova na Escola. 2003. 51 p.

PELCZAR, M. J. JR; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. Makron Books. São Paulo, SP. 1996. 524p

PEREIRA, A. C.. **Química geral e dos elementos**. Brasília, DF. 2018. 124p.

PIANOWSKI, E. H.; Janissek, P. R. **Desinfecção de efluentes sanitários com uso de cloro**: avaliação da formação de trihalometanos. Sanare, Curitiba. 2003. 12p.

PONTES, C. A. A. **Urbe água vida**: ética da proteção aplicada ao estudo de implicações morais no acesso desigual à água potável. Rio de Janeiro: ENSP/FIOCRUZ. 2003. 104 p.

PONTIUS, F. W.; Clark, S. W. **Water quality and treatment**: a handbook of community water supplies. McGraw-Hill. 1999. p. 5-49.

REIFF, F. M. Witt, V. M. **Guidelines for the selection and application of disinfection technologies for small towns and rural communities in Latin America and the Caribbean.** OPS (Organización Panamericana de la Salud). Washington, DC. 1995. 227p

RICHTER, C. A. **Água: métodos e tecnologia de tratamento.** Blucher. 2009. 352p.

RICHTER, C. A.; Netto, J. M. de A. **Tratamento de água**: tecnologia atualizada. São Paulo, SP. Blucher. 1991. p. 281

RUBIN, A.; Engel, J. P.; Sproul, O. J. **Disinfection of amoebic cysts in water with free chlorine**. Journal Water Pollution Control Federation. New York, 1983. p. 1174-1182.

SAKAI, S. **Desinfecção de água**: os principais sistemas disponíveis no mercado. São Paulo, SP: TAE, 10 ed. 2012.

SANTOS, L. A. de C. **Um século de cólera**: itinerário do medo. Revista de Saúde Coletiva. PHYSIS. Rio de Janeiro, RJ, 1994.

SASTRY, S. K.; Datta, A. K; Worobo, R.W. **Ultraviolet light**. Journal Food Science, Supplement. 2000. p. 90–92.

SCHOENEN, D. **Role of disinfection in suppressing the spread of pathogens with drinking water**: possibilities and limitations. Water Research. Germany. 2002. p. 3874-3888.

SCHUETZ, A. **What's the significance of Enteroinvasive *E.coli* (EIEC), Enteropathogenic *E.coli* (EPEC), and Enteroaggregative *E.coli* (EAEC) in Stool?** ASM (*American Society for Microbiology*). 2019.

SILVA, M. C. da. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. Piracicaba, SP. 2002. 87p.

SILVA, N. da. ***Escherichia coli* O157:H7 em alimentos**. Campinas, SP. 2004. 106p.

SILVA, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F. de A.; Neto, R. C. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Varela. São Paulo, SP. 2005. 164p.

SNOW, J. **Sobre a maneira de transmissão do cólera**. Hucitec, 2 ed,.São Paulo, SP, 1999.

SOMMERS, C. H.; Sites, J. E.; Musgrove, M. **Ultraviolet light (254 nm) inactivation of foodborne pathogens on foods and stainless steel surfaces.** 2016. 19p.

SOUTO, M.de S. M. **Sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* patogênica e *Salmonella spp*. isoladas de fezes de bezerros do Centro Oeste e Alto Paranaíba de Minas Gerais**. Belo Horizonte, MG. 2011. 64p.

SOUZA, J. B. de. **Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro.** São Carlos, SP. 2006. 190p.

SOUZA, J. B. de; 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**. ABES (Associação BRASILeira de Engenharia Sanitária e Ambiental). 2005. p. 111-117.

SPELLMAN, F. R. **Spellman's standard handbook for wastewater operator**: volume I, Fundamental Level. CRC Press. 1999. 273p.

STANIER, R. Y; Doudoroff, M.; Adelbero, E. A. **The microbial World**. Prentice-Hall Inc. 1963. p. 397-398.

STRYJEWSKI, M. E.; Sexton, D. J. **Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*:** *Pseudomonas aeruginosa* infections in specific types of patients and clinical settings. Springer Science and Business Media. New York. 2003. p. 1-17.

SZEWZYK, U; Szewzyk, R; Manz, W; Schleifer, K. H. **Microbiological safety of drinking water**. Annual Review of Microbiology . 2000. p. 81-127.

TINÔCO, J. D. **Desinfecção por radiação ultravioleta**: estudo do desempenho do processo e avaliação econômica. São Carlos, SP. 2011. 220 p.

