

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental

Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Tecnologia e Recursos Naturais
Departamento de Engenharia Civil

**SENSIBILIDADE DE *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*,
Staphylococcus aureus E *Pseudomonas aeruginosa* À DESINFECÇÃO
COM LUZ NATURAL E ARTIFICIAL. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE
REATIVAÇÃO BACTERIANA**

FERNANDA PATRICIA LIMA TORQUATO

Campina Grande
Data: MAIO/2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E
AMBIENTAL
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE/PB**

SENSIBILIDADE DE *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas aeruginosa* À DESINFECÇÃO COM LUZ NATURAL E ARTIFICIAL. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE REATIVAÇÃO BACTERIANA

FERNANDA PATRICIA LIMA TORQUATO

**CAMPINA GRANDE - PB
MAIO/2007**

FERNANDA PATRICIA LIMA TORQUATO

SENSIBILIDADE DE *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas aeruginosa* À DESINFECÇÃO COM LUZ NATURAL E ARTIFICIAL. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE REATIVAÇÃO BACTERIANA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Recursos Hídricos

Sub-área: Engenharia Sanitária e Ambiental

Orientadores: Prof^ª. Dr^ª. Beatriz Susana O. de Ceballos

Prof^ª. Dr^ª. Annemarie König

CAMPINA GRANDE - PB

MAIO/2007



T687s Torquato, Fernanda Patricia Lima
Sensibilidade de Escherichia coli, Samonella typhimurium, Staphylococcus aureus e Pseudomonas aeruginosa a desinfeccao com luz natural e artificial : avaliacao da capacidade de reativacao bacteriana / Fernanda Patricia Lima Torquato. - Campina Grande, 2007.
103 f. : il.

Dissertacao (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais.

1. Desinfeccao de Aguas 2. SODIS 3. Radiacao Ultravioleta 4. Recrescimento Bacteriano 5. Dissertacao I. Ceballos, Beatriz Susana O. de, Dra. II. Konig, Annemarie, Dra. III. Universidade Federal de Campina Grande - Campina Grande (PB) IV. Título

CDU 628.166


SENSIBILIDADE DE *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas aeruginosa* À DESINFECÇÃO COM LUZ NATURAL E ARTIFICIAL. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE REATIVAÇÃO BACTERIANA

FERNANDA PATRICIA LIMA TORQUATO


COMISSÃO EXAMINADORA



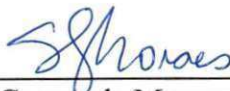
Prof.^a Dr.^a Beatriz Susana O. de Ceballos – UFCG/PB
(Orientadora)



Prof.^a Dr.^a Annemarie König – UFCG/PB
(Orientadora)



Prof. Dr. Rui de Oliveira – UFCG/PB
(Examinador Interno)



Prof.^a Dr.^a Sandra Gomes de Moraes – UNICAMP/SP
(Examinadora Externa)

CAMPINA GRANDE - PB

MAIO/2007

*A minha mãe, Rosa Tereza
Lima, pela compreensão,
apoio e incentivo nos
diversos momentos dessa
jornada.*

AGRADECIMENTOS

A DEUS e Nossa Senhora de Aparecida pela saúde, força e perseverança para alcançar os meus objetivos, não me deixando fraquejar.

À minha mãe, meu exemplo de vida, pelo incentivo e motivação nos dias de desânimo, pela paciência, amor e apoio na realização dos meus objetivos.

À Professora Beatriz S. O. de Ceballos, pela orientação deste trabalho, pelos ensinamentos e oportunidades e pelo seu exemplo de profissional dedicada ao ensino e pesquisa.

Aos meus avós, Rosa e Tibério (presença constante), pelo amor e educação.

As minhas tias e primas e aos meus primos com quem sempre divido meus êxitos. Muito obrigada pela torcida.

Aos meus tios Tibério e Amélia pela atenção e presteza na mudança para Campina Grande.

À Professora Annemarie König pelas valiosas contribuições para o desenvolvimento deste trabalho e pela disponibilidade sempre que solicitada.

Ao Professor Nelson Eduardo Duram pela disponibilização de recursos e do laboratório de Química Biológica da UNICAMP para realização dos experimentos.

As queridíssimas Sandra Gomes de Moraes e Patrícia P. R. Donaire pelos esclarecimentos e sugestões dadas para a execução desse trabalho, pelos momentos de descontração nos nossos passeios turísticos e pela hospedagem amável.

Ao Instituto de Biologia da UNICAMP/SP pela cessão das cepas puras dos microrganismos em estudo.

À Professora Raissa Catão e ao Professor Carlos Antônio, da UEPB, pela assessoria prestada sempre que solicitada.

As prestativas e adoráveis Renata, Rosa, Thaysa, Rafaela, Susana, Silene e Marina pelo companheirismo, pelos momentos descontraídos sempre com boas risadas e claro, pela grande ajuda na execução das análises laboratoriais e idas ao campo.

A Soad, da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola da UFCG, pela disponibilidade sempre que solicitada.

A Cristina e Josete, da UFCG, pela paciência e boa vontade em ajudar.

A Valmaria, ou simplesmente Val, pela grande ajuda na execução dos trabalhos no Laboratório de Saneamento Ambiental da UFCG, mas, principalmente, pela amizade e pelo estímulo durante o período da pesquisa.

Aos professores da AESA pelos valiosos ensinamentos.

A Pollyana, Yanna, Giselaíne, Andrea, Vanderlei, Caio, Thiago, Evaldo e Guêvson por terem me recebido de forma carinhosa, tornando agradável minha permanência em Campina Grande. Em especial a Carla, companheira de viagens, de experiências científicas e de vida. Obrigadíssima!!!!!!!

Ao CNPq pela bolsa concedida para o mestrado.

A todos, que direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

A desinfecção de águas destinadas ao consumo humano requer a utilização de métodos seguros e eficientes na inativação de microrganismos patogênicos e na geração de subprodutos não prejudiciais à saúde humana. A falta ou inadequação de fornecimento de água potável, especialmente em áreas rurais, municípios e localidades de pequeno porte, tem agravado a transmissão de doenças de veiculação hídrica. Métodos de desinfecção alternativos, caracterizados pelos baixos custos e fácil manejo, vêm sendo aplicados. Dentre eles, destaca-se a tecnologia SODIS (Solar Disinfection Water) investigada nesta pesquisa. Para tal utilizaram-se garrafas PET transparentes com água até $\frac{3}{4}$ de seu volume, de turbidez inferior a 30UNT e contaminadas com as bactérias indicadoras de contaminação fecal e bactérias enteropatogênicas selecionadas, expostas de 4 a 6 horas à luz solar natural, à luz de lâmpadas solares e à radiação UV artificial fornecida por lâmpadas germicidas. Para avaliação da ocorrência ou não da restauração do dano provocado no DNA dos microrganismos (recrescimento bacteriano) pela radiação solar e pela radiação UV artificial, foram realizados estudos de recrescimento bacteriano, 24 e 48 horas após a desinfecção. Os resultados evidenciaram 100% de eficiência da luz solar natural e das lâmpadas solares na destruição/inativação das populações de *S. typhimurium* (ATCC 3985), *Salmonella spp*, *E. coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A técnica de SODIS mostrou-se como uma tecnologia alternativa viável de desinfecção quando a água apresentar concentração inicial de 10^3 a 10^5 UFC/100ml, turbidez menor que 30UNT e sob condições climáticas que favoreçam a ação sinérgica entre radiação UV e calor. Embora as lâmpadas germicidas possuam forte efeito bactericida, não houve inativação das bactérias enteropatogênicas presentes nas águas submetidas a esse agente desinfetante. Foi observado que inexistência do efeito residual da radiação UV, assim como a grande capacidade de resistência da *P. aeruginosa* (ATCC 939) favoreceram o recrescimento bacteriano.

Palavras-chave: desinfecção de águas, SODIS, radiação ultravioleta, recrescimento bacteriano.

ABSTRACT

The disinfection of waters destined to human consumption requires the use of safe and efficient methods in the inactivation of pathogenic microorganisms and in the generation of by-products non harmful to the human health. The lack or inadequacy of drinkable water supply, especially in rural areas, and small towns or villages, has been aggravating the transmission of hydric vehicled diseases. Alternative disinfection methods, characterized by their low costs and easy handling, have been being applied. Within these stand out the SODIS (Solar Disinfection of Water) technology, investigated in this research. For such, transparent PET bottles were used, filled up to $\frac{3}{4}$ of their capacity with water of turbidity inferior to 30UNT, and polluted with bacteria indicative of fecal contamination and selected enteropathogenic bacteria, exposed from 4 to 6 hours to natural solar light, to the light of solar lamps and to artificial UV radiation supplied by germicide lamps. For evaluation of the occurrence or not of the restoration of the damage provoked in the DNA of the microorganisms (bacterial regrowth) by the solar radiation and the UV artificial radiation, studies of bacterial regrowth were accomplished 24 and 48 hours after the disinfection. The results evidenced 100% of efficiency of the natural solar light and of the solar lamps in the destruction/inactivation of the populations of *S. typhimurium* (ATCC 3985), *Salmonella* spp, *E. coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). The technique of SODIS appeared as a viable alternative technology of disinfection when the water presents initial concentration from 10^3 to 10^5 CFU/100ml, turbidity inferior to 30UNT and is under climatic conditions that favor the synergic action between UV radiation and heat. Although the germicide lamps possess strong bactericidal effect, there was no inactivation of the enteropathogenic bacteria present in the waters submitted to that disinfecting agent. It was observed that inexistence of residual effect from the UV radiation, as well as the great capacity of resistance of *P. aeruginosa* (ATCC 939) favored the bacterial regrowth.

Key words: disinfection of waters, SODIS, ultraviolet radiation, bacterial regrowth.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiii
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS	4
2.1 – Objetivo geral	4
2.2 – Objetivos específicos	4
CAPÍTULO 3 - REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1 – Água e desenvolvimento	6
3.2 – Disponibilidade e abastecimento de água	8
3.3 – Contaminação das águas e as doenças	11
3.4 – Bactérias indicadoras de contaminação fecal	17
3.4.1 – Coliformes totais e termotolerantes	20
3.4.2 – Outros indicadores	21
3.5 – Salmonela spp.	22
3.6 – Tecnologias de desinfecção de águas	23
3.7 - Desinfecção solar (SODIS)	32
CAPÍTULO 4 - MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1. Etapas metodológicas	40
4.2. Desenvolvimento dos experimentos	42
4.2.1 – Coleta das amostras de água	42
4.2.2 – Microrganismos, preparação dos inóculos e condições de crescimento	45
4.2.3 – Técnicas de quantificação de bactérias	47
4.2.4 – Análises físicas e químicas das amostras de água	49
4.2.5 – Aplicação das técnicas de desinfecção	49
4.2.5.1 - Experimento 1: Técnicas de SODIS em Riacho da Serra/São José de Sabugí com água de poço com e sem inóculo de esgoto	49
4.2.5.2 - Experimento 2: Testes SODIS com água de poço inoculada com <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 3985) e <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	51

4.2.5.3 - Experimento 3: Testes de desinfecção com emprego de radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) e água inoculada com <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	52
4.2.5.4 - Experimento 4: Testes de desinfecção com emprego de UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) e água inoculada com <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 3985), <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 939)	54
4.2.5.5 - Experimento 5: Testes de desinfecção com emprego de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) e água inoculada com <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 939)	55
4.2.6 - Estudos de recrescimento bacteriano	57
CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 – Características das águas usadas nos testes de desinfecção	58
5.2 – Testes de desinfecção com emprego de luz solar (SODIS)	60
5.2.1 – Experimento 1: Técnica de SODIS em Riacho da Serra/São José do Sabugi com água de poço com e sem inóculo de esgoto	60
5.2.2 – Experimento 2: Técnica de SODIS com água de poço inoculada com <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 3985) e <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	65
5.3 – Testes de desinfecção com radiação UV de lâmpadas germicidas	73
5.3.1 – Experimento 3: Teste de desinfecção com emprego de radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) e água inoculada com <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	73
5.3.2 – Experimento 4: Teste de desinfecção com emprego de radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) e água inoculada com <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 3985), <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 939)	79
5.4 – Testes de desinfecção com emprego de simulador solar	84
5.4.1 - Experimento 5: Testes de desinfecção com emprego de lâmpadas solares 20w (PHILIPS Clio) e água inoculada com <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> (ATCC 25922), <i>S. aureus</i> (ATCC25923) e <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 939)	84
5.5 – Estudos de recrescimento bacteriano	89
CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES	95
CAPÍTULO 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Espectro eletromagnético _____	27
Figura 3.2 – Dimerização fotoquímica de duas bases nitrogenadas _____	28
Figura 4.1 – Lâmpadas germicidas fluorescentes 15W (NARDS) no laboratório de Química Ambiental da UEPB: (a) em funcionamento; (b) desligadas (CG/PB-11/05/06) _____	41
Figura 4.2 – Lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) no laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 01/08/06)	41
Figura 4.3 – Simulador solar com lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) no laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 01/08/06) _____	42
Figura 4.4 – Tubulação de saída da água do poço no sítio Riacho da Serra (São José do Sabugi/PB -16/12/05) _____	43
Figura 4.5 – Coleta de água com baldes no sítio Riacho da Serra (São José do Sabugi/PB -16/12/05) _____	43
Figura 4.6 – Ponto de coleta no córrego que atravessa a UFCG (CG/PB – 11/05/06)	44
Figura 4.7 – (a) Homogeneização da água A; (b) Garrafas sendo cheias (São José do Sabugi/PB -16/12/05) _____	49
Figura 4.8 – Adição de esgoto e homogeneização da água B (São José do Sabugi/PB -16/12/05) _____	50
Figura 4.9 – Garrafas expostas ao sol. 1: garrafas controle (embrulhadas em papel alumínio); 2: garrafas transparentes; 3: garrafas transparentes expostas sobre fundo preto. (São José do Sabugi/PB -16/12/05) _____	51
Figura 4.10 – Garrafas expostas à radiação solar no pátio do Laboratório da AESA da UFCG (CG/PB – 24/11/06) _____	52
Figura 4.11 – Garrafas expostas à radiação UV das lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) no Laboratório de Química Ambiental da UEPB (CG/PB – 11/05/06)	54
Figura 4.12 – Garrafas expostas à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (Philips) no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 20/08/06) _____	55

Figura 4.13 – Garrafas expostas à radiação UV de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 20/08/06) _____ 56

Figura 5.1 – Variação da temperatura nas amostras de água expostas ao sol e inoculadas com *E. coli* (ATCC 25922) (Testes 1 e 2) e *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) nas garrafas transparentes durante 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08, 12, 20 e 24/11/06) _____ 65

Figura 5.2 – Variação da radiação solar global durante 6 horas de exposição das garrafas contendo água inoculada com *E. coli* (ATCC 25922) (Testes 1 e 2) e *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) (CG/PB – 08, 12, 20 e 24/11/06) _____ 66

Figura 5.3 – Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) (Testes 1 e 2) ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08 e 12/11/06) _____ 68

Figura 5.4 – Variação da temperatura nas amostras de água expostas ao sol e inoculadas com *E. coli* (ATCC25922) (Testes 1 e 2) nas garrafas controle durante 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08 e 12/11/06) _____ 69

Figura 5.5 – Eficiência da desinfecção solar na inativação da população de *E. coli* (ATCC25922) (Testes 1 e 2) nas garrafas controle (CG/PB – 08 e 12/11/06) _____ 69

Figura 5.6 – Variação da radiação solar global durante 6 horas de exposição das garrafas contendo água inoculada com *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) (CG/PB – 20 e 24/11/06) _____ 70

Figura 5.7 – Comportamento de *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 20 e 24/11/06) _____ 72

Figura 5.8 – Variação da temperatura nas amostras de água expostas ao sol e inoculadas com *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) nas garrafas controle durante 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 20 e 24/11/06) _____ 72

Figura 5.9 – Eficiência da desinfecção solar na inativação da população inoculada de *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) nas garrafas controle (CG/PB – 20 e 24/11/06) _____ 73

Figura 5.10 – Comportamento da população de *Salmonella* spp. ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006) _____ 75

Figura 5.11 – Comportamento de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006) _____ 75

Figura 5.12 – Comportamento da população de *E. coli* ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006) _____ 76

- Figura 5.13** – Eficiência da desinfecção com radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) na inativação das populações de *Salmonella* spp., *E. coli* e *S. aureus* (ATCC 25923) (CG/PB -11/05/2006) _____ 77
- Figura 5.14** – Eficiência da desinfecção com radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) na inativação da população de coliformes termotolerantes (CG/PB – 22/05/06) _____ 79
- Figura 5.15** – Comportamento de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 09/08/06) _____ 80
- Figura 5.16** – Eficiência da desinfecção com a radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) na inativação das populações de *E. coli*, *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) (Campinas/SP – 16, 26, 28/08/06) _____ 82
- Figura 5.17** – Comportamento da população de *E. coli* ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 16/08/06) _____ 83
- Figura 5.18** – Comportamento de *S. typhimurium* (ATCC 3985) ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 26/08/06) _____ 83
- Figura 5.19** – Comportamento de *P. aeruginosa* (ATCC 939) ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 28/08/06) _____ 84
- Figura 5.21** – Comportamento de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 4 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 10/08/06) _____ 86
- Figura 5.22** – Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) ao longo de 6 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 22/08/06) _____ 89
- Figura 5.23** – Comportamento de *P. aeruginosa* (ATCC 939) ao longo de 4 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 28/08/06) _____ 89

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Dinâmica do uso da água no mundo, por setor (km ³ /ano) _____	7
Tabela 3.2 – Disponibilidade hídrica por estado brasileiro e utilização total _____	10
Tabela 3.3 – Bactérias patogênicas e oportunistas transmitidas pela água contaminada _____	13
Tabela 3.4 – Principais doenças associadas à água _____	14
Tabela 3.5 – Taxa de mortalidade em menores de 5 anos na América Latina e Caribe, 2000 _____	16
Tabela 3.6 - Padrões microbiológicos para água potável segundo a Portaria nº.518/2004 do Ministério da Saúde _____	19
Tabela 4.1 - Experimentos de desinfecção de água usando luz solar e UV e origem da água utilizada nos experimentos _____	44
Tabela 4.2 - Microrganismos e tempo de exposição à radiação UV de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) no Experimento 5 _____	57
Tabela 5.1 – Características das águas utilizadas nos experimentos de desinfecção ____	59
Tabela 5.2 – Concentração de coliformes termotolerantes e <i>E.coli</i> e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS convencional (Água A*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005) _____	61
Tabela 5.3 – Concentração de coliformes termotolerantes e <i>E.coli</i> e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS fundo preto (Água A*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005) _____	61
Tabela 5.4 – Concentração de coliformes termotolerantes e <i>E.coli</i> e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS controle sem luz (Água A*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005) _____	62
Tabela 5.5 – Concentração de coliformes termotolerantes e <i>E.coli</i> e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS convencional (Água B*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005) _____	63
Tabela 5.6 – Concentração de coliformes termotolerantes e <i>E.coli</i> e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS fundo preto (Água B*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005) _____	64

- Tabela 5.7** – Concentração de coliformes termotolerantes e *E.coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS controle sem luz (Água B*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005) _____ 64
- Tabela 5.8** – TESTE 1: concentração de *E. coli* (ATCC 25922), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08/11/06) _____ 66
- Tabela 5.9** – TESTE 2: concentração de *E. coli* (ATCC 25922), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 12/11/06) _____ 67
- Tabela 5.10** – TESTE 3: concentração de *S. typhimurium* (ATCC 3985), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 20/11/06) _____ 71
- Tabela 5.11** – TESTE 4: concentração de *S. typhimurium* (ATCC 3985), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 24/11/06) _____ 71
- Tabela 5.12** - Concentração de *Salmonella* spp. e *S. aureus* (ATCC 25923), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006) _____ 74
- Tabela 5.13** – Concentração de *E. coli*, porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006) _____ 74
- Tabela 5.14** – Concentração de coliformes termotolerantes, porcentagem de redução e eficiência ao longo de 5 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -22/05/2006) _____ 78
- Tabela 5.15** – Concentração de *S. aureus* (ATCC 25923) e porcentagem de redução ao longo de quatro horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 09/08/06) _____ 80
- Tabela 5.16** – Concentração da população de *E. coli*, *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939), porcentagem de redução e eficiência ao longo de quatro horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 16, 26, 28/08/06) _____ 81
- Tabela 5.17** – Concentração de *Salmonella* spp. e porcentagem de redução ao longo de quatro horas e trinta minutos de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 01/08/06) _____ 85
- Tabela 5.18** – Concentração de *S. aureus* (ATCC 25923) e porcentagem de redução ao longo de quatro horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 10/08/06) _____ 85

- Tabela 5.19** – Concentração de *E. coli* (ATCC 25922) e porcentagem de redução ao longo de seis horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 22/08/06) _____ 87
- Tabela 5.20** – Concentração de *P. aeruginosa* (ATCC 939) e porcentagem de redução ao longo de quatro horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 28/08/06) _____ 88
- Tabela 5.21** – Experimento 2: Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) 24 e 48 horas após exposição à radiação solar – Teste 1 e Teste 2 (CG/PB – 09, 10, 13, 14/11/06) _ 90
- Tabela 5.22** - Experimento 2: Comportamento de *S. typhimurium* (ATCC 3985) 24 e 48 horas após exposição à radiação solar – Teste 3 e Teste 4 (CG/PB – 21, 22, 25 e 26/11/06) _____ 91
- Tabela 5.23** – Experimento 4: Comportamento de *S. aureus* (ATCC 26923) 24 e 48 horas após exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 10 e 11/08/06) _____ 91
- Tabela 5.24** – Experimento 5: Comportamento de *S. aureus* (ATCC 26923) 24 e 48 horas após exposição à radiação de lâmpada solares 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 11 e 12/11/06) _____ 92
- Tabela 5.25** – Experimento 5: Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) 24 e 48 horas após exposição à radiação de lâmpada solares 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 23 e 24/08/06) _____ 92
- Tabela 5.26** – Experimento 5: Comportamento de *P. aeruginosa* (ATCC 939) 24 e 48 horas após exposição à radiação de lâmpada solares 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 29 e 30/08/06) _____ 93

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A contaminação dos ecossistemas aquáticos superficiais e subterrâneos por rejeitos oriundos das atividades humanas é forte fator de risco para a saúde pública, ao facilitar a transmissão de enfermidades de veiculação hídrica, especialmente em locais com condições inadequadas de saneamento básico, com destaque para as deficiências no fornecimento de água potável. No Brasil, as condições precárias de saneamento ocorrem em áreas rurais e urbanas, porém em condições díspares.

A Organização Mundial da Saúde destaca, há mais de 60 anos, que a potabilização da água ou pelo menos sua desinfecção é uma ação importante para diminuir as enfermidades relacionadas com a água. Dados da mesma fonte (WHO, 2004) mostram que há mais de 1 bilhão de indivíduos sem disponibilidade de água potável no mundo. Na região Nordeste do Brasil, a população atingida com as secas e com a falta de água de qualidade segura é cerca de 18% do total dos habitantes dessa região, segundo os dados oficiais (IBGE, 2002). Une-se a essa informação a taxa de mortalidade infantil no Brasil, em 2004, de 32 por mil crianças nascidas vivas, sendo mais afetadas aquelas com menos de 5 anos de idade, enquanto para as Américas esse índice foi de 21 por mil (WHO, 2004).

Dentre as doenças bacterianas de veiculação hídrica, destacam-se as que se manifestam como diarreias, que causam desidratação, estados mórbidos prolongados e morte na população infantil, se não forem repostos rapidamente os líquidos e eletrólitos perdidos. As bactérias enteropatogênicas mais frequentes são *Salmonella* spp., *E. coli* enteropatogênica, *Shigella* spp., e *Campylobacter jejuni*. Outras, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, são patógenos oportunistas e, em indivíduos imunodeprimidos e crianças desnutridas, podem causar infecção grave e morte.

Condições apropriadas de saneamento básico geram populações sadias e estimulam avanços econômicos e sociais. Sistemas de captação de água, de tratamento

em ETAs centralizadas e de distribuição de água potável existem em todo o mundo. Diversas tecnologias de tratamento, adequando a água para o consumo humano estão disponíveis no mercado, sendo mais freqüente o método completo ou convencional, que aplica coagulação, decantação, filtração e desinfecção com cloro e distribuição, até a casa do consumidor, através de complexas redes de tubulações. Esses sistemas necessitam de grandes investimentos para implantação e operação, tornando-os inviáveis para prefeituras de pequeno porte e de locais carentes de infra-estrutura e recursos financeiros, como áreas periféricas das grandes cidades e em zonas rurais, com residências esparsas.

Nessas comunidades é necessário aplicar tecnologias alternativas, que se caracterizem pela sua simplicidade, seu baixo custo e facilidade de manejo. Dentre elas, vem se destacando, nos últimos anos, o denominado método SODIS, que utiliza o sol como fonte natural de calor e radiação UV para a desinfecção da água, possibilitando a eliminação da contaminação microbiana de águas não muito turvas destinadas ao consumo humano, na casa do consumidor. Esta técnica exige apenas, garrafas PET cheias de água, colocadas sob o sol intenso por 4 a 6 horas.

O método SODIS foi implementado em numerosas comunidades ao redor do mundo (Bolívia, Burkina Faso, China, Colômbia, Indonésia, Togo, Tailândia), sendo o número de usuários no globo superior a dois milhões de indivíduos distribuídos em mais de 20 países (SODIS, 2003).

A escolha da radiação UV como agente desinfetante para inativação de microrganismos é interessante, porque a reação fotoquímica afeta componentes fundamentais das células, havendo mínima formação de subproduto, aliado à simplicidade de operação, seja usando-se luz solar ou lâmpadas de UV artificial, de comprimento de onda de 250 a 280nm, faixa germicida ótima para inativação de microrganismos. O uso de lâmpadas permite aplicação deste método de desinfecção em grande escala.

Dentre as limitações dessa tecnologia está a ocorrência do mecanismo de reparo do dano provocado no DNA, ocasionado pela aplicação de uma dose baixa de radiação, pelo curto tempo de ação do desinfetante, pela resistência maior ou menor do microrganismo à radiação, pelo fato do processo não apresentar efeito residual, entre

outras razões. Por isso torna-se necessário avaliar o recrescimento bacteriano após a radiação com luz solar ou com UV de lâmpadas germicidas.

Nesse contexto e considerando as carências de água potável em pequenas comunidades rurais do Estado da Paraíba, que utilizam poços, barreiros e olhos de água como fontes de água para o consumo humano, sem tratamento prévio, o presente trabalho de pesquisa se propôs investigar a eficiência da desinfecção de águas com luz solar (SODIS) e radiação UV artificial, utilizando-se matrizes de água natural de poços e de córrego, com e sem inoculação de cepas puras de bactérias indicadoras de contaminação fecal e enteropatogênicas (*E coli*, *Salmonella* spp., *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*), analisando a ocorrência ou não de reativação desses microrganismos.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1 – Objetivo geral

Estudar a eficiência dos processos de desinfecção com luz solar natural (SODIS), e radiação UV artificial (lâmpadas solares e lâmpadas germicidas), na inativação de coliformes termotolerantes, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em águas destinadas ao consumo humano, avaliando a ocorrência ou não de reativação e multiplicação desses microrganismos após submetidas aos tratamentos citados.

2.2 – Objetivos específicos

1 – Aplicar o método SODIS na desinfecção de águas usadas para consumo humano em comunidade do semi-árido paraibano, utilizando garrafas PET transparentes e controles no escuro (garrafas envoltas em papel alumínio), usando como indicadores coliformes termotolerantes e *E. coli*.

2 – Testar o efeito de SODIS em águas contaminadas com diferentes concentrações iniciais das bactérias testes: *E. coli* e *Salmonella typhimurium*. Avaliar as taxas de decréscimo e de possíveis recrescimentos (reativação) sob condições de luz e escuridão.

3 – Testar a eficiência da radiação UV artificial usando lâmpadas germicidas, com comprimento de onda de 254nm, e lâmpadas solares, com comprimento de onda de 365nm, em águas contaminadas com diferentes bactérias testes: *E. coli*, *Salmonella* spp., *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, de concentrações iniciais conhecidas. Verificar a ocorrência de recrescimento bacteriano após a desinfecção.

4 – Estabelecer as melhores condições de horas de exposição ao sol ou a lâmpadas solares e germicidas, número inicial de microrganismos, temperatura, para obter as máximas eficiências dos métodos propostos.

5 – Identificar possíveis fatores microbianos e ambientais que parecem favorecer ou dificultar o recrescimento dos microrganismos após aplicação dos processos de desinfecção por SODIS e radiação UV artificial (lâmpadas germicidas e lâmpadas solares).

CAPÍTULO 3

REVISÃO DE LITERATURA

3.1 – Água e desenvolvimento

A água é um constituinte fundamental dos seres vivos (60 a 90% do peso corporal) e indispensável para a sua sobrevivência. É um recurso considerado constante e renovável, embora hoje se observe escasso e com crescentes problemas qualitativos e quantitativos (BARROS, VON SPERLING & CASSEB, 1997; CARVALHO, 2005).

A quantidade de água existente na Terra tem se mantido praticamente inalterada desde milhões de anos atrás, em um sistema físico complexo, dinâmico e auto-regulável denominado de Ciclo Hidrológico. Neste sistema, a água flui entre os diversos compartimentos ambientais do planeta, num processo de transferência entre a atmosfera, o solo e as águas superficiais e subterrâneas. Neste percurso, a água é purificada, renovando-se continuamente, diferenciando-se dos recursos naturais ditos não renováveis explorados pelo homem, que uma vez utilizados não podem ser empregados novamente para o mesmo fim. O ciclo hidrológico, no entanto, não produz água, apenas a purifica, mantendo sua disponibilidade quantitativa praticamente constante (ANDREOLI *et al.*, 2003).

As grandes civilizações sempre dependeram de água doce para sua sobrevivência e desenvolvimento econômico, social e cultural, sendo essencial à sustentação da vida (TUNDISI, 2003).

O consumo de água nas atividades humanas (beber, cozinhar, higiene, agricultura, indústria e uso urbano não industrial) apresenta crescimento ascendente, associado ao aumento populacional e ao crescimento dos níveis de desenvolvimento humano e econômico. Estima-se um consumo mundial entre 2.879 e 5.187 km³/ano (Tabela 3.1) para o ano de 2025, o que representa um crescimento de aproximadamente 75%, em 30 anos, do volume de água utilizado em todo o planeta (CARVALHO, 2005).

Tabela 3.1 - Dinâmica do uso da água no mundo, por setor (km³/ano)

Setor	Calculado								Estimado	
	1940	1950	1960	1970	1980	1990	1995	2000	2010	2025
População (milhões de hab)		2493	2963	3527	4313	5176	5520	5964	6842	8284
Área irrigada (milhões de hec)	76	101	142	173	200	243	254	264	288	329
Uso agrícola	891	1124	1541	1850	2191	2412	2503	2595	2792	3162
	678*	856	1183	1405	1698	1907	1952	1996	2133	2377
Uso industrial	127	182	334	548	683	981	715	748	863	1106
	10*	14	25	38	62	73	80	87	111	146
Abastecimento	37	53	83	130	208	321	354	386	464	645
	9*	14	20	29	42	53	57	62	68	81
Reservatório	3,7	6,5	22,7	65,9	119	167	188	211	239	275
TOTAL	1066	1365	1985	2574	3200	3580	3760	3940	4360	5187
	705*	894	1250	1539	1921	2196	2275	2354	2550	2879

Obs: (*) Volume de água efetivamente consumido

Fonte: SETTI (2001) *apud* CARVALHO (2005)

O aumento da quantidade de água consumida nos múltiplos usos, acompanhando o desenvolvimento econômico e social dos seres humanos, vem gerando fortes pressões qualitativas e quantitativas sobre os recursos hídricos superficiais e subterrâneos. À medida que o homem, para poder utilizar a água, modifica seu ciclo natural, com desmatamentos, exploração excessiva dos aquíferos, desvios dos rios e construções de canais e barragens, se produzem ciclos artificiais ou antrópicos da água que modificam sua circulação e alteram suas características, já que nesses novos ciclos ocorre a interferência de fontes poluidoras pontuais e difusas que limitam a capacidade de

autodepuração alterando a qualidade da água (TUNDISI, 2003; CIRELLI & MORTIER, 2005).

3.2 – Disponibilidade e abastecimento de água

A distribuição de água doce no planeta não é eqüitativa. Existem variações de disponibilidade de água e de densidade populacional, nas diferentes regiões do globo terrestre, ocasionando situações díspares, em que o volume *per capita* é alto, decorrente de áreas com grande disponibilidade de água e com densidade populacional pequena, e regiões com situação inversa, com grande concentração populacional e baixa disponibilidade desse recurso. Também ocorrem situações onde existem altas disponibilidades de água, mas esta é escassa devido aos elevados níveis de consumo (REBOUÇAS, BRAGA & TUNDISI, 1999; CARVALHO, 2005).

De acordo com o relatório “Situação Global de Suprimento de Água e Saneamento” produzido pela OMS e UNICEF em 2000 (WHO, 2004), apesar dos esforços nas duas últimas décadas para melhorar os serviços de abastecimento de água e saneamento nas regiões pobres dos países em desenvolvimento, muitas pessoas ainda não são beneficiadas. Cerca de 2,4 bilhões de pessoas em todo mundo não vivem com condições aceitáveis de saneamento, enquanto 1,1 bilhões de pessoas não têm sequer acesso a um adequado abastecimento de água.

Na região das Américas e no Caribe, a população total com acesso a água potável caiu de 79% em 1988, para 73% em 1995 (OPAS, 2001). Estima-se que para o ano 2025, aproximadamente 2/3 da população mundial, viverão em áreas que enfrentarão problemas hídricos (CIRELLI & MORTIER, 2005).

Contudo, no ano 2000, o Programa Visão 21 – “Água para as pessoas” sob os auspícios do Conselho para Abastecimento de Água e Saneamento (OPAS, 2001) traçou como objetivo até 2015 reduzir pela metade o número de pessoas sem acesso a instalações sanitárias adequadas e assegurar quantidades apropriadas de água de qualidade segura e de custo acessível. Isso significa levar serviços de água tratada a quase 300.000 pessoas todos os dias nesses 15 anos, e melhorar as instalações sanitárias para cerca de 400.000 pessoas por dia e, até 2025, obter acesso universal aos serviços de abastecimento de água tratada e saneamento básico.

Com nove grandes bacias hidrográficas (Amazonas, Tocantins/Araguaia, Paraguai, Nordeste, São Francisco, Atlântico Leste, Paraná, Uruguai e Atlântico Sudeste), o Brasil é um país rico em água doce e um dos maiores em produção hídrica, representando 53% da produção de água doce do continente sul-americano e 12% do total mundial (FNS, 1999; REBOUÇAS, 2002). Essa grande disponibilidade hídrica está distribuída de forma desigual em relação à densidade populacional: a maior parte da água disponível para uso no Brasil está concentrada nas regiões Norte e Centro-Oeste, com cerca de 89% das águas superficiais do país, no entanto ali moram apenas 14,5% dos brasileiros, que consomem somente 9,2% da demanda hídrica do país. Os 11% restantes do potencial hídrico superficial estão distribuídos entre os 85,5% da população, com 90,8% da demanda de água (TUNDISI, 2003; ANDREOLI *et al.*, 2003). A região Nordeste, com cerca de 29% da população brasileira, detém apenas 2,3% do volume de água doce disponível no país, com problemas que comprometem a sua qualidade. Segundo Vieira (2002), os principais problemas relacionados à qualidade da água no nordeste brasileiro são: a salinização dos corpos hídricos pelas formações cristalinas, normalmente salinas, que lixiviam sais para o solo e para as águas; elevados níveis de turbidez e assoreamento, poluição com esgotos domésticos e industriais, efluentes de matadouros, fertilizantes químicos e agrotóxicos das áreas agrícolas e pastoris e acúmulo de lixo.

O Estado da Paraíba tem um potencial hídrico per capita de $1.394 \text{ m}^3 \text{ hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, o segundo mais baixo do país, à frente apenas de Pernambuco. Na Tabela 3.2 são apresentados dados de disponibilidade hídrica e consumo *per capita* de cada estado brasileiro, bem como sua utilização total.

A situação das águas no interior do Estado da Paraíba, região que é considerada uma das mais pobres do país, é bastante precária. Os rios e açudes em geral recebem esgotos domésticos e industriais devido à escassez de redes coletoras e de estações de tratamento de esgotos (ETEs), assim como resíduos líquidos das áreas agrícolas que escoam pelas bacias de drenagem, associados às práticas agrícolas primitivas (CEBALLOS *et al.*, 2003). Todavia, uma parte significativa da população rural utiliza estas águas para consumo humano, sem tratamento prévio, devido à falta de água encanada e tratada.

Tabela 3.2 – Disponibilidade hídrica por estado brasileiro e utilização total

Região	Estado	Potencial Hídrico (km ³ /ano)	Disponibilidade hídrica (m ³ /hab. ano)	Utilização total (m ³ /hab. ano)
Sul	Santa Catarina	62,0	12.653	366
	Paraná	113,4	12.600	189
	Rio Grande do Sul	190,0	19.792	1.015
Sudeste	Espírito Santo	18,8	6.714	223
	Rio de Janeiro	29,6	2.189	224
	São Paulo	91,9	2.209	373
	Minas Gerais	193,9	11.611	262
Centro-Oeste	Distrito Federal	2,8	1.555	150
	Mato Grosso	522,3	237.409	89
	Mato Grosso do Sul	69,7	36.684	174
	Goiás	283,9	63.089	177
Norte	Acre	154,0	351.123	95
	Amapá	196,0	516.525	69
	Amazonas	1843,3	773.000	80
	Rondônia	150,2	115.538	44
	Roraima	372,3	1.506.488	92
	Tocantins	122,8	116.952	
	Pará	1124,7	204.491	46
Nordeste	Alagoas	4,4	1.692	159
	Bahia	35,9	2.872	173
	Ceará	15,5	2.279	259
	Maranhão	84,7	16.226	61
	Paraíba	4,6	1.394	172
	Pernambuco	9,4	1.270	268
	Piauí	24,8	9.185	101
	Rio Grande do Norte	4,3	1.654	207
	Sergipe	2,6	1.625	161
TOTAL	BRASIL	5.610,0	35.732	273

Fonte: Adaptado de Rebouças, Braga & Tundisi (1999)

Segundo a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - PNSB de 2000 do IBGE (2002), no conjunto dos 9.848 distritos brasileiros, não existe rede de abastecimento de água em 1.192 distritos, sendo 95 na região Norte, 107 no Sudeste, 375 no Sul, 81 no Centro-Oeste e 534 no Nordeste.

Deve-se destacar que esses dados se referem ao número de distritos e não ao número de pessoas sem acesso a água potável. Os números mencionados mostram falta de rede geral de abastecimento de água potável em diversos distritos, sendo acentuada essa carência na zona rural. No Brasil 54,6% dos domicílios rurais não possuem abastecimento de água na edificação, enquanto que na área urbana esse percentual cai para 6,8% (IBGE, 2002).

Nos municípios que não contam com rede de distribuição de água, são utilizados como alternativa para o abastecimento da população açudes, olhos d'água, chafarizes e fontes, poços e água de caminhões pipas, de qualidade duvidosa. O Estado da Paraíba possui um total de 283 distritos; desses, 31 não possuem rede geral de abastecimento de água e utilizam essas soluções alternativas como principais fontes fornecedoras de água (IBGE, 2002).

Existe estreita relação entre disponibilidade de água de boa qualidade e saúde humana. A interrelação entre o uso da água e a qualidade requerida para esse uso é direta (VON SPERLING, 1996; HELLER, 1997). Muitos processos, materiais ou substâncias podem comprometer a qualidade das águas subterrâneas ou superficiais (BRAGA, HESPANHOL & CONEJO, 2002). Do ponto de vista da saúde pública e ambiental, poluente é qualquer substância biológica, química ou física que presente em excesso em um corpo hídrico pode causar efeitos negativos aos seres vivos e prejudicar os usos que sejam feitos dessa água (BRANCO, 1996).

3.3 – Contaminação das águas e as doenças

Antigamente entendia-se que água suja era aquela turva, não transparente. Nos dias atuais, a poluição deve ser entendida como uma alteração da qualidade da água provocada pelo lançamento de despejos, tornando-a imprópria para os usos aos quais foi destinada. Os efeitos provocados por estes materiais ou substâncias estranhas na água são traduzidos pela destruição da flora e da fauna naturais do manancial, além, da contaminação microbiológica, que torna a água veículo de transmissão de doenças infecciosas (BRANCO, 1986).

As descargas poluidoras mais importantes ainda são os despejos dos esgotos sanitários e industriais e as águas de escoamento das áreas agrícolas, os quais tornam a água inaceitável para usos mais nobres, como consumo humano e irrigação irrestrita (METCALF & EDDY, 1991). Apenas 14% das águas residuárias são tratadas na América Latina (OPAS, 2001).

Em torno de 90% das águas residuárias domésticas e 70% dos despejos industriais nos países em vias de desenvolvimento são lançados sem nenhum tratamento, provocando, com frequência, a contaminação da água para consumo (CIRELLI & MORTIER, 2005). A situação do esgotamento sanitário dos municípios brasileiros ainda tem um longo caminho a percorrer para atingir uma condição satisfatória. Conforme a PNSB – 2000, dos municípios brasileiros que não possuem coleta de esgoto a região Norte apresenta a maior proporção (92,9%), seguida do Centro-oeste (82,1%), do Sul (61,1%), do Nordeste (57,1%) e do Sudeste (7,1%). Daqueles distritos com coleta de esgoto sanitário, 1/3 tratam o esgoto coletado (33,8%) e 2/3 não fazem nenhum tipo de tratamento ao esgoto produzido (66,2%). Nestes distritos, o esgoto é despejado *in natura* nos corpos d'água ou no solo, comprometendo os recursos hídricos. Do total de distritos que não tratam o esgoto sanitário coletado, a grande maioria (84,6%) despeja o esgoto nos rios, sendo os distritos das regiões Norte e Sudeste os que mais se utilizam desta prática (93,8% e 92,3%, respectivamente) (IBGE, 2002).

Os recursos hídricos têm capacidade de diluir e assimilar a poluição de esgotos e outros resíduos através de processos naturais de ordem física, química e biológica, que definem seu poder de autodepuração, isto é, sua capacidade de restabelecer o equilíbrio ecológico natural após as descargas de dejetos, porém esta capacidade é limitada e é, frequentemente, ultrapassada pelas descargas dos detritos das atividades humanas, causando impactos ambientais com reflexos negativos nos aspectos sociais e econômicos (ANDREOLI *et al.*, 2003).

Segundo Geldreich & Craun (1996), o maior impacto da degradação da qualidade das águas sobre a saúde pública ocorre através da ingestão de água contaminada. Os recursos hídricos poluídos por descargas de resíduos humanos e de animais transportam grande variedade de microrganismos patogênicos, entre eles vírus, bactérias, protozoários e helmintos que podem causar doenças caracterizadas por

estados mórbidos complexos, desidratação e morte (TUNDISI, 2003). A Tabela 3.3 apresenta as principais bactérias patogênicas transmitidas pela água, sua importância para a saúde, persistência nos sistemas de abastecimento de água e dose infectiva.

Tabela 3.3 – Bactérias patogênicas e oportunistas transmitidas pela água contaminada

Bactérias	Influência na saúde	Persistência nos sistemas de abastecimento de água	Dose infectante
<i>E. coli</i> patogênica	Alta	Moderada	Alta
<i>Salmonella typhi</i>	Alta	Moderada	Alta
Outras salmonelas	Alta	Prolongada	Alta
<i>Shigella</i> spp.	Alta	Curta	Moderada
<i>Vibrio cholerae</i>	Alta	Curta	Alta
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Alta	Prolongada	Alta
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Moderada	Pode se multiplicar	Alta

Fonte: SODIS (2003)

Grande parte das doenças no mundo, tais como parasitoses, febre tifóide, cólera, hepatite, poliomielite, entre outras, têm como fonte principal a qualidade da água. As doenças de veiculação hídrica são aquelas disseminadas através de águas contaminadas, principalmente pela presença de fezes e de esgotos, e veiculam diferentes microrganismos infecciosos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos). Concentrações elevadas de organismos entéricos são introduzidas no ambiente aquático através da contaminação com fezes de pessoas ou animais infectados. Quando ocorre essa contaminação ambiental, indivíduos e animais suscetíveis são infectados (PELCZAR, CHAN & KRIEG, 1996a).