UEM (Universidade Estadual de Maringá). **Bioestatística**: análise descritiva. Aula. 2018.

USEPA (*United States Environmental Protection Agency*). **Alternative disinfectants and oxidants guidance manual**. 1999. p. 271

VIQUA. **Owner's manual**. Ontario, Canada. 2019.

WHO (*World Health Organization*). **Guidelines for drinking water**. Geneve. 2003

ZARPELON, A.; Rodrigues, E. M. Os trihalometanos na água de consumo humano. SANEPAR (Companhia de Saneamento do Paraná), SANARE. Revista Técnica da SANEPAR 2002.

APÊNDICE

Tabela 1: Concentração celular (UFC/ml) para *Escherichia coli*

Ciclos	A1 Bruta	A2 Contaminada	A3 UV	A4 Cloro	A5 Cloro+UV
1º	$1\cdot10^3$	$1{,}64\cdot10^5$	0	$1\cdot10^3$	0
	0	$1{,}52\cdot10^5$	0	$1\cdot10^3$	0
	$1\cdot10^3$	$1{,}88\cdot10^5$	0	0	0
	$1\cdot10^3$	$1{,}92\cdot10^5$	0	0	0
2º	$1\cdot10^3$	$1{,}32\cdot10^5$	0	$1\cdot10^3$	0
	0	$1{,}14\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}90\cdot10^5$	0	0	0
	$1\cdot10^3$	$1{,}76\cdot10^5$	0	$1\cdot10^3$	0
3º	$1{,}7\cdot10^4$	$1{,}56\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}01\cdot10^5$	0	0	0
	$1{,}0\cdot10^4$	$1{,}08\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}34\cdot10^5$	0	$1\cdot10^3$	0

Tabela 2: Concentração celular (UFC/ml) para *Pseudomonas aeruginosa*

Ciclos	A1 Bruta	A2 Contaminada	A3 UV	A4 Cloro	A5 Cloro+UV
4º	0	$1{,}65\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}42\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}46\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}57\cdot10^5$	0	0	0
5º	0	$1{,}23\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}15\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}50\cdot10^5$	0	0	0
	$1\cdot10^3$	$1{,}36\cdot10^5$	0	0	0
6º	$1\cdot10^3$	$1{,}06\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1,\ 25\cdot10^5$	0	0	0
	$1{,}0\cdot10^3$	$1{,}43\cdot10^5$	0	0	0
	0	$1{,}13\cdot10^5$	0	0	0

Tabela 3: Teste de comparações múltiplas de Dunn para *Escherichia coli*

Parâmetros	**Significante**
Bruta vs contaminada	Sim
Bruta vs UV	Não
Bruta vs cloro+UV	Não
Contaminada vs UV	Sim
Contaminada vs cloro	Sim
Contaminada vs cloro+UV	Sim
UV vs cloro	Não
UV vs cloro+UV	Não
Cloro vs UV+cloro	Não

Tabela 4: Teste de comparações múltiplas de Dunn para *Pseudomonas aeruginosa*

Parâmetros	**Significante**
Bruta vs contaminada	Sim
Bruta vs UV	Não
Bruta vs cloro	Não
Bruta vs cloro+UV	Não
Contaminada vs UV	Sim
Contaminada vs cloro	Sim
Contaminada vs cloro+UV	Sim
UV vs cloro	Não
UV vs cloro+UV	Não
Cloro vs UV+cloro	Não

Tabela 5: Análise dos parâmetros para *Escherichia coli*

Parâmetros	A1 Bruta	A4 Cloro
Cloro livre (ppm)	0 0 0	0 0 0
Alcalinidade (ppm)	80 120 80	80 120 80
pH	7,2-7,5 7,2-7,5 7,6-8,3	7,6-8,3 7,2-7,5 7,2-7,5
Dureza total (ppm)	100-250 100-250 100-250	100-250 100-250 100-250

Tabela 6: Análise dos parâmetros para *Pseudomonas aeruginosa*

Parâmetros	A1 Bruta	A4 Cloro
Cloro livre (ppm)	0 0 0	0 0 0
Alcalinidade (ppm)	120 80 80	120 80 80
pH	7,2-7,5 7,2-7,5 7,2-7,5	7,2-7,5 7,2-7,5 7,2-7,5
Dureza total (ppm)	100-250 100-250 100-250	100-250 100-250 100-250