De acordo com Feachem *et al.* (1983) as moléstias relacionadas com a água podem ser divididas em quatro grupos que dependem da forma em que ocorre a transmissão: a) as doenças no qual o agente patogênico é ingerido junto com a água; b) as doenças passíveis de serem transmitidas durante a higiene pessoal; c) as doenças por contato com a água contaminada; d) as moléstias cujo vetor apresenta o desenvolvimento de parte de seu ciclo evolutivo no ambiente aquático. A Tabela 3.4 resume as principais doenças associadas à água.

Tabela 3.4 – Principais doenças associadas à água

Doenças	Agente Causal	Sintomas
<i>Ingestão de água contaminada</i>		
Disenteria bacilar	Bactéria (<i>Shigella dysenteriae</i>)	Forte diarreia
Cólera	Bactéria (<i>Vibrio cholerae</i>)	Diarreia forte, desidratação e alta taxa de mortalidade
Leptospirose	Bactéria (<i>Leptospira</i>)	Icterícia e febre
Salmonelose	Bactéria (<i>Salmonella</i>)	Febre, náusea e diarreia
Febre tifóide	Bactéria (<i>Salmonella typhi</i>)	Febre elevada, diarreia e ulceração do intestino delgado.
Disenteria amebiana	Protozoário (<i>Entamoeba histolytica</i>)	Diarreia prolongada com sangramento e abscessos no fígado e intestino delgado
Giardiase	Protozoário (<i>Giardia lamblia</i>)	Diarreia leve a forte, náusea, indigestão e flatulência.
Hepatite infecciosa	Vírus (vírus da hepatite A)	Icterícia e febre
Gastroenterite	Vírus (enterovírus, parvovírus, rotavírus)	Diarreia leve a forte
Paralisia infantil	Vírus (Poliomielite)	Paralisia
<i>Contato com água contaminada</i>		
Escabiose	Sarna (<i>Sarcoptes scabiei</i>)	Úlceras na pele
Tracoma	Clamídea (<i>Chlamydia tracomatis</i>)	Inflamação dos olhos, cegueira completa ou parcial
<i>Verminoses, tendo na água um estágio do ciclo de vida</i>		
Esquistossomose	Helminto (<i>Schistosoma</i>)	Diarreia, aumento do baço e do fígado e hemorragias
<i>Transmissão através de insetos, tendo a água como meio de procriação</i>		
Malária	Protozoário (<i>Plasmodium</i>)	Febre, suor e calafrios de gravidade variável de acordo com o tipo de <i>Plasmodium</i>
Febre amarela	Vírus (Flavivírus)	Febre, dor de cabeça, prostração, náusea e vômitos
Dengue	Vírus (Flavivírus)	Febre, forte dor de cabeça, dores nas juntas e músculos e erupções
Filariose	Helminto (<i>Wuchereria bancrofti</i>)	Obstrução de vasos e deformação

Fonte: VON SPERLING (1996)

As enfermidades causadas pela ingestão de microrganismos patogênicos que se encontram na água ou em alimentos contaminados, estão entre aquelas que produzem efeitos mais profundos na saúde humana, e encontram-se entre as cinco causas principais de morte em crianças menores de um a cinco anos de idade. Crianças de países subdesenvolvidos com doenças diarréicas endêmicas sofrem em média 3,3 casos de diarréias por ano, sendo que, em alguns lugares, podem ocorrer até nove casos/ano. Nas áreas onde a ocorrência é mais freqüente as crianças podem passar até 15% de suas vidas com diarréia. Dessa forma, as diarréias constituem uma das mais graves ameaças para a saúde da população infantil da América Latina e do Caribe. Água segura, higiene e saneamento adequados podem reduzir de um terço a um quarto os casos de doenças diarréicas (TRAVERSO, 1996).

Segundo o Programa de Monitoramento do Suprimento de Água e Saneamento - 2000 (WHO, 2004; UNICEF, 2004), ocorrem no mundo 4 bilhões de casos de diarréia por ano, com 2,2 milhões de mortes, a maioria entre crianças de até cinco anos de idade. Estima-se que 80% das doenças e mais de um terço das disfunções (diarréias, cólera, febre tifóide, hepatite A, disenteria amebiana, entre outras) ocorridas nos países da América Latina estão associadas com a água (carência, qualidade deficiente), e nada menos do que um décimo do tempo produtivo de um indivíduo é perdido em consequência dessas doenças (GALAL-GORCHEV, 1996). Segundo estimativas da UNICEF (2004), em 1990 a média mundial da taxa de mortalidade de menores de cinco anos era de 93 mortes por cada 1000 crianças nascidas vivas, diminuindo para 83 mortes em 2000, ou seja um decréscimo de 11%. As taxas de mortalidade em menores de cinco anos na América Latina e Caribe são apresentadas na Tabela 3.5. O Haiti está no primeiro lugar, apresentando 125 mortes/1000 menores nascidos vivos (UNICEF, 2004).

De acordo com a Pesquisa Nacional de Amostra por Domicílio – 2005 (IBGE, 2002), no Brasil, a taxa de mortalidade infantil reduziu de 37,9‰ para 25,8‰ entre 1995 e 2005, o que corresponde a uma queda de quase 32% no período de 10 anos. A melhoria das condições de habitação, particularmente o aumento relativo do número de domicílios com saneamento básico adequado vem contribuindo para reduzir as mortes infantis. O Rio Grande do Sul foi o estado que registrou a menor taxa de mortalidade infantil em 2005 (14,3‰) e Alagoas, com 53,7‰, apresentou a mais elevada.

Tabela 3.5 – Taxa de mortalidade em menores de 5 anos na América Latina e Caribe, 2000

Países	Mortes/1000 vivos	Países	Mortes/1000 vivos
Cuba	9	México	30
Chile	12	Paraguai	31
Costa Rica	12	Equador	32
Barbados	14	Suriname	33
Antígua e Barbuda	15	Brasil	38
Dominica	16	El Salvador	40
Uruguai	17	Honduras	40
Bahamas	18	Belize	41
Santa Lúcia	19	Nicarágua	45
Jamaica	20	República Dominicana	48
Trinidad e Tobago	20	Peru	50
Argentina	21	Guatemala	59
Venezuela	23	Guiana	74
Panamá	26	Bolívia	80
Colômbia	30	Haiti	125

Fonte: UNICEF, 2004

As doenças de veiculação hídrica aumentam de intensidade e distribuição em regiões com alta concentração populacional, como nas zonas periurbanas de metrópoles, pela intensificação de atividades humanas, como pecuária ou agricultura, ou atividades industriais com resíduos do processamento de carnes ou laticínios e, portanto, com alta carga de matéria orgânica (TUNDISI, 2003).

A pesquisa “Uma Avaliação do Impacto do Programa Saúde da Família (PSF) na Mortalidade Infantil no Brasil”, foi realizada pelo Ministério da Saúde em todos os estados brasileiros para aferir os resultados obtidos pelo Programa Saúde da Família (PSF). Os resultados mostram diminuição da taxa da mortalidade infantil na Paraíba para 20,12% considerando que entre 2002 e 2004 as mortes de crianças menores de cinco anos diminuíram de 32,3 óbitos por mil nascidos vivos, para 25,8 óbitos. Já, segundo o Boletim Informativo Epidemiológico da SES – 2006 a mortalidade de crianças menores de cinco anos caiu para 18,53 óbitos em cada 1000 nascidas vivas no

ano de 2005 (GOVERNO DO ESTADO DA PARAÍBA, SECRETARIA DE SAÚDE, 2006).

Em parte, a incidência dessas doenças depende do clima, da geografia, da cultura, dos hábitos sanitários e, da quantidade e qualidade da água abastecida localmente, além dos métodos de disposição dos dejetos (SAUNDERS, 1983). O grau e a frequência de exposição a agentes patogênicos presentes na água vêm aumentando pelo crescimento da população mundial. O desenvolvimento das comunidades exerce uma pressão excessiva sobre as barreiras infra-estruturais de saneamento (abastecimento de água potável, coleta e tratamento de águas residuárias, tratamento e disposição dos resíduos sólidos), destacando-se que os sistemas coletivos de distribuição de água potável e de coleta e tratamento dos esgotos não crescem com o mesmo ritmo e necessidades da população em expansão (GELDREICH, 1996).

Uma das metas das Nações Unidas (UN, 2005), através do Programa UN Millennium Development Goals baseado na Resolução N°. 55/2, United Nations Millennium Declaration, de 8 de setembro de 2000, é a de promover um desenvolvimento melhor e mais justo através do combate à pobreza, à ignorância, à morbidade, à injustiça, à violência, ao crime e à degradação social, prevendo reduzir em 50% o número de pessoas que não têm acesso à água potável e diminuir em aproximadamente 2/3 a taxa atual de mortalidade infantil em crianças menores de cinco anos, no período de 1990 a 2015.

3.4 – Bactérias indicadoras de contaminação fecal

Os microrganismos presentes nas águas naturais são autóctones desses ambientes e, na sua maioria, inofensivos ao homem e aos animais. Outros são oportunistas e agem como patogênicos nos indivíduos imunodeprimidos, idosos, e outros grupos específicos de risco. A poluição altera a qualidade natural da água contaminando-a com microrganismos exógenos, geralmente patogênicos humanos, provenientes dos esgotos e do material fecal, acelera o processo de eutrofização e favorece o crescimento excessivo da população de macrófitas aquáticas, cianobactérias e algas. Todas essas alterações são conseqüências das atividades antrópicas

desordenadas na bacia hidrográfica (usos não planejados do solo, drenagens de áreas agrícolas, esgotos industriais e domésticos) (CEBALLOS, AZEVEDO & BANDATE, 2006).

Os microrganismos patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) são os mais freqüentes e importantes contaminantes das águas naturais nos países em desenvolvimento, sendo sua presença ambiental associada à carência de saneamento básico. Em consequência, mais de 2 milhões de pessoas de países em desenvolvimento morrem a cada ano por enfermidades ligadas às deficiências de abastecimento de água e de sistema de esgotamentos (GALAL-GORCHEV, 1996; BRAGA, HESPANHOL & CONEJO., 2002).

As condições sanitárias da água são fundamentais para definir seus usos. O padrão de qualidade bacteriológica de uma água para consumo humano (Portaria 518/2004-MS) estabelece que a mesma deve estar isenta de microrganismos patogênicos responsáveis pela transmissão de enfermidades como salmoneloses, shigeloses, amebíase, etc (APELLA & ARAÚJO, 2005). A mesma portaria estabelece que toda água para consumo humano deva estar isenta de coliformes termotolerantes e de *E.coli*. Estas são bactérias indicadoras de contaminação fecal e da qualidade sanitária da água, em nível mundial.

A Tabela 3.6 apresenta um resumo dos padrões microbiológicos para a água potável, de acordo com a legislação atual do Brasil.

A detecção e quantificação de todos os microrganismos patogênicos potencialmente presentes na água é laboriosa, demanda tempo, os custos são elevados e nem sempre se obtêm resultados positivos ou que confirmem a presença desses microrganismos, já que são descarregados de forma intermitente pelos indivíduos contaminados. Essas considerações levaram ao questionamento de qual microrganismo seria o ideal para servir como indicador da qualidade microbiológica de uma água, uma vez que a realização de exames para todos os possíveis microrganismos é técnica e economicamente inviável. Para superar estes inconvenientes definiram-se as bactérias indicadoras de contaminação fecal (CEBALLOS, 2000; DANIEL *et al.*, 2001).

Tabela 3.6 - Padrões microbiológicos para água potável segundo a Portaria nº.518/2004 do Ministério da Saúde

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

Fonte: Ministério da Saúde (2004)

Segundo Feachem *et al.* (1983), uma bactéria indicadora de contaminação fecal deve reunir um conjunto de características, destacando-se:

- estarem presentes em águas poluídas por fezes de animais homeotérmicos e ausentes em águas não contaminadas;
- estarem presentes na água sempre que os microrganismos patogênicos estiverem presentes;
- não serem patogênicos;
- fazerem parte da biota intestinal de animais de sangue quente;
- serem exclusivos do trato intestinal de humanos e de animais homeotérmicos;
- não se reproduzirem fora do intestino;
- apresentarem relação quantitativa direta com o grau de poluição;
- resistirem a fatores ambientais e aos tratamentos de esgotos de forma igual ou superior aos microrganismos patogênicos;

- apresentarem-se em números mais elevados que os microrganismos patogênicos nas fezes e nos esgotos.

Não existe nenhuma bactéria ou organismo que reúna todos os critérios de um indicador fecal ideal e apenas alguns grupos satisfazem alguns desses requisitos. Dentre eles destacam-se: *Escherichia coli*, coliformes totais e termotolerantes, estreptococos fecais, *Clostridium* sulfito redutores e *Clostridium perfringens* (FEACHEM *et al.*, 1983).

Assim, na ausência de um indicador ideal, deve-se trabalhar com o melhor indicador, que seria aquele que apresentasse melhor correlação com os riscos de saúde associados com a contaminação de um determinado ambiente (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000; BASTOS *et al.*, 2000).

3.4.1 – Coliformes totais e termotolerantes

Desde o início do século XX, as bactérias coliformes vêm sendo usadas como indicadoras de contaminação fecal. O grupo de bactérias coliformes, chamado de coliformes totais (CT), está constituído por vários gêneros da família Enterobacteriaceae (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Escherichia*), sendo definidas como bastonetes gram-negativos, não formadores de esporos, com metabolismo anaeróbio facultativo, que fermentam a lactose a 37°C com produção de ácido e gás em 24-48 horas (APHA, AWWA & WEF, 1998).

Como alguns coliformes totais não são enterobactérias, mas sim bactérias comumente encontradas em amostras de plantas e solo, muitos padrões para alimentos e água especificam a identificação dos coliformes termotolerantes (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). Por isso, na avaliação da qualidade de águas naturais, os coliformes totais têm valor sanitário limitado. Sua aplicação restringe-se praticamente à avaliação da qualidade da água tratada, onde sua presença pode indicar falha no tratamento, uma possível contaminação após o tratamento, ou ainda, a presença de nutrientes em excesso, por exemplo, nos reservatórios ou na rede de distribuição (BASTOS *et al.*, 2000).

Os coliformes hoje denominados termotolerantes foram primeiramente citados como coliformes fecais, tendo sido definidos na década de 1940 como aqueles

coliformes do grupo dos coliformes totais que conseguem crescer, fermentando a lactose a 44,5°C. Portanto, os coliformes termotolerantes constituem um subgrupo dos coliformes totais e diferenciam-se dos anteriores por serem tolerantes a temperaturas mais altas (APHA, AWWA & WEF, 1998). Essa propriedade faria deles melhores indicadores de contaminação fecal por estarem adaptados a temperaturas mais altas, semelhantes às dos corpos dos animais homeotérmicos. A detecção dos coliformes fecais ou termotolerantes vem sendo importante na avaliação do comprometimento bacteriológico e sanitário, em geral, do uso da água, sendo utilizados convencionalmente como critérios de risco de contaminação fecal da água para o consumo humano (CEBALLOS, 2000).

E. coli é um habitante normal do intestino grosso de vertebrados, incluindo humanos, e a sua presença é benéfica porque ajuda na produção de vitaminas e participa na digestão de alguns alimentos (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). Sua presença numa água é utilizada como confirmação da contaminação fecal. Entretanto, algumas cepas de *E. coli* são patogênicas e causam infecção intestinal, geralmente aguda, e não apresentam maiores complicações, exceto para crianças e adultos com deficiências nutricionais e imunológicas (CEBALLOS, 2000; TRABULSI & ALTERTHUN, 2004).

3.4.2 – Outros indicadores

Alguns outros microrganismos, além dos coliformes, vêm sendo utilizados como indicadores de contaminação fecal. Dentre eles se destacam os anaeróbios *Bifidobacterium* spp., fermentadores de sorbitol e *Bacteroides fragilis*. Dentre as bactérias oportunistas, *Pseudomonas aeruginosa* é importante, em especial em águas de fontes naturais e em água mineral. Como indicadores de vírus, foram testados os colifagos (vírus que matam coliformes), com resultados não muito promissores. (GELDREICH, 1966; DUTKA, 1973 *apud* SOARES, 2002).

Pseudomonas spp. são bastonetes gram-negativos aeróbios com flagelo polar. Muitas espécies excretam pigmentos extracelulares, solúveis em água que difundem no seu próprio meio (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). Segundo o Manual de Bergey, este grupo admite sete espécies, sendo *Pseudomonas aeruginosa* a de maior relevância sanitária, por ser um microrganismo patogênico oportunista e agente etiológico de infecções nas vias urinárias, intestinais, ouvido externo e feridas (TORTORA, FUNKE

& CASE, 2000). Uma das características mais destacadas da *Pseudomonas aeruginosa* é a capacidade de produzir um exo-pigmento azul-esverdeado, denominado piocianina, que tem poder de destruir outros microrganismos (ou poder bactericida). É por essa razão que a *Pseudomonas aeruginosa* é também denominada bacilo piocianico (TRABULSI & ALTERTHUN, 2004).

A capacidade da *Pseudomonas aeruginosa* de crescer em águas com baixos níveis de sólidos dissolvidos e compostos orgânicos confirma sua habilidade de adaptar-se perfeitamente a ambientes nutricionalmente muito pobres (GUERRA *et al.*, 2006). Bactérias como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* são freqüentes nos encanamentos e conexões de plástico formando uma camada lodosa (biofilme) o que dificulta a ação de desinfetantes. (BECK, 1995 *apud* VELANO *et al.*, 2001).

A presença e quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* são indicadas para avaliar águas potáveis, minerais e recreacionais (APHA, AWWA & WEF, 1998). A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2004) estabelece que água engarrafada para consumo humano deva ser totalmente livre de coliformes e *P. aeruginosa*. Esta bactéria foi incluída devido à vulnerabilidade de crianças e idosos a este microrganismo.

3.5 – *Salmonella* spp.

As salmonelas são bactérias em forma de bastonetes, Gram-negativas, pertencentes à família Enterobacteriaceae, não esporuladas, fermentadoras da glicose com produção de gás e produtoras de H₂S e CO₂ ao degradar proteínas (exceto *Salmonella typhi*). São patógenos do trato entérico humano, causando quadros diarréicos autolimitados, que podem ser recorrentes (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). As salmonelas distribuem-se amplamente na natureza. Animais domésticos (galinhas e bovinos) e selvagens são os reservatórios principais (zoonose) (CEBALLOS, 2000).

As salmonelas são, entre as enterobactérias responsáveis por gastroenterites, as mais freqüentes, pela sua distribuição mundial e facilidade de transmissão, causando números elevadas de estados mórbidos e até mortes em imunodeprimidos. Nesses casos, recorre-se a antibioticoterapia. É um dos microrganismos enteropatogênicos mais

detectados em águas e alimentos contaminados, sob condições sanitárias precárias de higiene (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000).

Salmonella spp. é muito usada em pesquisas ambientais, em particular quando se precisa avaliar a correlação entre bactérias patogênicas e bactérias indicadoras de contaminação fecal, como coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (CEBALLOS, 2000).

Apesar da grande vantagem em se utilizar os microrganismos indicadores para conhecer a qualidade microbiológica da água, em algumas situações a sua ausência não comprova necessariamente que a água esteja isenta de microrganismos patogênicos, visto que algumas bactérias enteropatogênicas, a exemplo de *Salmonella* spp. e *V. cholerae*, foram isoladas em amostras de água onde houve ausência ou baixos valores de coliformes (MORINGO *et al.*, 1990 *apud* MORAES, 2001).

3.6 – Tecnologias de desinfecção de águas

A desinfecção da água tem por finalidade a destruição dos microrganismos patogênicos ali presentes (bactérias, protozoários, vírus e helmintos) (RICHTER & AZEVEDO NETTO, 1998). No geral, a desinfecção é aplicada no final do tratamento convencional da água, para eliminar os microrganismos remanescentes (DANIEL *et al.*, 2000).

Para que o processo de desinfecção seja eficiente e poder definir apropriadamente os parâmetros do processo, é preciso conhecer os principais microrganismos contaminantes, seu número inicial, as características da água (turbidez, cor, pH), o volume de água a ser desinfetado, o tipo de desinfetante a ser usado, sua concentração e o tempo de contato a ser aplicado (DANIEL *et al.*, 2000; ASCENCIO 2005). Witt & Reiff (1996b) destacam, em relação à eficiência, a grande importância da natureza e concentração dos microrganismos presentes na água, considerando que algumas espécies de bactérias, como as bactérias esporuladas, cistos de protozoários e os vírus são mais resistentes que as bactérias coliformes, além da natureza do agente desinfetante.

O conhecimento dos gêneros ou das espécies dos microrganismos presentes nos ecossistemas aquosos naturais e o comportamento destes no seu ambiente permitem desenvolver novas tecnologias para sua eliminação e controle da veiculação de doenças através das águas (GELDREICH, 1996).

A ação dos desinfetantes sobre os microrganismos pode ocorrer sob três mecanismos diferentes (STANIER *et al.*, 1963 *apud* DANIEL *et al.*, 2001):

- destruição ou danificação da organização estrutural da célula – o desinfetante atua sobre os constituintes da parede celular, que são destruídos ou danificados, gerando disfunções na ação da membrana semipermeável. O desinfetante age, ainda, combinando-se com ácidos ribonucléicos, no interior do núcleo ou do citoplasma;
- interferência no nível energético do metabolismo, que ocorre pela inativação de enzimas, competição com substratos de enzimas, etc;
- interferência na biossíntese e crescimento, devido à combinação de vários mecanismos, como a síntese de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas ou células estruturais.

Um bom desinfetante, para ser apropriado à desinfecção da água destinada ao consumo humano, deve satisfazer os critérios citados a seguir (WITT & REIFF, 1996b):

- deve poder inativar, dentro de um tempo limitado, todos os organismos patógenos presentes na água;
- a determinação de sua concentração deve ser precisa, rápida, fácil e passível de ser executada, tanto em campo como no laboratório;
- deve ser aplicável dentro da ampla faixa de condições de qualidade apresentadas pelas águas a serem desinfetadas;
- deve possuir poder residual duradouro para evitar a recontaminação da água no sistema de distribuição;
- não deve ser tóxico ao ser humano ou produzir substâncias tóxicas acima dos limites permitidos na legislação, também não deve ser capaz de alterar a aceitabilidade da água pelo consumidor;
- deve ser razoavelmente seguro e fácil de manejar e aplicar;

- os custos do produto, dos equipamentos, instalação e manutenção devem ser razoáveis.

Na prática, não há um desinfetante ideal que atenda a todos os requisitos, independentemente da situação de uso. Cada agente desinfetante apresenta vantagens e desvantagens em função de condições específicas de sua utilização e depende, para a otimização dos resultados, tanto da qualidade da água a ser desinfetada (características físicas, químicas, e grau de contaminação microbiológica), como das condições de projeto, operação e manutenção das unidades. Dessa forma, a seleção da tecnologia de desinfecção apropriada a cada realidade deve levar em conta esses aspectos, e outros fatores, como a geração de subprodutos não nocivos à saúde humana, residuais não tóxicos que influenciam na confiabilidade, continuidade e eficiência do sistema (DANIEL *et al.*, 2000; MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005).

Os desinfetantes mais comumente utilizados são: o cloro (cloro gasoso, hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio), a cloramina e o ozônio; também se usa a irradiação com luz ultravioleta de baixo comprimento de onda, especialmente em países desenvolvidos e após o surto de cryptosporidíase em 1993, em Milwaukee, Michigan-USA (GALAL-GORCHEV, 1996).

Segundo Richter & Azevedo Netto (1998), o cloro é, entre os agentes de desinfecção, o mais largamente empregado na purificação da água, porque é facilmente disponível como gás, líquido ou sólido, é barato, é fácil de aplicar devido à sua solubilidade (7,0 g/l a aproximadamente 20°C), deixa residual em solução de concentração facilmente determinável, não é perigoso ao homem, protege o sistema de distribuição, é capaz de destruir a maioria dos microrganismos patogênicos.

Existem algumas teorias sobre a ação desinfetante das várias formas de cloro sobre bactérias, entre elas, a que parece de maior aceitação, é a que considera que o cloro interfere com enzimas essenciais para a vida dos microrganismos. Os vírus não parecem ser susceptíveis à inativação de enzimas específicas, sendo a ação do cloro livre explicada por outras formas de oxidação de diferentes substratos (MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005).

O cloro gasoso apresenta algumas desvantagens por ser um gás venenoso e corrosivo, requerendo cuidadoso manejo. Na água pode causar problemas de gosto e odor, particularmente na presença de fenóis (RICHTER & AZEVEDO NETTO, 1998). Os subprodutos do cloro, mais comumente, são os ácidos acéticos halogenados, os acetonitrilos halogenados, os fenóis clorados e os trihalometanos (THM) (GALALGORCHEV, 1996; DANIEL *et al.*, 2001).

O ozônio é um dos oxidantes mais potentes e um excelente desinfetante da água. Recentemente, tem-se manifestado maior interesse pelo ozônio, especialmente porque não produz trihalometanos (THM) durante a desinfecção e é mais eficiente que o cloro para inativar microrganismos mais resistentes como, os cistos de *Giardia* e os oocistos de *Cryptosporidium* (WITT & REIFF, 1996a). Entre os subprodutos da ozonização encontram-se aldeídos, ácidos carboxílicos, peróxido de hidrogênio, bromato, bromometanos, ácidos acéticos bromados, acetonitrilos bromados e cetonas (GALALGORCHEV, 1966).

A geração de diferentes tipos e concentrações de subprodutos de desinfecção depende principalmente, do tipo de desinfetante, qualidade da água, da seqüência de tratamento, do tempo de contato e de fatores ambientais como alcalinidade, pH, temperatura, força iônica e catalisadores naturais (DANIEL *et al.*, 2001).

Ao contrário da maioria dos agentes desinfetantes normalmente utilizados em águas, a radiação ultravioleta (UV) não inativa os microrganismos por meio de interação (reação) química. A inativação é causada pela absorção dessa luz de alta energia pelos microrganismos, que promove reações fotoquímicas com os componentes fundamentais das células, prejudicando seu funcionamento normal, por exemplo, interrompendo o mecanismo de duplicação (inibindo a duplicação do DNA) e provocando a morte da mesma (USEPA, 1999).

A radiação ultravioleta tem comprimento de onda na faixa de 40 a 400nm e situada, no espectro eletromagnético, entre os raios X e a luz visível (Figura 3.1). De acordo com o comprimento de onda, a radiação ultravioleta é, em geral, dividida em 4 faixas:

- UV vácuo: 40 a 200nm;

- UV C: 200 a 280nm;
- UV B: 280 a 315nm;
- UV A: 315 a 400nm.

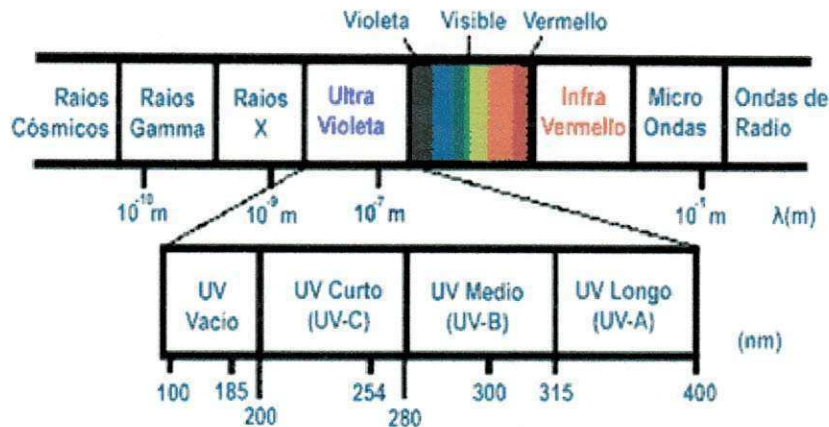


Figura 3.1 – Espectro eletromagnético

Segundo Bolton (1999) *apud* Guimarães *et al.* (2006), o mecanismo de desinfecção por radiação UV ocorre devido à absorção da radiação pelas proteínas e pelos ácidos nucleicos (RNA e DNA). A absorção de altas doses de UV pelas proteínas presentes nas membranas celulares leva ao rompimento dessas membranas e, conseqüentemente, à morte da célula. Porém, a absorção de pequenas doses de radiação ultravioleta pelo DNA interrompe a reprodução dos microrganismos, ao formar dímeros de timina ou de outras bases, dificultando e até impedindo a duplicação da dupla hélice.

Dessa forma, a luz UV tem efeito letal sobre microrganismos presentes na água, incluindo as bactérias indicadoras de contaminação fecal (SODIS, 2003), por ocorrerem alterações bioquímicas fundamentais para a multiplicação dos microrganismos, devido à dissipação, por excitação, da energia absorvida, que rompe as ligações não saturadas, principalmente de purinas e pirimidinas, principais componentes dos ácidos nucleicos. A absorção de radiação ultravioleta por bases nitrogenadas, adjacentes pode resultar na formação de dímeros, como citosina-citosina, adenina-adenina, timina-timina. A timina, por ter a estrutura mais simples das bases nitrogenadas, é a que apresenta maior freqüência na formação de dímeros (DANIEL *et al.*, 2001), isto é, se uma de duas bases

timinas adjacentes absorver um fóton de UV, ocorrerá à formação de um dímero de timina, o qual leva ao rompimento da estrutura de uma seção do DNA, bloqueando a elongação das fitas filhas durante a replicação, os quais mudam a estrutura do DNA impedindo a reprodução do microrganismo. Esse é o mecanismo fundamental da desinfecção por UV.

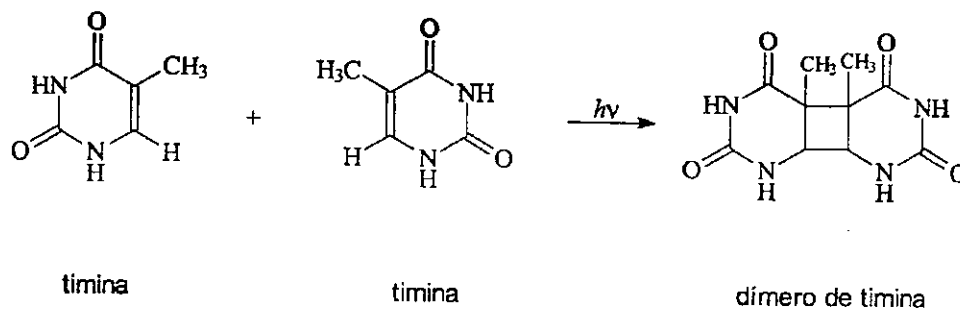


Figura 3.2 – Dimerização fotoquímica de duas bases nitrogenadas
 Fonte: Daniel *et al.* (2001)

A radiação UV também reage com o oxigênio dissolvido na água e produz formas altamente reativas de oxigênio (radicais livres de O₂ e peróxido de hidrogênio). Estas moléculas também interferem com as estruturas celulares e matam os microrganismos patogênicos (SODIS, 2003).

O sol é a fonte natural de radiação UV. Contudo fontes artificiais de radiação UV, baseadas no uso de descarga elétrica nos átomos de mercúrio que se encontram na forma de vapor e emitem radiação UV em 254nm, podem ser utilizadas no processo de desinfecção de águas. As lâmpadas de arco de mercúrio, os bulbos de lâmpadas incandescentes, os bulbos de lâmpadas de halogênios e, também, as telas de computador (PARROTA & BEKDASSH, 1998, *apud* DANIEL *et al.*, 2001) são exemplos de fontes artificiais de radiação UV.

Sobotka (1993) *apud* Donaire (2001) classifica as lâmpadas de radiação ultravioleta em dois tipos: de alta e de baixa pressão. Entre as lâmpadas de alta pressão, destacam-se as de argônio/mercúrio e eletrodos epoxidados (fios de volfrâmio envolvidos com estrôncio e carbonato de bário), com comprimento de onda máximo na

faixa de 365 a 366,3nm. O argônio tem duas funções básicas, auxiliar a partida da lâmpada e reduzir as perdas térmicas, contribuindo para o espectro de rendimento da lâmpada. Estão disponíveis no mercado lâmpadas de baixa e média pressão de vapor de mercúrio. As lâmpadas de baixa pressão emitem a maior parte da radiação no comprimento de onda 253,7nm – mais de 95% do total de emissão de raios ultravioleta está no comprimento de onda de 253,7nm -, enquanto as lâmpadas de média pressão emitem energia em comprimento de onda na faixa de 180 a 1370nm. A potência das lâmpadas de média pressão é muito maior que a das de baixa pressão, cuja potência de vapor está entre 15 e 65W. Nessas lâmpadas, aproximadamente 70% de toda a potência emitida é de raios ultravioletas (DANIEL *et al.*, 2001).

A escolha da lâmpada a ser usada para uma dada aplicação pode ser baseada em considerações econômicas. As lâmpadas de baixa pressão têm cerca de 20 vezes a eficiência germicida comparada às de média pressão, então, em princípio, seria a melhor escolha para sistemas menores. Entretanto, devido à maior intensidade de radiação da lâmpada de média pressão, menos lâmpadas seriam necessárias para sistemas maiores, o que resultaria em menores custos de manutenção (CRAIK *et al.*, 2001).

A desinfecção com radiação UV pode realizar-se com ondas de luz de 240 a 280 nanômetros (nm) de comprimento. A máxima eficiência germicida se obtém com comprimentos de onda em torno de 260nm. Em teoria, por este método, pode-se desinfetar a água com qualquer grau de contaminação, contudo, vários fatores podem reduzir a penetração dos raios UV na água, e esta consideração é importante porque afeta a eficiência do processo de desinfecção (WITT & REIFF, 1996a).

Segundo Daniel *et al.* (2001), parâmetros como pH, temperatura e alcalinidade não interferem na eficiência de desinfecção com radiação ultravioleta. Entretanto, quando essa operação é realizada com água dura podem ocorrer problemas relacionados à deposição de sais pouco solúveis (por exemplo, CaCO_3) no tubo que reveste a lâmpada, reduzindo a transmissão da radiação ultravioleta. A presença de sais e matéria orgânica em suspensão também pode afetar a eficiência da desinfecção. Alguns compostos, como ferro, sulfeto, nitrito e fenol, absorvem radiação ultravioleta no comprimento de onda de 254nm, enquanto os microrganismos podem usar partículas em suspensão (às quais se aderem) como uma forma de proteção à radiação incidente.

Embora eficiente na desinfecção de bactérias e vírus, doses maiores de radiação ultravioleta são requeridas para inativação de protozoários, como *Giardia* e *Cryptosporidium* (USEPA, 1999).

O termo “dose de UV” é freqüentemente utilizado na literatura de desinfecção e representa a exposição à radiação UV de um dado organismo, na faixa germicida. Este parâmetro é similar à concentração em mg/L, quando o desinfetante é uma substância química. A dose de radiação ultravioleta (mW.s/m^2) é o produto da intensidade de radiação bactericida (W/m^2) pelo tempo de exposição (s).

A dose de UV necessária para inativação dos microrganismos varia de espécie para espécie e através da classificação dos microrganismos (COTTON *et al.*, 2001).

O principal inconveniente do processo de desinfecção ultravioleta é que a radiação não produz residual, fator que deve ser considerado em relação às águas de consumo humano. Em consequência é obrigatório adicionar algum desinfetante químico secundário, com o objetivo de conferir residual na água desinfetada para controlar um posterior desenvolvimento das bactérias (DANIEL *et al.*, 2001; WITT & REIFF, 1996a).

Alguns autores destacam como outra desvantagem da desinfecção com radiação ultravioleta, os mecanismos de reparo do dano provocado ao DNA dos microrganismos durante a exposição e o poder destes em retornar ao estado original, inclusive voltando a se reproduzir, se uma dose subletal for empregada. Em algumas células danificadas pode ocorrer o processo de fotorreativação: caso a dimerização das bases não seja muito irreversível, a radiação entre 330-550nm pode catalisar a ruptura dos dímeros e produzir reversão (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

As bactérias e outros organismos possuem enzimas que podem reparar a lesão induzida por luz ultravioleta. As enzimas de reparo em presença de luz ou reparo no claro utilizam a energia da luz visível para separar o dímero novamente nas duas timinas originais (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). Inicialmente, uma enzima que reverte a modificação química que originou o dano, reconhece e liga-se ao dímero, depois a absorção de luz fornece energia para converter o dímero em monômero e por fim, a enzima dissocia-se do DNA, ocorrendo então “ativação” do microrganismo, que cresce

e se reproduz novamente (USEPA, 1999). Tortora, Funke & Case (2000) destacam que o reparo por excisão pode reparar a lesão induzida por UV. Neste caso as enzimas clivam as timinas distorcidas com ligação cruzada, abrindo um amplo intervalo. Estas, então, preenchem o mesmo com DNA recém-sintetizado, complementando a fita não lesada. Assim, a seqüência original de pares de bases é armazenada novamente. A última etapa é a selagem covalente do esqueleto do DNA pela enzima DNA-ligase. Ocasionalmente, este processo gera um erro, e a seqüência original de bases não é corretamente rearmazenada. O resultado deste erro é uma mutação.

Um estudo realizado em Campina Grande (PB) utilizando água de açude destinado a diversos usos, avaliou a eficiência da desinfecção bacteriana pela radiação solar e o recrescimento bacteriano 24 e 48 horas após a exposição solar. Os resultados demonstraram que houve redução de coliformes fecais, totais e *E. coli* após 4 horas de exposição solar em garrafas PET transparentes. Verificou-se a ocorrência de recrescimento tanto para *E. coli* como para coliformes totais. De acordo com dados registrados pela EMBRAPA – Algodão, Campina Grande - PB a partir das 2:00pm (4 horas de ensaio), onde se obtiveram os menores resultados do processo de desinfecção, a radiação solar caiu bruscamente. Assim as garrafas que permaneceram no sol depois das 2:00pm podem ter recebido radiação UV-A ocasionando fotorreativação das bactérias (DONAIRE & JARDIM, 2004).

Contudo, os mecanismos de reparo não são universais, existem muitos microrganismos que não apresentam esta capacidade (*Haemophilus influenzae*, *Diplococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus radiodurans* e vírus), entretanto outros como *Streptomyces* e *E. coli* entre outras enterobactérias, podem ser reativados (IBAÑEZ, 2005).

Na América Latina e no Caribe cerca de 80% da população que recebe água desinfetada se beneficiam do uso do cloro gasoso, 17% recebem água clorada com hipoclorito, e apenas 1% da água é desinfetada com outros agentes desinfetantes (ozônio, dióxido de cloro, radiação ultravioleta e mistura de oxidantes, etc) (MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005). A inativação de microrganismos patogênicos através do uso de desinfetantes é essencial para a saúde pública, especialmente em comunidades rurais e remotas, já que pode ser a única forma de tratamento viável e a única barreira contra a contaminação microbiológica.

De forma geral, para reduzir a contaminação fecal da água utilizada para o consumo humano, recomendam-se os seguintes métodos de tratamento de aplicação doméstica (SODIS, 2003):

- o armazenamento de água em método simples de sedimentação para melhorar a qualidade da água. Contudo, a sedimentação simples só pode remover parcialmente a turbidez e as bactérias, indicadas pelos coliformes termotolerantes. O principal risco para a saúde com relação ao armazenamento de água é a sua recontaminação através da manipulação inadequada;
- ferver a água mata vírus, parasitas e bactérias patogênicas. A principal desvantagem dessa técnica é a grande quantidade de energia requerida, o que torna esse método econômica e ambientalmente inviável;
- a pasteurização da água temperatura de 70°-75°C atinge o mesmo efeito da fervura da água usando, mas requer um tempo de exposição maior, aproximadamente 10 minutos;
- a filtração da água, usando filtros caseiros simples como filtros de cerâmica, pedra e areia, remove uma grande parte da matéria sólida, mas não remove todos os microrganismos. Os filtros fabricados com material local geralmente têm uma eficácia limitada em relação à melhoria da qualidade microbiológica da água.

3.7 - Desinfecção solar (SODIS)

Os problemas relacionados com a gestão da água na América Latina são muito complexos e se acentuam pela falta de técnicas bem estabelecidas para desinfecção. Um inconveniente sério é à distância das populações rurais, geralmente com as residências espalhadas no campo, onde sistemas coletivos de distribuição de água tratada são difíceis de construir e resultam em custos muito altos. As metodologias tradicionais de tratamento de águas são também extremamente caras para serem aplicadas em todos os municípios dos países em vias de desenvolvimento e em áreas rurais distantes das sedes municipais. Nessas situações, é necessário o desenvolvimento de tecnologias simples, eficientes e de baixo custo para a eliminação *in situ* da contaminação microbiológica.

A tecnologia SODIS (SOLAR WATER DISINFECTION) apresenta como vantagem a dependência apenas da energia solar. É facilmente aplicável em regiões latino-americanas com alta incidência de radiação, com mais de 3000 horas de sol em média por ano e intensidades luminosas que podem alcançar, em alguns casos, 5 a 6 kW/h/m². SODIS não requer equipamentos tecnológicos sofisticados ou caros, nem despesas com energia elétrica. (LITTER & GONZÁLEZ, 2004).

Os estudos sobre desinfecção solar, SODIS, tiveram seu início no final da década de 70, entretanto, só vieram a tomar corpo a partir de 1985 (SODIS, 2003; MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005). Em 1984, a UNICEF publicou o livro “Solar Disinfection of Drinking Water and Oral Rehydration Solutions” de autoria de ACRA *et al.* (1984), onde são relatadas as primeiras experiências de desinfecção solar de água, na Universidade de Beirut, no Líbano. Em 1988, o Brace Research Institute de Montreal revisou os resultados das investigações de desinfecção com luz solar e em 1991, uma equipe interdisciplinar de engenheiros sanitários, químicos, bacteriólogos e virólogos do EAWAG (Instituto Federal Suíço de Ciência e Tecnologia Ambiental) e pelo SANDEC (Departamento de Higiene de Povoamento em Países Subdesenvolvidos) iniciou experiências laboratoriais e investigações de campo para avaliar de forma mais extensa o potencial de SODIS e desenvolver esse método de tratamento de água para torná-lo eficaz, sustentável e de baixo custo. Nos últimos anos foram realizados vários projetos SODIS em países subdesenvolvidos, como Colômbia, Bolívia, Burkina Faso, Togo, Indonésia, Tailândia e China e o número de usuários ao redor do mundo, hoje, já ultrapassou um milhão de indivíduos (SODIS, 2003).

O uso de energia solar para desinfecção de águas (SODIS) vem sendo proposto para utilização, por exemplo, nas áreas rurais de países em desenvolvimento, possibilitando a desinfecção de águas captadas em poços ou mananciais superficiais cujas características físicas e químicas são adequadas para o consumo humano, mas que apresentam contaminação microbiológica (ACRA *et al.*, 1984).

Uma vez que o sol é uma fonte natural de calor e de radiação UV, universalmente disponível e gratuita, essa fonte pode ser à base de um sistema de desinfecção efetivo e de baixo custo para o uso em regiões afastadas dos grandes centros urbanos e menos favorecidas economicamente (DANIEL *et al.*, 2000),

possibilitando a desinfecção de águas captadas e armazenadas de chuva, de poços ou de mananciais superficiais antes de serem consumidas pelos usuários.

A radiação solar total inclui a radiação direta e indireta (ou difusa). Radiação difusa é o componente de radiação total causada pelo espalhamento e reflexão da radiação incidente na atmosfera (ACRA *et al.*, 1984). Grande parte da radiação emitida pelo sol, quando atinge a atmosfera terrestre, é absorvida ou refletida pelos gases atmosféricos e pelas pequenas partículas encontradas no ar. Os raios gama, raios-X e a radiação ultravioleta de comprimento de onda abaixo de 200nm (UV-vácuo) são absorvidos pelo oxigênio e nitrogênio gasosos. A maioria da radiação com comprimentos de onda de 200 a 300nm (UV-C e UV-B) é absorvida pela camada de ozônio na atmosfera superior. Só uma fração da radiação UV-A, de 300nm, comprimento de onda que mais atinge os microrganismos e causa sua destruição, chega mais facilmente à superfície da Terra (SODIS, 2003).

O método SODIS consiste na desinfecção da água disposta em garrafas de polietileno de tereftalato (PET) de pequeno volume (1,5 – 2L) por exposição à radiação solar durante períodos de 4 a 8 horas, dependendo do local e intensidade dessa radiação. Elimina os microrganismos patogênicos na água pela ação da luz solar, ocorrendo um efeito sinérgico dos raios ultravioletas com a temperatura, que se pode elevar até valores bactericidas (SODIS, 2003; IBAÑEZ, 2005).

O segundo efeito responsável pela desinfecção é o aumento de temperatura da água, causado pela radiação infravermelha, de onda larga, superior a 700nm. Os microrganismos patogênicos de veiculação hídrica são sensíveis ao calor quando este atinge uma faixa superior à temperatura máxima de crescimento microbiano que, no caso dos enteropatogênicos humanos e dos coliformes, é de aproximadamente 45°C. Assim, a técnica permite que, por uma exposição ao sol, sejam alcançadas, em dias de sol intenso, temperaturas de 50 – 60°C e até de 70°C, dependendo da temperatura ambiente, da intensidade da radiação solar e do uso ou não de concentradores solares. Segundo experiências com SODIS, a exposição à luz solar durante uma hora, quando se consegue atingir temperaturas de 50 e 60°C, inativa e mata diversos microrganismos enteropatogênicos (SODIS, 2003). Com ajuda de um concentrador solar podem-se atingir temperaturas de até 70°C, ocorrendo então a pasteurização da água, método este denominado SOPAS (SOLAR PASTEURIZATION) (PATERNIANI & SILVA, 2005).

Um terceiro fator que agiria sinergicamente é o oxigênio dissolvido. Redd (1997) *apud* Brandão *et al.* (2000) sugere que outros fatores podem estar envolvidos, como a condição de aerobiose da água. Nesse caso, considera-se que a inativação do agente patogênico ocorre também pela transformação do oxigênio dissolvido (O₂) em radicais livres, devido à influência da radiação, os quais alteram a membrana celular e causam a morte do microrganismo.

Segundo SODIS (2003) as vantagens do processo de desinfecção solar são:

- melhora a qualidade microbiológica da água para consumo humano;
- melhora a saúde da família;
- serve como ponto de entrada para a educação em saúde e higiene;
- permite à população dispor de um método simples de desinfecção que não requer infra-estrutura cara;
- reduz a necessidade de fontes tradicionais de energia, como lenha, querosene e gás. Em consequência o uso do SODIS reduz o desmatamento, um problema ambiental importante na maioria dos países em desenvolvimento, com a contaminação do ar pela combustão dessas fontes convencionais de energia;
- vantagem econômica para as famílias.

Contudo, SODIS apresenta algumas limitações importantes: depende das condições climáticas, pois requer elevada intensidade de radiação solar; a água não deve possuir turbidez elevada; não elimina a contaminação química da água; não é útil para tratar grandes volumes de água.

Segundo Monteiro, Brandão & Souza (2005), no estudo pioneiro desenvolvido por Acra *et al.* (1984), foram realizados testes em batelada para avaliar o efeito da radiação solar na qualidade da água a ser usada na preparação de soluções de re-hidratação oral. As amostras de água, contaminadas deliberadamente com esgotos, foram colocadas em recipientes transparentes e expostas diretamente ao sol durante algumas horas, em recipientes de tamanho e material variado. Foram mantidas amostras idênticas guardadas em habitações iluminadas com luz artificial no período das 9 às 14 horas. Foram avaliados diversos recipientes de vidro e plástico. Os principais resultados foram: (1) 99,9% das bactérias coliformes foram eliminadas depois de 95 minutos de

exposição ao sol, enquanto foram necessários 630 minutos para a mesma eliminação nas amostras controle mantidas sobre luz artificial; (2) dentre as bactérias avaliadas no estudo, as cepas de *E. coli* mostraram-se mais resistentes à luz solar, sugerindo que este pode ser um bom indicador do efeito da radiação solar sobre bactérias entéricas; e (3) a componente da radiação solar mais efetiva na destruição de microrganismos parece ser a radiação UV na faixa de 320 a 400nm (UV-A), e, em menor grau, a luz violeta e azul (400 – 490nm).

Ceballos, Sousa & Konig (1993) realizaram um trabalho analisando três métodos de desinfecção. O primeiro foi o filtro de barro ou cerâmico (com duas velas), com uma boa eficiência na remoção de turbidez. O outro foi a quartinha, que tem como princípio a decantação das partículas mais pesadas. O terceiro método foi a ação do efeito bactericida da luz solar. As águas foram coletadas em açudes e barreiros e submetidas aos três tipos de desinfecção em testes paralelos. Quartinhas, filtros e garrafas idênticas de vidro transparente, previamente esterilizados, foram cheios com água em estudo. Durante 5 horas, de hora em hora, e posteriormente após 24, 48 e 72 horas foram extraídas alíquotas para se avaliar temperatura, pH, turbidez e número de coliformes e estreptococos fecais. O filtro de cerâmica e a luz solar apresentaram desempenho semelhante atingindo uma remoção de 100% de coliformes e estreptococos fecais, nas cinco primeiras horas. O primeiro método foi mais eficiente com água de turbidez elevada e número baixo de bactérias e o segundo com águas sem turbidez. A quartinha teve baixo desempenho removendo nas cinco primeiras horas apenas 20,65% dos coliformes fecais e 73% de estreptococos fecais.

Solarte *et al.* (1997), expuseram ao sol garrafas de vidro durante 6 horas, garrafas plásticas e bolsas plásticas contendo água inoculada com *Vibrio cholerae* e coliformes e monitoraram a temperatura da água das garrafas e a radiação UV-A. Ao alcançar temperaturas de 30°C, 35°C, 40°C e 45°C retiraram-se amostras para determinar as densidades dos vibrios e dos coliformes termotolerantes viáveis remanescentes. Os autores observaram os efeitos das variáveis: temperatura, turbidez, tipo de recipiente e concentração dos microrganismos. A inativação de vibrios começou à temperatura de 45°C, após 6 horas de exposição ao sol.

A turbidez interfere no processo SODIS porque as partículas em suspensão dificultam a passagem da luz. Em águas com valores de turbidez de 40UNT foram

necessários 105Wh/m^2 para inativar 100% dos microrganismos testados, em águas com 23UNT, 91Wh/m^2 e com 5UNT, foram necessários 36Wh/m^2 de UV-A. Não houve diferenças nas taxas de inativação para os diferentes tipos de recipientes usados e sempre se alcançou 100% de inativação. Também não foram detectadas diferenças nas taxas de inativação com diferentes concentrações iniciais de vibrios (SOLARTE *et al.*, 1997).

Daniel *et al.* (2000), destacam que águas com elevadas contaminações não são desinfetadas facilmente pela radiação solar, assim como ocorre com as águas de elevada turbidez, como é o caso das águas de alguns rios com abundante argila ou silte. A turbidez e a espessura da lâmina de água submetida à desinfecção interferem significativamente na eficiência de inativação dos microrganismos. O aumento da turbidez e da profundidade da água leva à menor eficiência do processo, se considerado um tempo fixo de exposição. Águas mais turva necessitarão de maior tempo de exposição ao sol para uma efetiva desinfecção, ou, dependendo do grau de turbidez, não serão águas passíveis de desinfecção eficaz. A eficiência de um sistema SODIS depende basicamente da qualidade da água, da temperatura e da radiação UV. A restrição quanto à qualidade da água utilizada está no maior grau de turbidez, na concentração inicial elevada de microrganismos a serem destruídos, na profundidade da lâmina d'água e na concentração de oxigênio.

Entretanto, testes realizados sob condições controladas mostraram que mesmo com águas com elevada turbidez ($\gg 110$ UTN) e elevado grau de contaminação (10^9 UFC /100ml), ocorre a eliminação total de coliformes, a qual pode ser conseguida com duas horas de tempo de exposição, se a temperatura da água for de 50°C (MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005).

Na Universidade de Brasília (BRANDÃO *et al.*, 2000), foi avaliada a desinfecção solar considerando a turbidez, a cor verdadeira e a profundidade da lâmina d'água sob as condições climáticas presentes na região centro-oeste do Brasil. A metodologia utilizada consistiu na exposição à radiação solar, em tempos determinados, de recipientes de vidro transparente de 3mm de espessura, de 5 e 10cm de profundidade e com base retangular, contendo sacos plásticos com alíquotas de 3 e 6L de água. Os experimentos foram realizados em batelada utilizando água sintética (água destilada com micro nutriente, cor na faixa de 0 a 60 UC e turbidez variando de 0 a 50UNT)

inoculada com *E. coli*. Foi observado que a profundidade da lâmina de água influencia significativamente no tempo necessário para inativação da *E. coli*, sendo que no recipiente com 5cm de profundidade a mesma ocorreu antes de 2 horas de exposição, e no recipiente com 10cm de profundidade após 5 horas de exposição à luz solar. Sob condições de nebulosidade, esse tempo aumentou para 3 horas no recipiente de profundidade de 5cm e 5 horas não foram suficiente para garantir ausência de *E. coli* no recipiente com 10cm de profundidade. Em experimentos onde foram avaliados o efeito da cor e da turbidez utilizando apenas recipientes de profundidade de 5cm, foi observado que as amostras que continham turbidez apresentaram inativação da população bacteriana em tempo inferior aos das amostras que apresentavam cor. Já as amostras com presença de cor verdadeira e turbidez apresentaram um decréscimo bacteriano similar ao verificado nas amostras com presença de cor verdadeira, necessitando de cerca de 2 horas para inativação total. Por outro lado, as amostras sem turbidez e cor verdadeira apresentaram remoção de 100% de *E. coli* em 1 hora de exposição ao sol. Foram realizados testes de recrescimento bacteriano após 24 horas e 5 dias e não foi detectada a presença de coliformes.

Alguns resultados expressivos foram conseguidos realizando experimentos similares aos de Acra *et al.* (1984), obtendo-se os seguintes tempos para destruição total de alguns microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa* - 15min, *Salmonella flexneri* - 30 min, *S. typhi* e *S. enteritidis* - 60 min, *Escherichia coli* - 75 min, *Candida ssp.* - 3 horas (MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005).

Em Campinas – SP, estudos realizados por Londe (2002) *apud* Silva (2004) para águas com turbidez de 2UNT e cor 62 de UC, obteve-se inativação de 100% de coliformes totais, *E.Coli* e algas, medidas por meio de clorofila a, num período de exposição de 6 horas em um dia nublado.

A velocidade de desinfecção bacteriana por radiação solar é proporcional à intensidade da radiação e à temperatura e inversamente proporcional à profundidade da água, devido à dispersão da luz dentro da mesma. A quantidade de radiação atenuada por esse efeito depende do tipo do comprimento da onda, por exemplo, entre 200 e 400nm a redução não supera os 5% por metro de profundidade e comprimentos de ondas superiores podem alcançar até 40%por metro (IBÁNEZ, 2005).

Para uma temperatura da água de 30°C, necessita-se de uma concentração de 555Wh/m (350-450nm, dose de radiação solar correspondente a aproximadamente 6 horas de luz solar de verão ao meio-dia e a uma latitude média) para atingir uma redução de 3 ordens logarítmicas (por exemplo, de 1000UFC/100ml a 1 UFC/100ml) de coliformes termotolerantes. Porém, a taxa de inativação dos coliformes termotolerantes expostos à luz solar aumenta significativamente quando estão presentes dois fatores: a radiação UV-A e o aumento da temperatura da água. Para uma temperatura da água de 50°C, ocorre um efeito sinérgico entre a radiação UV-A e a temperatura provocando redução de três ordens logarítmicas dos coliformes termotolerantes para uma concentração de 140Wh/m, ou seja, o equivalente a uma exposição à luz solar de 1 hora (SODIS, 2003).

É possível afirmar que a desinfecção pode ser concebida tanto no nível de sistemas em batelada, para servir a uma unidade domiciliar (pequenos volumes), ou pode ser projetada como um sistema contínuo (semelhante a um aquecedor solar, porém transparente) para produzir maiores volumes de água e servir em escolas, postos de saúde e outras instituições na zona rural. Um sistema contínuo de desinfecção solar poderá fornecer água bacteriologicamente segura para pequenas agro-empresas familiares e, com isso, ser usada na melhoria e/ou beneficiamento do produto agrícola, agregando renda ao pequeno produtor. Entretanto, para a utilização efetiva como método cotidiano de desinfecção em pequenas comunidades e comunidades rurais, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que considerem as condições climáticas locais e a obtenção de parâmetros de projetos (DANIEL *et al.*, 2000).

CAPÍTULO 4

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Etapas metodológicas

A metodologia empregada para avaliação dos processos de desinfecção e de recrescimento/reativação dos microrganismos, utilizando luz solar (SODIS), luz solar artificial (simulador solar) e UV artificial (lâmpadas germicidas) foi desenvolvida em cinco etapas ou cinco conjuntos de experimentos:

1) Experimento 1: testes prévios de campo, realizados no sítio Riacho da Serra, no município de São José de Sabugá, no semi-árido paraibano, usando luz solar natural (método SODIS - Solar Water Disinfection), água de poço natural e água de poço inoculada com esgoto. Estes testes foram executados no laboratório de campo montado sítio Riacho da Serra, pela equipe da Área de Engenharia Sanitária e Ambiental (AESA), da Unidade Acadêmica de Engenharia Civil do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

2) Experimento 2: testes com luz solar (SODIS), realizados com água de poço inoculada com culturas puras de bactérias em concentrações conhecidas e executados na área experimental do laboratório da AESA/UFCG.

3) Experimento 3: testes com emprego de radiação UV de três lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (Figuras 4.1a e 4.1b) em amostras de água de córrego, feitos no Laboratório de Química Ambiental, da Universidade Estadual da Paraíba em Campina Grande – PB (UEPB).

4) Experimento 4: testes com emprego de UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Figura 4.2), realizados no Laboratório de Química Biológica no Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas/SP (UNICAMP/SP), utilizando amostras de água de poço inoculadas com culturas puras de bactérias em concentrações conhecidas.

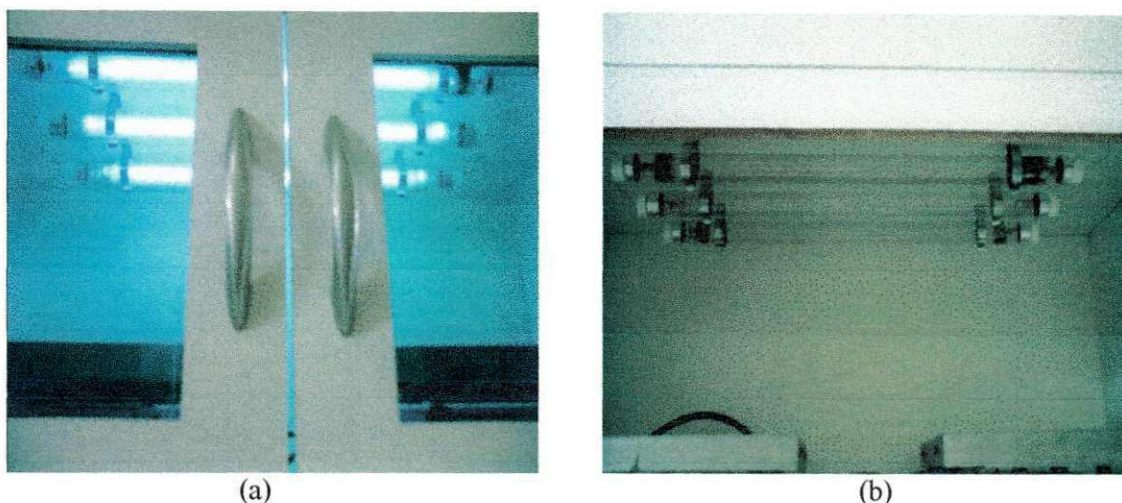


Figura 4.1 – Lâmpadas germicidas fluorescentes 15W (NARDS) no laboratório de Química Ambiental da UEPB: (a) em funcionamento; (b) desligadas (CG/PB– 11/05/06)

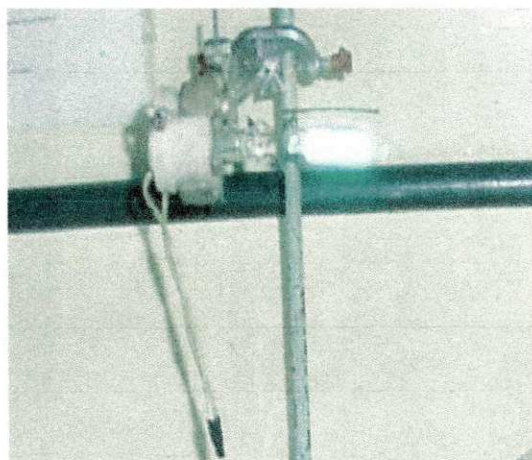


Figura 4.2 – Lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) no laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 01/08/06)

5) Experimento 5: testes com emprego de simulador solar (Figura 4.3), composto de seis lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio), usando-se água de poço inoculada com culturas puras de bactérias em concentrações conhecidas, realizados no Laboratório de Química Biológica no Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas/SP (UNICAMP/SP).

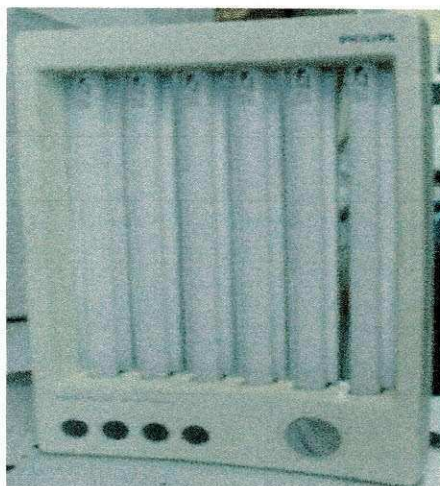


Figura 4.3 – Simulador solar com lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) no laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 01/08/06)

4.2. Desenvolvimento dos experimentos

4.2.1 – Coleta das amostras de água

1) Experimento 1: no sítio Riacho da Serra, município de São José de Sabugí/PB, a água foi coletada de um poço amazonas destinado a usos múltiplos pela comunidade local. Com bomba, obteve-se água do poço através de uma tubulação (Figura 4.4) e, após deixar que a água escoasse durante alguns minutos, a caixa de isopor de 60L foi cheia com auxílio de baldes previamente lavados com a água do poço (Figura 4.5). Essa caixa foi lavada repetidas vezes com água de torneira e água destilada, e, antes da coleta, com a mesma água do poço usada no experimento.

2) Experimento 2: para os testes com luz solar natural feitos em Campina Grande/PB, a água foi coletada de um poço artesiano, de 20 m de profundidade e mais de 30 anos de instalação e funcionamento, situado no assentamento Paus Brancos/PB. Neste, a água é bombeada com cata-vento para um tanque de alvenaria provido de uma torneira de onde a água era coletada, sendo a fonte principal de água para os moradores do local (cozimento de alimentos, banho, lavagem de roupa, dessedentação de animais, e também para beber na ausência de carros pipas).

3) Experimento 3: Para os testes com lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (Nards) em Campina Grande/PB, a água foi coletada de um córrego que atravessa o Campus da UFCG. Esse córrego, alimentado por águas de escoamento superficial e

águas residuárias de bairros próximos não saneados e escoam em direção ao açude de Bodocongó (MEIRA, 1999). O ponto de coleta (Figuras 4.6) está situado a aproximadamente 3 metros, logo após a saída da lagoa. A água do córrego foi coletada em frascos de vidro neutro cor âmbar e boca larga, esterilizados por calor seco a 170°C durante duas horas.



Figura 4.4 – Tubulação de saída da água do poço no sítio Riacho da Serra (São José do Sabugí/PB -16/12/05)



Figura 4.5 – Coleta de água com baldes no sítio Riacho da Serra (São José do Sabugí/PB - 16/12/05)

4) Experimentos 4 e 5: nos testes feitos na UNICAMP/SP, com lâmpada UV de 254nm e lâmpadas solares, a água foi proveniente de um poço artesiano, destinado ao consumo humano, situado nas proximidades do Campus dessa instituição.



Figura 4.6 – Ponto de coleta no córrego que atravessa a UFCG (CG/PB – 11/05/06)

Todas as amostras de água dos Experimentos 2, 4 e 5 foram coletadas em garraões plásticos de água mineral de 20L, limpos e conservadas em geladeira até o momento de uso.

A Tabela 4.1 resume os experimentos realizados.

Tabela 4.1 - Experimentos de desinfecção de água usando luz solar e UV e origem da água utilizada nos experimentos

Experimento	Tipo de experimento	Origem da água	Local de amostragem / execução das análises
1	Luz solar	Poço amazonas	Sítio Riacho da Serra / Laboratório de campo da AESA em São José do Sabugí-PB
2	Luz solar	Poço artesiano	Assentamento Paus Brancos -PB / Laboratório de Saneamento Ambiental na UFCG - PB
3	Lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS)	Superficial	Córrego da UFCG - PB / Laboratório de Química Ambiental - UEPB
4	Lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS)	Poço artesiano	Sítio próximo a UNICAMP / Laboratório de Química Biológica - UNICAMP/SP
5	Lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio)	Poço artesiano	Sítio próximo a UNICAMP / Laboratório de Química Biológica - UNICAMP/SP

4.2.2 – Microrganismos, preparação dos inóculos e condições de crescimento

a) Microrganismos

Os microrganismos utilizados tiveram diversas procedências, sendo alguns de isolamentos recentes de material humano, outros de culturas estoques da UEPB e outros de culturas ATCC – American Type Culture Collection.

As cepas utilizadas foram:

- *Escherichia coli* - ATCC 25922: fornecida pelo Instituto de Biologia da UNICAMP/SP.

- *Escherichia coli*: cepa proveniente do trato intestinal humano isolada no Laboratório de Análises Clínicas da UEPB.

- *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 939: fornecida pelo Instituto de Biologia da UNICAMP/SP.

- *Salmonella typhimurium* - ATCC 3985: fornecida pelo Instituto de Biologia da UNICAMP/SP.

- *Salmonella* spp.: cepa proveniente do material fecal humano, isolada no Laboratório de Análises Clínicas da UEPB.

- *Staphylococcus aureus* - ATCC 25923: fornecida pelo Laboratório de Análises Clínicas da UEPB.

b) Preparação dos inóculos

- O primeiro inóculo utilizado foi esgoto bruto (Experimento 1), coletado no sistema de tratamento de esgotos de São José de Sabugí, o qual foi diluído com a água do poço sob teste, para se obter uma população inicial de coliformes termotolerantes de 10^6 UFC/100mL de água. (Experimento 1).

- Para os demais experimentos, o preparo dos inóculos foi realizado a partir de culturas bacterianas de 24 horas em caldo nutriente. Para isso, dois dias antes de cada experimento, cada uma das cepas estoques a serem usadas eram semeadas em tubos de ensaio com 3ml de caldo nutriente estéril. O procedimento foi o seguinte: a partir do estoque, uma pequena porção do crescimento de cada uma das cepas foi transferida, com alça bacteriológica, para tubos individuais com caldo nutriente estéril, os quais foram incubados a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 4 horas. Após 24 horas de incubação, foi feito o

repique dessa cultura para outros tubos de ensaio com caldo nutriente estéril e incubados a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 4 horas, para uso posterior.

A primeira cultura, de 24 horas, foi usada para realizar diluições decimais seriadas (10^{-1} a 10^{-8}), em tubos contendo líquido de diluição tamponado de pH 7,2 com a finalidade de quantificar a densidade da população bacteriana crescida overnight. Para isso, alíquotas de 0,5ml de cada uma das diluições desses tubos foram transferidas com pipetas automáticas para placas de Petri contendo meios de cultura específicos para cada bactéria e semeados por espalhamento na superfície, com espátulas de Drigalsky. Essas placas foram incubadas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 4 , horas para crescimento bacteriano. Após esse tempo foi efetuada a contagem das colônias de bactérias, e o cálculo para o volume inoculado. O número obtido foi utilizado na determinação da concentração inicial de bactérias, a fim de se inocular, nos experimentos de desinfecção, uma concentração conhecida de cada cultura nas amostras de água.

Para manutenção das cepas em estoque, foi inoculada, com auxílio de alça bacteriológica, cada cultura de 24 horas em caldo nutriente, em tubos com ágar nutriente inclinado. Esses tubos foram incubados a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 4 horas. Após esse tempo de crescimento, os tubos de ensaio foram selados com parafina e as culturas estoque foram conservadas na geladeira para uso posterior.

c) Condições de crescimento

c.1) Água de diluição

Para a realização das diluições das suspensões bacterianas, a fim de se obter inóculos com número conhecido de microrganismos a serem testados, foi utilizada água de diluição de $\text{pH } 7,2 \pm 0,2$, preparada em laboratório, contendo fosfato monopotássico (KH_2PO_4) e cloreto de magnésio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sendo uma solução tampão que regula a manutenção do pH, em condições fisiológicas (isotônico) para as células bacterianas, de acordo com recomendado por APHA, AWWA & WEF (1998).

c.2) Meios de cultura utilizados

Os meios de cultura usados para o crescimento das bactérias empregadas como inóculos e para a quantificação das mesmas foram:

1) ágar nutriente (para a manutenção dos estoques bacterianos);
2) caldo nutriente (para crescimento dos microrganismos a partir dos estoques);
3) ágar verde brilhante, meio seletivo que inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas. Foi utilizado no isolamento e quantificação de *Salmonella typhimurium*. – bacilo Gram-negativo. Nesse meio, a *Salmonella typhimurium* produz colônias de cor amarelo-leitosa;

4) ágar Azul de Metileno Eosina – EMB, meio seletivo para coliformes, e *Escherichia coli*. Neste meio, *E.coli* cresce produzindo colônias de cor esverdeada metálica e púrpura escura no centro, facilitando sua identificação;

5) meio Agar Sal Manitol– AMS. Este meio de cultura contém 7,5% de cloreto de sódio e um indicador de pH que altera sua cor quando o manitol do meio é fermentado produzindo ácido, característica que favorece o crescimento seletivo e diferencial de *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria forma colônias de cor branca neste meio de cultura;

6) meio Ágar Plate Count - APC. Foi utilizado como meio de cultura na determinação da viabilidade celular e na quantificação de *Pseudomonas aeruginosa*;

7) m-FC Agar. Este meio de cultura é o recomendado pela APHA, AWWA & WEF (1998) para a determinação de coliformes termotolerantes por membrana de filtração. Os coliformes formam, na superfície da membrana, colônias azuis de fácil identificação;

8) EC Médiun – MUG. Foi usado para confirmar a presença de *Escherichia coli*. Essa presença é confirmada quando houver fluorescência azul, sob luz violeta de comprimento de onda de 365nm, causada pela hidrólise do substrato metil-umbeliferil- β -D-glicuronídeo contido no meio;

Todas as bactérias testadas apresentam metabolismo heterótrofo, isto é que crescem em meios de culturas ricos em matéria orgânica, com proteínas e açúcares específicos, em pH próximo ao neutro, temperaturas mesofílicas e sob condições aeróbias ou anaeróbias facultativas. Para as bactérias termotolerantes, como os coliformes termotolerantes, a temperatura de incubação foi de 44,5 - 45°C.

4.2.3 – Técnicas de quantificação de bactérias

A quantificação das bactérias autóctones das amostras de água ou das inoculadas, foi feita nas amostras de águas antes de serem submetidas às técnicas de

desinfecção, ao longo do tempo de desinfecção, em intervalos de tempo prefixados durante a aplicação da radiação e no final, após 4 ou 8 horas de radiação. As mesmas técnicas de quantificação foram usadas nos testes de recrescimento bacteriano. As quantificações microbiológicas foram efetuadas em duplicata visando uma maior confiabilidade dos resultados.

a) Técnica de membrana de filtração

Para a quantificação de bactérias coliformes foi usada a técnica de membrana de filtração descrita em APHA, AWWA & WEF (1998). A técnica se fundamenta na filtração de volumes conhecidos da amostra ou de suas diluições decimais, através de uma membrana atóxica estéril de celulose, com poros de $0,45\mu\text{m}$ de diâmetro que retêm os microrganismos. Supõe-se que em cada poro apenas uma bactéria fica retida, onde crescerá e formará uma colônia visível a olho nu. Para crescimento das colônias, após a filtração da água sob teste, a membrana foi transferida assepticamente para placas de Petri de 47mm de diâmetro contendo o meio m-FC Agar e procedeu-se à incubação por 24 ± 4 horas a $44,5 - 45^\circ\text{C}$. Após o crescimento e quantificação das colônias de coliformes termotolerantes, estas foram transferidas para tubos de ensaio contendo o meio de cultura EC-MUG, os quais foram incubados a $44,5 - 45^\circ\text{C}$ por 24 ± 4 horas para identificação e quantificação de *E. coli*. A leitura foi realizada utilizando luz UV de comprimento de onda de 365nm.

b) Técnica de quantificação por espalhamento em placa

Nos experimentos com inoculação de bactérias específicas (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) isoladas de material humano e de culturas puras, a técnica de quantificação usada antes, durante e após aplicada a desinfecção da água foi a de espalhamento em placa. Neste método alíquotas, de 0,5 ml de cada amostra de água contida nas garrafas testes e de suas diluições decimais foram adicionadas na superfície dos meios de culturas solidificados em placas de Petri estéreis. Essas alíquotas, em cada placa, foram espalhadas uniformemente na superfície do meio usando-se espátulas de Drigalsky estéreis. Então, as placas foram incubadas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 4 horas para favorecer o crescimento das colônias.

4.2.4 – Análises físicas e químicas das amostras de água

Em todas as amostras de água foram medidos: pH (pH-metro e padrões pH 4,0; 7,0 e 9,0, para calibração e leitura); condutividade elétrica (Condutivímetro HORIBA DS-14 portátil); turbidez (Turbidímetro HACH mod. 2100^a) e temperatura (termômetro de mercúrio).

4.2.5 – Aplicação das técnicas de desinfecção

4.2.5.1 - Experimento 1: técnicas de SODIS no sítio Riacho da Serra/São José de Sabugí, com água de poço com e sem inóculo de esgoto

Os testes de campo consistiram em aplicar as técnicas de:

1) SODIS convencional, usando garrafas PET transparentes e incolores expostas ao sol.

2) SODIS fundo preto, usando garrafas PET transparentes e incolores, colocadas ao sol sobre um plástico preto.

3) SODIS controle, usando garrafas PET transparentes e incolores embrulhadas em papel alumínio (garrafas controle) expostas ao sol.

O procedimento foi o seguinte: um recipiente de isopor de 60 litros foi sanitizado com álcool e lavado várias vezes com a água do poço a ser amostrado. Em seguida foi cheio com a água do poço amazonas (água A), e após homogeneização com bastões de vidro estéreis (Figura 4.7a), 28 garrafas PET foram cheias com essa água (Figura 4.7b).



Figura 4.7 – (a) Homogeneização da água A; (b) Garrafas sendo cheias (São José do Sabugí/PB -16/12/05)

Numa segunda coleta, o recipiente de isopor foi cheio novamente com a água do poço e adicionado 100ml de esgoto (água B) (Figura 4.8), para se obter uma população inicial de bactérias maior que a anterior (água A). A água foi misturada com bastões de vidro estéreis para se obter uma mistura homogênea e foram cheias outras 25 garrafas PET.



Figura 4.8 – Adição de esgoto e homogeneização da água B (São José do Sabugi/PB -16/12/05)

Desse total de 53 garrafas PET, 16 eram garrafas transparentes, sendo 8 com água A e 8 com água B e foram expostas ao sol diretamente sobre o piso. Outras 16 garrafas transparentes (8 com água A e 8 com água B) foram expostas ao sol sobre um fundo preto (plástico preto). Também 8 garrafas com água A e 8 garrafas com água B foram expostas ao sol embrulhadas em papel alumínio para evitar a passagem de luz, portanto, serviram de controle no escuro. A cada 20 minutos as garrafas expostas à fonte de radiação eram agitadas manualmente. A Figura 4.9 mostra as garrafas expostas à radiação solar.

Três outras garrafas (PET transparente, PET transparente sobre fundo preto e PET embrulhada em papel alumínio) foram usadas para a medição horária de temperatura da água. Para isso, um termômetro foi fixado nas tampas de plástico, com o bulbo mergulhado na água do interior das garrafas. Outras duas garrafas também foram cheias, uma com cada tipo de água (A e B), denominada garrafa T0, onde se quantificou a concentração inicial de bactérias coliformes termotolerantes e de *E.coli*.

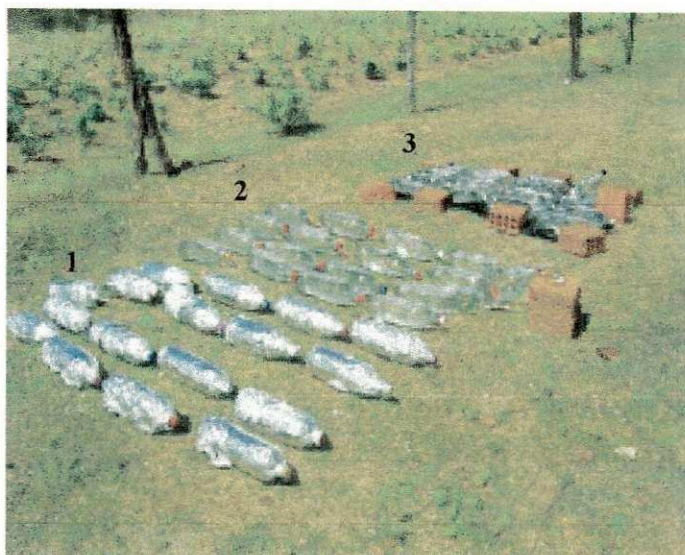


Figura 4.9 – Garrafas expostas ao sol. 1: garrafas controle (embrulhadas em papel alumínio); 2: garrafas transparentes; 3: garrafas transparentes expostas sobre fundo preto. (São José do Sabugi/PB -16/12/05)

Após cada tempo de exposição (T1: 2h; T2: 5h; T3: 6,5h; T4: 8h), foram retiradas do sol, duas garrafas de cada técnica, para avaliação imediata da concentração de bactérias coliformes.

4.2.5.2 - Experimento 2: testes SODIS com água de poço inoculada com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985) e *Escherichia coli* (ATCC 25922)

O experimento foi realizado no Laboratório da Área de Saneamento Ambiental da UFCG, usando água de poço das proximidades da Cidade de Campina Grande inoculada com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). As garrafas foram expostas à luz solar na área externa desse laboratório.

Para realização dos testes foi produzida água contaminada preparada em laboratório. Para preparo da mesma, a água de poço foi autoclavada por 15 minutos a 121°C, obtendo-se água estéril, que foi transferida, assepticamente, para um recipiente de plástico com tampa, previamente lavado, desinfetado com álcool e esterilizado com luz UV. A essa água foi adicionada uma alíquota do inóculo do microrganismo em estudo. A água inoculada foi homogeneizada com bastão de vidro estéril e distribuída em garrafas PET transparentes e em garrafas idênticas às anteriores embrulhadas em papel alumínio para evitar a passagem de luz (controles).

Para a quantificação da população bacteriana inicial foi utilizada água inoculada de uma garrafa que não foi exposta à fonte de radiação (T0). As demais garrafas foram

expostas à radiação solar natural durante um total de 6 horas. A cada 20 minutos as garrafas expostas à fonte de radiação eram agitadas manualmente.

Após cada tempo pré-fixado (T1: 1h; T2: 2h; T3: 4h, T4: 6h), uma garrafa PET transparente e uma controle eram retiradas para avaliação das concentrações bacterianas remanescentes.

Outras duas garrafas (PET transparente e PET embrulhada em papel alumínio) foram usadas para a medição horária de temperatura da água. Para isso, de forma idêntica ao Experimento 1, um termômetro foi fixado nas tampas de plástico das garrafas, com o bulbo mergulhado na água. A Figura 4.10 mostra as garrafas expostas à radiação solar.

Os dados de radiação solar foram disponibilizados pela UACA (Unidade Acadêmica de Ciências Atmosféricas do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais) da UFCG, em sua estação meteorológica, localizada no Campus dessa instituição.



Figura 4.10 – Garrafas expostas à radiação solar no pátio do Laboratório da AESA da UFCG (CG/PB – 24/11/06)

4.2.5.3 - Experimento 3: testes de desinfecção com emprego de radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) e água inoculada com *Salmonella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Estes testes foram realizados no Laboratório de Química Ambiental, da UEPB/PB, em amostras de água de córrego diluída em água destilada. Foram utilizadas três lâmpadas fluorescentes 15W (NARDS) dispostas horizontalmente a uma distância

de 15cm da superfície de garrafas PET transparentes de 250 ml utilizadas nesses testes. As garrafas PET foram lavadas com água destilada e mergulhadas em álcool por 24 horas. Em seguida secaram naturalmente, numa bancada de laboratório previamente desinfetada e foram submetidas à esterilização por luz UV durante 30 minutos. A irradiância máxima, de aproximadamente $25,8W/m^2$, a 15cm das lâmpadas foi medida utilizando o radiômetro Cole-Parmer Instrument Co. Serie 9811.54. Foram realizados dois testes:

1) No primeiro foi usada água do córrego que atravessa a UFCG, diluída e estéril. Esta foi coletada em frasco de vidro âmbar estéril. Como essa água apresentou turbidez superior a 30UNT, foi necessário eliminar o material suspenso, através de filtração, usando-se algodão. Após filtração, a água do córrego continuou com turbidez superior a 30UNT. Foi efetuada então, a diluição dessa água em água destilada, obtendo-se finalmente turbidez de 28,9UNT na proporção de 1,4:0,6 de água destilada e água de córrego filtrada, respectivamente. Em um recipiente de vidro de 5L foram colocados 1,4L de água destilada adicionado de 600ml de água de córrego filtrada e procedida à esterilização à $121^{\circ}C$, durante 15 minutos. Após esterilização a água apresentou turbidez de 11,2UNT.

Foram preparados inóculos (item 4.2.2b) das cepas bacterianas de *Salmonella* ssp, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Aliquotas de 200 μ l de cada inóculo foram transferidas para a água de córrego diluída e estéril. Essa água foi homogeneizada com bastão de vidro estéril e distribuída nas garrafas PET (150ml em cada). A avaliação da concentração bacteriana foi realizada imediatamente após ter sido feita a inoculação dos microrganismos na água, a qual correspondeu à população inicial no tempo T0, sem radiação UV. As garrafas foram expostas à radiação UV proveniente das lâmpadas germicidas durante 6 horas, sendo que após cada tempo pré-fixado (T1: 1h; T2: 2,5h; T3: 5h; T4: 6h) as lâmpadas eram desligadas durante poucos segundos e uma garrafa era retirada para quantificação da população bacteriana remanescente.

2) No segundo teste foi utilizada água de córrego diluída. A proporção aplicada para a mistura de água destilada e água de córrego filtrada foi de 1:1, obtendo-se uma turbidez de 11,7UNT. Em um recipiente de vidro colocou-se 1L de água destilada, autoclavada por 15 minutos a $121^{\circ}C$. A essa água estéril foi adicionado 1L de água de córrego filtrada. A mistura foi homogeneizada com bastão de vidro estéril e distribuída

nas garrafas PET. As garrafas foram expostas à radiação UV por 5 horas (T1: 1h; T2: 2,5h; T3: 4h; T4: 5h). A quantificação da população inicial e ao longo do processo de desinfecção foi realizada conforme descrito no primeiro teste. A Figura 4.11 mostra as garrafas expostas à radiação das lâmpadas.



Figura 4.11 – Garrafas expostas à radiação UV das lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) no Laboratório de Química Ambiental da UEPB (CG/PB – 11/05/06)

4.2.5.4 - Experimento 4: testes de desinfecção com emprego de UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) e água inoculada com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985), *E. coli*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 939)

Estes testes foram realizados no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química, da UNICAMP/SP, utilizando amostras de água de poço inoculadas com culturas de bactérias em concentrações conhecidas.

A radiação UV foi fornecida por uma lâmpada germicida de 125W, com irradiância máxima, medida a 25cm da mesma, de aproximadamente $10,4\text{W}/\text{m}^2$ para $\lambda=254\text{nm}$. A intensidade da radiação emitida pela lâmpada foi medida com utilizando o radiômetro, Cole-Parmer Instrument Co Serie 9811.54.

Para realização do experimento foi preparada água contaminada em laboratório. Para isso, a água de poço foi autoclavada por 15 minutos a 121°C , obtendo-se água estéril, que foi transferida, assepticamente, para um recipiente de plástico com tampa, previamente lavado, desinfetado com álcool e esterilizado com luz UV. A essa água foi

adicionada alíquota do inóculo do microrganismo em estudo. Foram realizados, individualmente, ensaios de desinfecção para *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985), *E. coli*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 939). A água inoculada foi homogeneizada com bastão de vidro estéril e distribuída nas garrafas PET, trabalhando sob condições de assepsia. Para a quantificação da população bacteriana inicial foi utilizada uma garrafa de água inoculada que não foi exposta à fonte de radiação (T0). As demais garrafas foram expostas à fonte de radiação durante um tempo total de 4 horas (Figura 4.12). A cada 20 minutos as garrafas expostas à fonte de radiação eram agitadas manualmente.

Após cada tempo pré-fixado (T1: 1h; T2: 2,5h; T3: 4h), uma garrafa era retirada para avaliação das concentrações bacterianas remanescentes. Uma garrafa foi usada para o monitoramento horário da temperatura da água. Para isso o termômetro foi fixado na tampa de plástico da garrafa com bulbo mergulhado na água.

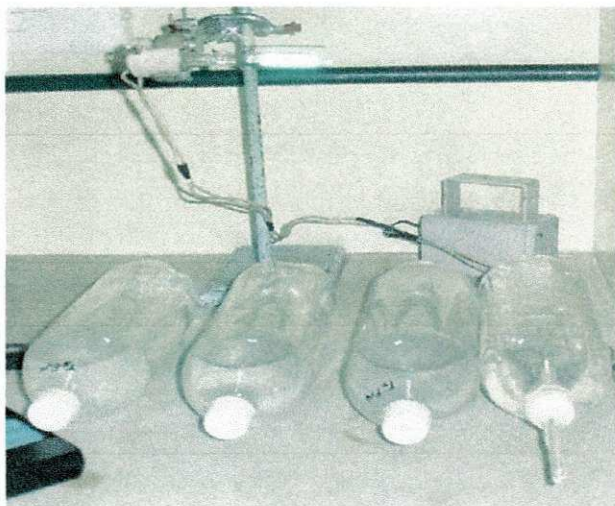


Figura 4.12 – Garrafas expostas à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (Philips) no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 20/08/06)

4.2.5.5 - Experimento 5: testes de desinfecção com emprego de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) e água inoculada com *Salmonella* spp., *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 939)

Este experimento também foi realizado no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química, da UNICAMP/SP. Foi utilizado o simulador solar PHILIPS HB 311 Solarium de Sobremesa, composto de seis lâmpadas solares tipo PHILIPS Clio

20W. Este simulador solar emite, predominantemente, UV-A e também uma pequena quantidade de UV-B. As amostras de água foram do mesmo poço que as anteriores e receberam inóculos preparados com as mesmas bactérias e com o mesmo protocolo que o usado no Experimento 4.

O simulador solar foi apoiado horizontalmente em uma estrutura de madeira (Figura 4.13). A irradiância máxima de $15,1\text{W}/\text{m}^2$, a 30cm de distância da fonte de radiação, foi medida pelo radiômetro Cole-Parmer Instrument Co Serie 9811.58.

A quantificação da população bacteriana inicial e ao longo do processo de desinfecção foi realizada conforme descrito no Experimento 4. A cada 20 minutos as garrafas expostas à fonte de radiação eram agitadas manualmente



Figura 4.13 – Garrafas expostas à radiação UV de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) no Laboratório de Química Biológica do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas/SP – 20/08/06)

A Tabela 4.2 apresenta os tempos de exposição à fonte de radiação em função do microrganismo estudado.

A radiação ultravioleta causa lesão nos olhos e câncer de pele. Com objetivo de minimizar a exposição à radiação UV da lâmpada germicida e das lâmpadas solares, equipamentos de proteção individual: luvas, óculos apropriados para exposição à radiação UV e avental de manga comprida, foram utilizados durante a execução dos experimentos 4 e 5.

Tabela 4.2 - Microrganismos e tempo de exposição à radiação UV de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) no Experimento 5

Microrganismo	Tempo de exposição (h)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	T1: 1h; T2: 2,5h; T3: 4h
<i>Salmonella</i> spp.	T1: 1h; T2: 2,5h; T3: 3,5h; T4: 4,5h
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	T1: 1,5h; T2: 4 h; T3: 6h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 939)	T1: 1h; T2: 2,5h; T3: 4h

4.2.6 - Estudos de recrescimento bacteriano

Os estudos de recrescimento bacteriano ou de avaliação do potencial de reativação bacteriana após exposição das garrafas ao sol, à luz UV das lâmpadas germicidas e ao simulador solar, foram realizados com as amostras de água irradiadas pelos diferentes métodos. Para isso, as garrafas irradiadas permaneceram armazenadas por 24 e 48 horas em condições naturais de laboratório. O procedimento é descrito a seguir.

Após cada um desses tempos foi retirada, assepticamente, de cada uma das garrafas, uma alíquota de água suficiente para efetuar a quantificação das bactérias presentes nessa água. A técnica de quantificação foi por espalhamento em placa, como descrito anteriormente.

A comparação entre o número de bactérias remanescentes logo após a desinfecção e os obtidos nas 24 e 48 horas posteriores, permitiram avaliar se houve recrescimento e analisar a maior ou menor efetividade de cada um dos métodos de desinfecção aplicados.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Características das águas usadas nos testes de desinfecção

De acordo com USEPA (1999), para que ocorra efetiva desinfecção, os microrganismos devem absorver radiação UV. Por isso, qualquer fator que impeça a absorção direta da radiação UV pelos microrganismos contribuirá para a diminuição da eficiência da técnica.

Dentre os fatores que dificultam a ação da radiação UV se destaca a turbidez que quanto maior mais afeta a eficiência do método, devido aos sólidos em suspensão, que possuem a propriedade de absorver e/ou refletir a luz solar (MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005; SODIS, 2003; DANIEL *et al.*, 2001; BRANDÃO *et al.*, 2000). Dessa forma, para que SODIS seja eficiente, a metodologia recomenda um valor máximo de turbidez de 30UNT (SODIS, 2003). Isso significa que águas com maior turbidez deverão ser decantadas ou filtradas, geralmente por tecido, como é comum na zona rural. Caso essas águas, depois de filtradas ou decantadas, não tenham a turbidez recomendada, então será necessário um processo de filtração mais eficiente, e caso contrário, SODIS não poderá ser aplicado. Por ser a turbidez uma das principais limitações do método, esta foi controlada cuidadosamente ao longo de todos os experimentos da presente pesquisa e os valores sempre foram inferiores a 30UNT.

O pH, embora não interfira na eficiência da desinfecção com UV (DANIEL *et al.*, 2001), é um parâmetro importante ao influenciar nas reações de caráter físico e químico e nas atividades metabólicas dos microrganismos. Nos experimentos deste trabalho, os valores de pH das águas utilizadas variaram entre um mínimo de 7,30 (água do córrego diluída e estéril) e um máximo de 7,69 (água de poço inoculada com esgoto - água B). Os padrões para água potável vigentes no Brasil, Portaria 518/2004 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004) preconizam valores de pH na faixa de 6,5 a 9,5 (ou seja, as águas usadas neste trabalho estavam dentro da faixa adequada de pH, para

consumo humano). Segundo a legislação ambiental, Resolução N° 357/2005 (CONAMA, 2005) as águas destinadas ao abastecimento humano têm geralmente valores de condutividade elétrica entre 50 e 1500µmhos/cm, podendo variar levemente fora desse intervalo. Diferente do pH, a condutividade elétrica esteve fora dos valores preconizados, com valor de 1751µmhos/cm, sendo que águas superficiais e subterrâneas de elevada condutividade elétrica são freqüentes no semi-árido nordestino. A concentração de sais nas águas de superfície depende da composição e grau de intemperismo das rochas da bacia hidrográfica e da natureza e tipo de solo pelo qual a água flui e, de eventuais poluições devido às atividades humanas. Por outro lado, os principais fatores que contribuem para salinização das águas subterrâneas confinadas em rochas cristalinas no Nordeste brasileiro são, em ordem decrescente, a clima, o modo de ocorrência do aquífero, as condições de circulação da água e a natureza geológica (BARROS, 1994; NUNES FILHO *et al.*, 2000).

Nos ensaios de desinfecção realizados em Campina Grande, usando SODIS, a água do poço amostrado teve pH de 7,25 a 7,45 e turbidez de 0,12 a 0,31UNT. Já a água do córrego *in natura*, usada para os experimentos com lâmpadas germicidas apresentou pH de 7,3 e turbidez de 28,9UNT, não impedindo a penetração da luz UV. A Tabela 5.1 apresenta os valores médios das características físico-químicas das águas utilizadas nos experimentos de desinfecção.

Tabela 5.1 – Características das águas utilizadas nos experimentos de desinfecção⁽¹⁾

Parâmetro	Origem da água / Experimento					
	Poço amazonas		Poço artesiano	Água de córrego		Poço artesiano
	Experimento 1*		Experimento 2**	Experimento 3*		Experimento 4**** e 5*****
	Água A	Água B		Água diluída e estéril	Água diluída	
Condutividade elétrica (µmhos/cm)	-	-	268	1751		-
pH	7,34	7,69	7,37	7,30	7,33	-
Turbidez (UNT)	<30	<30	0,21	11,2	11,7	-

⁽¹⁾ valores médios. Experimento 1 - SODIS em Riacho da Serra/São José de Sabugi; **Experimento 2 - SODIS com água de poço inoculada com *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*; ***Experimento 3 - Lâmpadas fluorescentes germicidas de 15W; ****Experimento 4 - Lâmpadas germicidas 254nm de 125W; *****Experimento 5 - Lâmpadas solares 20W

5.2 – Testes de desinfecção com emprego de luz solar (SODIS)

5.2.1 – Experimento 1: Técnica de SODIS em Riacho da Serra/São José do Sabugí com água de poço com e sem inóculo de esgoto

As Tabelas 5.2, 5.3 e 5.4 mostram os resultados do experimento SODIS na inativação de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, utilizando água de poço sem inóculo de esgoto (água A). Ou seja, a população de coliformes avaliada no tempo T0 corresponde à concentração destes microrganismos presente naturalmente nessa água de poço. Após cinco horas de exposição à radiação solar, com temperatura da água dentro das garrafas em torno de 45°C, registrou-se a inativação de todas as bactérias nas garrafas com penetração de luz. Estes resultados estão de acordo com os dados encontrados na literatura, que cita que quanto maior a temperatura na água que está sendo desinfetada nas garrafas, mais eficiente é a inativação das bactérias (DONAIRE & JARDIM, 2004; PATERNIANI & SILVA, 2005; MONTEIRO, BRANDÃO & SOUZA, 2005).

Foi verificado que não houve diferença significativa de temperatura entre a água das garrafas nas técnicas de SODIS convencional e de SODIS fundo preto.

Nas técnicas de SODIS convencional e SODIS com garrafas colocadas sobre uma lona preta (fundo preto) foi observado, no final do processo de desinfecção, no tempo T4 e correspondente a oito horas de exposição à luz solar, a presença de coliformes termotolerantes, embora em concentrações baixas ($4,00 \times 10^0$ e $2,50 \times 10^0$, respectivamente). Neste caso, parece ter ocorrido reativação (fotorreativação) dos escassos coliformes que permaneceram em estado de estresse pela ação da luz associada às altas temperaturas (CEBALLOS *et al.*, 2003). Considerando que após 5 horas de exposição ao sol, ou seja, no tempo T2, ocorreu a inativação bacteriana, pode-se concluir que a superexposição à luz solar propicia a fotorreativação. De acordo com os resultados obtidos neste experimento, para São José de Sabugí/PB, um tempo de exposição máximo de 5 a 6 horas seria mais recomendável que o de 8 horas. Experimentos de SODIS em diferentes partes do mundo mostraram inativação de 100% de bactérias coliformes com exposição ao sol intenso, em dias sem nuvens, de apenas 4 horas (SODIS, 2003).

Tabela 5.2 – Concentração de coliformes termotolerantes e *E.coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS convencional (Água A*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005)

Hora	Tempo de exposição	SODIS Convencional (garrafas transparentes)				
		Temperatura da água (°C)	C. termotolerantes (N° UFC/100ml)	Redução (%)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
08:50	T0	30	2,00E+03	0	2,00E+03	0
10:50	T1 (2h)	38	2,10E+02	89,50	2,10E+02	89,5
13:50	T2 (5h)	44	0,00E+00	100	0,00E+00	100
15:20	T3 (6,5h)	43	0,00E+00	100	0,00E+00	100
16:50	T4 (8h)	39	4,50E+00	99,78	0,00E+00	100

*Água A – água de poço sem esgoto

Tabela 5.3 – Concentração de coliformes termotolerantes e *E.coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS fundo preto (Água A*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005)

Hora	Tempo de exposição	SODIS Fundo Preto (lona preta)				
		Temperatura da água (°C)	C. termotolerantes (N° UFC/100ml)	Redução (%)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
08:50	T0	30	2,00E+03	0	2,00E+03	0
10:50	T1 (2h)	38	3,10E+02	84,5	3,10E+02	84,5
13:50	T2 (5h)	46	0,00E+00	100	0,00E+00	100
15:20	T3 (6,5h)	44	0,00E+00	100	0,00E+00	100
16:50	T4 (8h)	39	2,00E+00	99,90	0,00E+00	100

*Água A – água de poço sem esgoto

Tabela 5.4 – Concentração de coliformes termotolerantes e *E.coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS controle sem luz (Água A*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005)

Hora	Tempo de exposição	SODIS Controle (garrafas embrulhadas em papel alumínio)				
		Temperatura da água (°C)	C. termotolerantes (Nº UFC/100ml)	Redução (%)	<i>Escherichia coli</i> (Nº UFC/100ml)	Redução (%)
08:50	T0	29	2,00E+03	0	2,00E+03	0
10:50	T1 (2h)	33	1,10E+03	45	1,10E+03	45
13:50	T2 (5h)	35	Ex.	ND	Ex.	ND
15:20	T3 (6,5h)	36	Ex.	ND	Ex.	ND
16:50	T4 (8h)	35	Ex.	ND	Ex.	ND

*Água A – água de poço sem esgoto. Ex.– Número excessivo de colônias de bactérias coliformes, impossíveis de serem quantificadas; ND – Não determinado.

Nas garrafas embrulhadas com papel alumínio para impedir a penetração de luz solar (garrafas controle, sem ação da luz ou controles no escuro), os resultados mostraram que temperaturas da água de 35°C e sem luz solar, não proporcionam a desinfecção. Pelo contrário, ao atingir essa temperatura, a água se torna um ambiente altamente favorável à multiplicação das bactérias coliformes, como se observa nos resultados obtidos (Tabelas 5.4). A tabela mostra claramente que não ocorreu somente inativação bacteriana nas garrafas controles, como também a ativa reprodução dos microrganismos, atingindo valores superiores aos quantificados na água no início do experimento. As condições de temperatura de 35°C nas garrafas controle e a ausência de luz transformaram esses ambientes em incubadoras adequadas para a reprodução de coliformes e de bactérias mesófilas heterótrofas que podem se desenvolver nessas condições e que estão presentes na água bruta. Esses resultados evidenciam a importância da luz solar no processo de desinfecção aplicando-se SODIS.

No teste de desinfecção utilizando a mesma água de poço adicionada de um inóculo de esgoto (água B), a temperatura da água no interior das garrafas alcançou os mesmos valores do teste com a água A. Com uma concentração inicial de coliformes

termotolerantes mil vezes mais alta que a concentração da água A (água B = $3,00 \times 10^6$ UFC/100ml), não ocorreu inativação total dessas bactérias e de *Escherichia coli*, havendo concordância com resultados da literatura que mostram que águas com elevadas contaminações não são desinfetadas facilmente pela radiação solar (DANIEL *et al.*, 2001).

As Tabelas 5.5, 5.6, mostram que após 8 horas de exposição solar houve, neste experimento com água B, reduções das concentrações iniciais dos microrganismos correspondentes a duas e quatro ordens decimais, respectivamente, na técnica de SODIS convencional e na técnica de SODIS com fundo preto. Cabe ressaltar que atenção especial deve ser dada às literaturas que relatam a redução da concentração dos microrganismos durante a desinfecção em termos de porcentagem. Na água submetida a 8 horas de exposição à redução foi de 99,49% de coliformes termotolerantes e *E. coli* nas garrafas transparentes, entretanto remanesceram $1,52 \times 10^4$ UFC/100ml de ambos os microrganismos (Tabela 5.5) e de 99,99% de coliformes termotolerantes e *E. coli* nas garrafas colocadas sobre uma lona preta com uma concentração remanescente de $1,70 \times 10^2$ UFC/100ml também de ambos os microrganismos (Tabela 5.6).

Tabela 5.5 – Concentração de coliformes termotolerantes e *E. coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS convencional (Água B*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005)

Hora	Tempo de exposição	SODIS Convencional (garrafas transparentes)				
		Temperatura da água (°C)	C. termotolerantes (N° UFC/100ml)	Redução (%)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
08:50	T0	30	3,00E+06	0	3,00E+06	0
10:50	T1 (2h)	38	Ex.	ND	Ex.	ND
13:50	T2 (5h)	44	1,02E+05	96,60	8,12E+04	97,29
15:20	T3 (6,5h)	43	Ex.	ND	Ex.	ND
16:50	T4 (8h)	39	1,52E+04	99,49	1,52E+04	99,49

*Água B – água de poço com esgoto. Ex.– Número excessivo de colônias de bactérias coliformes, impossíveis de serem quantificadas; ND – Não determinado.

Tabela 5.6 – Concentração de coliformes termotolerantes e *E.coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS fundo preto (Água B*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005)

Hora	Tempo de exposição	SODIS Fundo Preto (lona preta)				
		Temperatura da água (°C)	C. termotolerantes (N° UFC/100ml)	Redução (%)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
08:50	T0	30	3,00E+06	0	3,00E+06	0
10:50	T1 (2h)	38	Ex.	ND	Ex.	ND
13:50	T2 (5h)	46	3,75E+03	99,88	3,75E+03	99,88
15:20	T3 (6,5h)	44	5,70E+02	99,98	5,70E+02	99,98
16:50	T4 (8h)	39	1,70E+02	99,99	1,70E+02	99,99

*Água B – água de poço com esgoto. Ex.- Número excessivo de colônias de bactérias coliformes, impossíveis de serem quantificadas; ND – Não determinado.

Tabela 5.7 – Concentração de coliformes termotolerantes e *E.coli* e porcentagem de redução ao longo de 8 horas de exposição à radiação solar – SODIS controle sem luz (Água B*) (São José do Sabugi/PB – 16/12/2005)

Hora	Tempo de exposição	SODIS Controle (garrafas embrulhadas em papel alumínio)				
		Temperatura da água (°C)	C. termotolerantes (N° UFC/100ml)	Redução (%)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
08:50	T0	29	3,00E+06	0	3,00E+06	0
10:50	T1 (2h)	33	Ex.	ND	Ex.	ND
13:50	T2 (5h)	35	Ex.	ND	Ex.	ND
15:20	T3 (6,5h)	36	Ex.	ND	Ex.	ND
16:50	T4 (8h)	35	Ex.	ND	Ex.	ND

*Água B – água de poço com esgoto. Ex.- Número excessivo de colônias de bactérias coliformes, impossíveis de serem quantificadas; ND – Não determinado.

Nas garrafas controle foi verificado novamente que a inexistência da passagem de luz solar para a lâmina d'água no interior das garrafas e a ausência do efeito bactericida da temperatura criaram condições para o crescimento excessivo dos microrganismos testados (Tabela 5.7)

5.2.2 – Experimento 2: Técnica de SODIS com água de poço inoculada com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985) e *Escherichia coli* (ATCC 25922)

Foram realizados quatro testes de desinfecção denominados: Testes 1 (08/11/06) e 2 (12/11/06) para água inoculada com *E. coli* (ATCC 25922); Testes 3 (20/11/06) e 4 (24/11/06) para água inoculada com *S. typhimurium* (ATCC 3985). Como cada teste de desinfecção foi realizado em dias diferentes, houve diferentes concentrações das bactérias inoculadas inicialmente, assim como diferentes valores de radiação solar, de temperatura, etc.

A Figura 5.1 mostra os aumentos horários de temperatura na água das garrafas transparentes nos testes 1, 2, 3 e 4. Foi observado que as máximas temperaturas alcançadas entre 10:00 e 13:00 horas correspondem aos horários de maior incidência da radiação global solar, exceto no Teste 4 onde ocorreu um decréscimo da radiação incidente durante as seis horas de exposição solar, como se verifica na Figura 5.2.

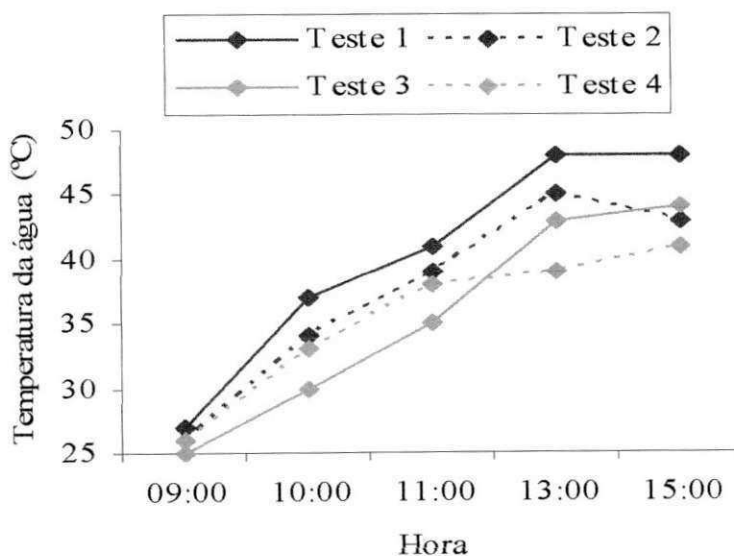


Figura 5.1 – Variação da temperatura nas amostras de água expostas ao sol e inoculadas com *E. coli* (ATCC 25922) (Testes 1 e 2) e *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) nas garrafas transparentes durante 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08, 12, 20 e 24/11/06)

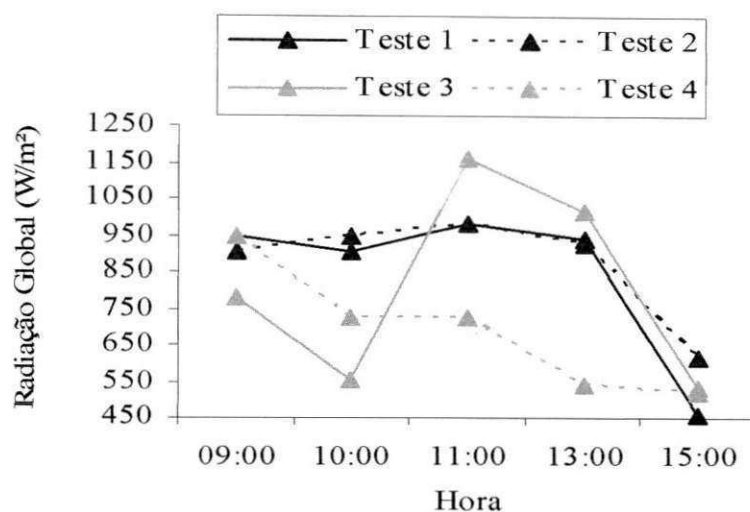


Figura 5.2 – Variação da radiação solar global durante 6 horas de exposição das garrafas contendo água inoculada com *E. coli* (ATCC 25922) (Testes 1 e 2) e *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) (CG/PB – 08, 12, 20 e 24/11/06)

Tabela 5.8 – TESTE 1: concentração de *E. coli* (ATCC 25922), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08/11/06)

Hora	Tempo de exposição	Radiação global (W/m ²)	SODIS Convencional (garrafas transparentes)			SODIS Controle (garrafas embrulhadas em papel alumínio)			
			Temperatura da água (°C)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)	Temperatura da água (°C)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	945	27	6,60E+04	0	27	6,60E+04	0	0
10:00	T1 (1h)	905	37	0,00E+00	100	33	3,40E+04	0,28	48,48
11:00	T2 (2h)	979	41	0,00E+00	100	37	4,20E+04	0,19	36,36
13:00	T3 (4h)	937	48	0,00E+00	100	44	2,80E+04	0,37	57,57
15:00	T4 (6h)	455	48	0,00E+00	100	45	1,30E+04	0,70	80,30

Tabela 5.9 – TESTE 2: concentração de *E. coli* (ATCC 25922), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 12/11/06)

Hora	Tempo de Exposição	Radiação Global (W/m ²)	SODIS Convencional (garrafas transparentes)			SODIS Controle (garrafas embrulhadas em papel alumínio)			
			Temperatura da água (°C)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)	Temperatura da água (°C)	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	904	26	1,88E+05	0	26	1,88E+05	0	0
10:00	T1 (1h)	944	34	0,00E+00	100	31	3,12E+05	-0,22*	-65,96*
11:00	T2 (2h)	983	39	0,00E+00	100	35	3,26E+05	-0,24*	-73,40*
13:00	T3 (4h)	928	45	0,00E+00	100	39	1,10E+05	0,23	41,49
15:00	T4 (6h)	613,8	43	0,00E+00	100	40	1,12E+05	0,22	40,43

* o sinal negativo (-) indica aumento

Os resultados das Tabelas 5.8 e 5.9 evidenciam que um tempo de exposição à luz solar de aproximadamente 1 hora, acompanhado da incidência de radiação solar em torno de 945W/m², foram suficientes para causar a inativação de 100% das concentrações iniciais de *E. coli* (ATCC 25922), que foram de 6,60 x 10⁴UFC/100ml (Teste1) e 1,88 x 10⁵UFC/100ml (Teste 2). Esses resultados estão de acordo com dados da literatura, onde se observa que a ocorrência da eliminação completa de organismos patogênicos requer um mínimo de duas horas de exposição à radiação solar direta de 600W/m² (DANIEL *et al.*, 2001). Ressalta-se que a eliminação de coliformes e, em especial, de *E. coli* é a forma internacional de avaliar a eliminação de microrganismos patogênicos entéricos em testes de desinfecção em geral, e que alguns sorotipos de *E. coli* são responsáveis por gastroenterites, sendo a diarreia o principal sintoma (TRABULSI & ALTERTHUN, 2004).

A Figura 5.3 representa o decréscimo da densidade de *E. coli* (ATCC 25922) ocorridos nos Testes 1 e 2.

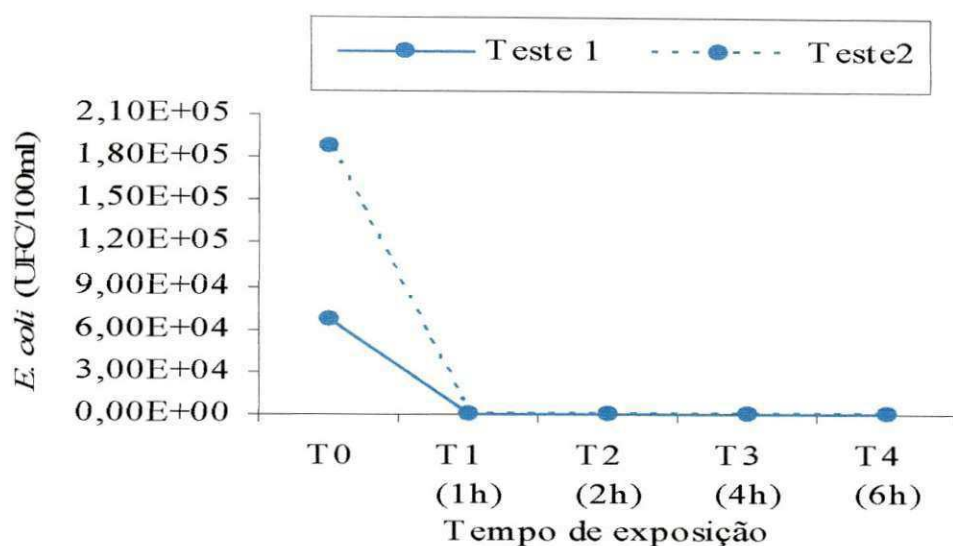


Figura 5.3 – Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) (Testes 1 e 2) ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08 e 12/11/06)

Segundo a literatura, bactérias encontradas no ambiente natural, tais como coliformes totais e termotolerantes e bactérias heterotróficas, são mais resistentes à desinfecção em geral do que cepas puras de bactérias. Tal comportamento foi observado comparando-se os resultados obtidos nos Experimentos 1 e 2. Enquanto que nos testes do Experimento 2, usando cepa pura de *E. coli* (ATCC 25922) como inóculo nas águas sob experimentação, a inativação total ocorreu com 1 hora de exposição à luz solar, no Experimento 1, utilizando a população autóctone de *E. coli* presente na água do poço, a inativação foi alcançada com duas horas de exposição à luz solar acompanhada de uma fotorreativação dos escassos microrganismos estressados pela ação do agente desinfetante.

Os resultados nas garrafas controle (Tabelas 5.8 e 5.9), mostram que a ausência da luz solar impediu a desinfecção, mesmo que a temperatura da água no interior desses recipientes (Figura 5.4) tenha atingido valores semelhantes (40 – 45°C) aos das garrafas transparentes. Dessa forma, mais uma vez, foi constatado que a radiação UV-A (320nm a 400nm) é a principal responsável pela inativação de microrganismos e a temperatura, nas faixas de valores alcançados nestes experimentos, praticamente não teve efeito bactericida, em especial quando tem atuação independente da luz. Entretanto, o efeito

sinérgico da radiação UV e do calor aumenta significativamente a taxa de inativação dos microrganismos (SOLARTE *et al.*, 1997; DANIEL *et al.*, 2001; SODIS, 2003).

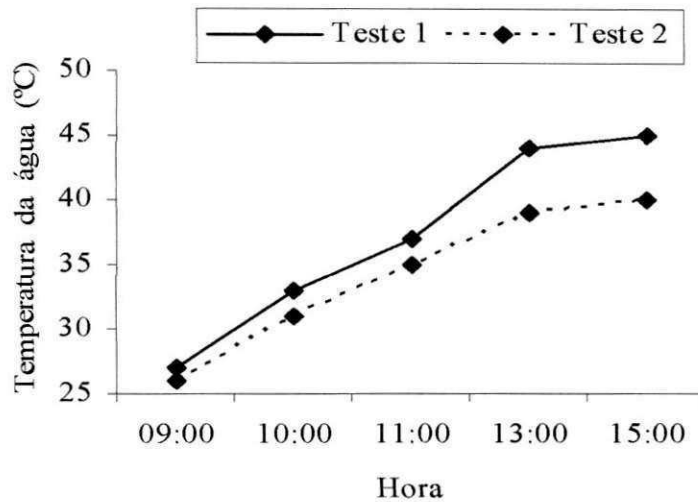


Figura 5.4 – Variação da temperatura nas amostras de água expostas ao sol e inoculadas com *E. coli* (ATCC25922) (Testes 1 e 2) nas garrafas controle durante 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 08 e 12/11/06)

A eficiência da desinfecção na população de *E. coli* nas garrafas embrulhadas em papel alumínio está representada na Figura 5.5, durante a exposição ao sol.

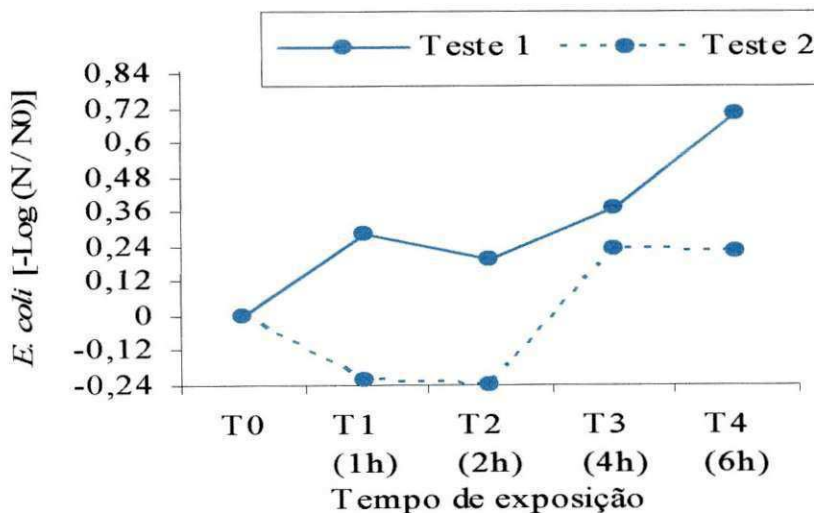


Figura 5.5 – Eficiência da desinfecção solar na inativação da população de *E. coli* (ATCC25922) (Testes 1 e 2) nas garrafas controle (CG/PB – 08 e 12/11/06)

Segundo Acra *et al.* (1987) e Daniel *et al.* (2001), a presença de nuvens ou de outros fatores que interferem na radiação que atinge a superfície terrestre, como, fumaça, fog e chuvas, alteram de forma significativa a eficiência dos métodos de desinfecção por luz solar, porque reduzem a radiação global incidente ao nível do solo, limitando a eficiência do processo.

A Figura 5.6 mostra as diferentes intensidades de radiação solar nos testes utilizando água inoculada com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985). Na realização do Teste 4 o céu apresentava nuvens, ocasionando condições de radiação solar menos favoráveis que as observadas nos Teste 3 para a desinfecção de águas inoculadas com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985).

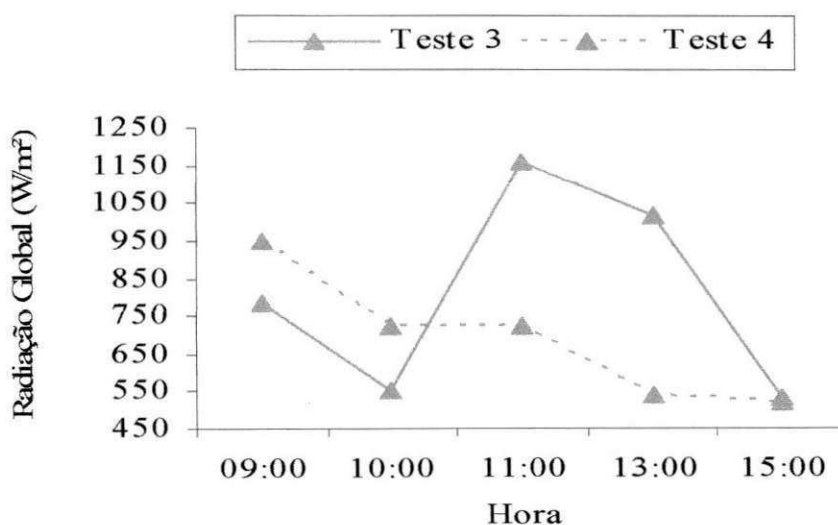


Figura 5.6 – Variação da radiação solar global durante 6 horas de exposição das garrafas contendo água inoculada com *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) (CG/PB – 20 e 24/11/06)

Os resultados das Tabelas 5.10 e 5.11 confirmam que o tempo necessário para inativação bacteriana é maior sob condições de nebulosidade. Nesse contexto foram necessárias quatro horas de exposição para inativar totalmente a população de *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985) inoculada no Teste 3 e seis horas no Teste 4.

A Figura 5.7 representa os decaimentos da densidade de *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985) ocorridos nos Testes 3 e 4.

Tabela 5.10 – TESTE 3: concentração de *S. typhimurium* (ATCC 3985), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 20/11/06)

Hora	Tempo de Exposição	Radiação Global (W/m ²)	SODIS Convencional (garrafas transparentes)			SODIS Controle (garrafas embrulhadas em papel alumínio)			
			Temperatura da água (°C)	<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)	Temperatura da água (°C)	<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	782	25	1,20E+05	0	25	1,20E+05	0	0
10:00	T1 (1h)	554	30	1,50E+05	-25*	28	1,50E+05	-0,09*	-25*
11:00	T2 (2h)	1163	35	9,00E+04	25	32	1,42E+05	-0,07*	-18,33*
13:00	T3 (4h)	1017	43	0,00E+00	100	35	1,38E+05	-0,06*	-15*
15:00	T4 (6h)	534,8	44	0,00E+00	100	38	1,40E+05	-0,06*	-16,67*

* o sinal negativo (-) indica aumento

Tabela 5.11 – TESTE 4: concentração de *S. typhimurium* (ATCC 3985), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 24/11/06)

Hora	Tempo de Exposição	Radiação Global (W/m ²)	SODIS Convencional (garrafas transparentes)			SODIS Controle (garrafas embrulhadas em papel alumínio)			
			Temperatura da água (°C)	<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)	Temperatura da água (°C)	<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	947	26	1,82E+05	0	26	1,82E+05	0	0
10:00	T1 (1h)	723	33	4,10E+05	-125*	28	1,60E+05	0,05	12,09
11:00	T2 (2h)	724	38	2,80E+04	84,62	31	1,58E+05	0,06	13,19
13:00	T3 (4h)	542,3	39	8,00E+03	95,60	34	1,34E+05	0,13	26,37
15:00	T4 (6h)	520,8	41	0,00E+00	100	36	1,26E+05	0,15	30,77

* o sinal negativo (-) indica aumento

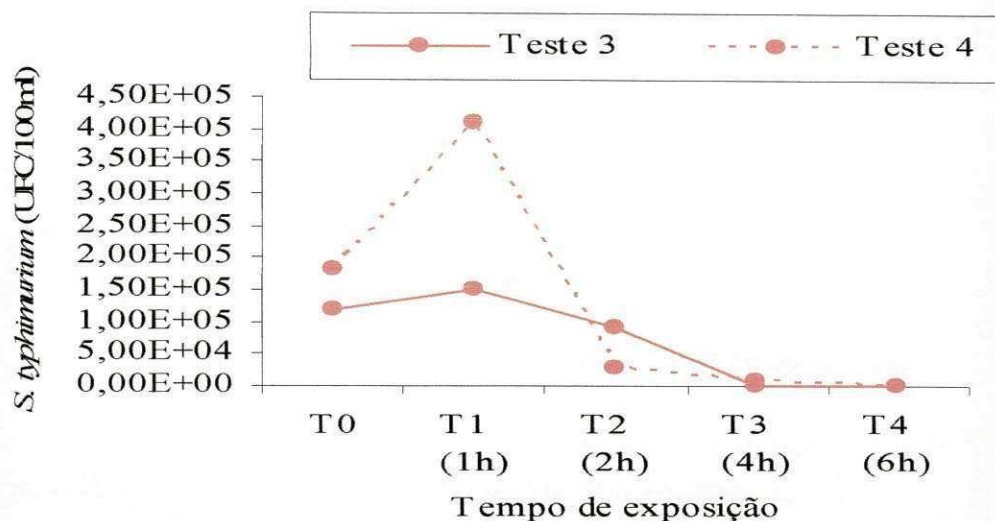


Figura 5.7 – Comportamento de *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) ao longo de 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 20 e 24/11/06)

As concentrações de *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985) nas garrafas controle, apresentadas nas Tabelas 5.10 e 5.11, indicam que, com temperatura em torno de 38°C (Figura 5.8), não houve inativação total da população desse microrganismo e, de fato, essa temperatura não é bactericida para enterobactérias, que podem crescer até uma temperatura máxima de 44-45°C (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). Como observado nos testes com *E. coli* (ATCC 25922), a menor intensidade de luz solar reduziu significativamente a eficiência de desinfecção dos microrganismos (Figura 5.9).

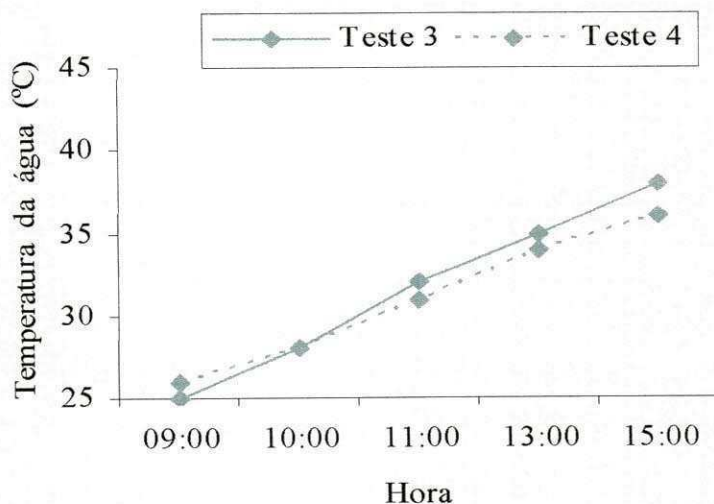


Figura 5.8 – Variação da temperatura nas amostras de água expostas ao sol e inoculadas com *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) nas garrafas controle durante 6 horas de exposição à radiação solar (CG/PB – 20 e 24/11/06)

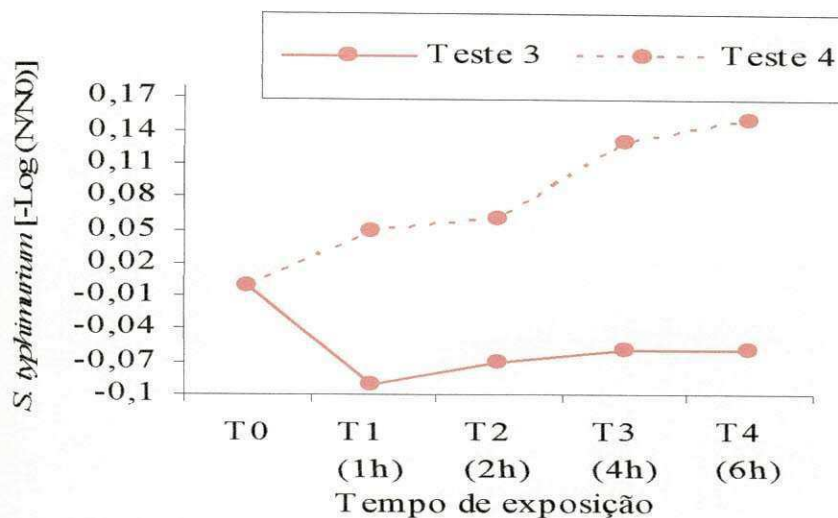


Figura 5.9 – Eficiência da desinfecção solar na inativação da população inoculada de *S. typhimurium* (ATCC 3985) (Testes 3 e 4) nas garrafas controle (CG/PB – 20 e 24/11/06)

5.3 – Testes de desinfecção com radiação UV de lâmpadas germicidas

5.3.1 – Experimento 3: teste de desinfecção com emprego de radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) e água inoculada com *Salmonella* spp., *E. coli* e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Neste experimento foram avaliados os efeitos de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W, com irradiância máxima de aproximadamente $25,8\text{W/m}^2$, medida a 15cm de distância das lâmpadas, sobre os microrganismos autóctones e inoculados na água do córrego.

As Tabelas 5.12 e 5.13 apresentam os resultados obtidos no teste com água do córrego da UFCG diluída e estéril, inoculada com *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *E. coli*, formando um “pool” bacteriano. A concentração inicial na água inoculada com uma cultura pura crescida até fase logarítmica em caldo nutriente, foi de $3,00 \times 10^6$ UFC/100ml de *Salmonella* spp., $3,00 \times 10^5$ UFC/100ml de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e de $4,00 \times 10^8$ UFC/100ml de *E. coli*.

Tabela 5.12 - Concentração de *Salmonella* spp. e *S. aureus* (ATCC 25923), porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006)

Hora	Tempo de exposição	<i>Salmonella</i> spp. (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)	<i>S. aureus</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	3,00E+06	0	0	3,00E+05	0	0
10:00	T1 (1h)	3,00E+05	1	90	2,50E+05	0,08	16,67
11:30	T2 (2,5h)	2,00E+06	0,17	33,33	1,00E+06	-0,52*	-233,3*
14:00	T3 (5h)	8,00E+05	0,57	73,33	1,00E+06	-0,52*	-233,3*
15:00	T4 (6h)	1,00E+06	0,47	66,67	1,00E+06	-0,52*	-233,3*

* o sinal negativo (-) indica aumento

Tabela 5.13 – Concentração de *E. coli*, porcentagem de redução e eficiência ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB - 11/05/2006)

Hora	Tempo de exposição	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	4,00E+08	0	0
10:00	T1 (1h)	2,00E+08	0,30	50
11:30	T2 (2,5h)	1,00E+07	1,60	97,50
14:00	T3 (5h)	6,00E+06	1,82	98,50
15:00	T4 (6h)	1,00E+06	2,60	99,75

Enquanto o comportamento de *E. coli* foi em decréscimo, o de *Salmonella* spp. e de *S. aureus* foi errático ao longo do tempo de exposição às lâmpadas de UV. Embora as populações de *Salmonella* spp. (Figura 5.10) e *S. aureus* (ATCC 25923) (Figura 5.11) tenham apresentado densidades diferentes frente à ação do agente desinfetante durante as seis horas de exposição à radiação UV artificial, ao término desse período de exposição a concentração de células viáveis desses microrganismos foi igual a $1,00 \times 10^6$ UFC/100ml, representando uma redução de 66,67% em relação à população inicial de *Salmonella* spp..

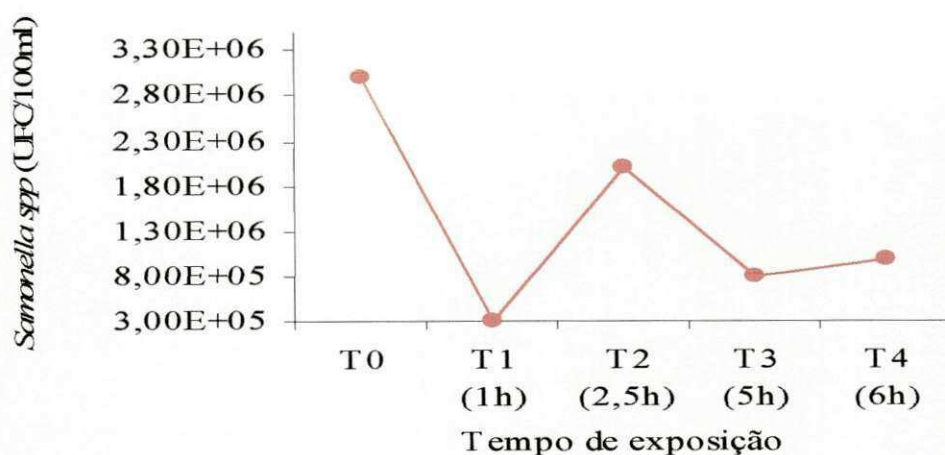


Figura 5.10 – Comportamento da população de *Salmonella* spp. ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB - 11/05/2006)

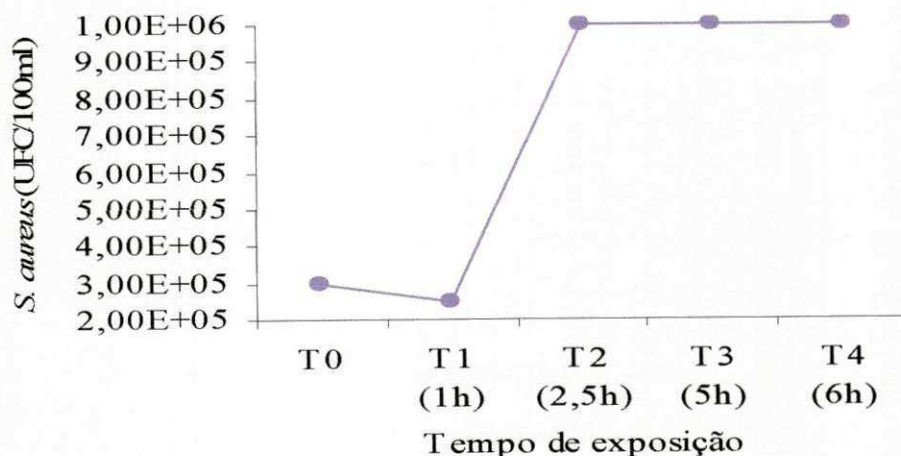


Figura 5.11 – Comportamento de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB - 11/05/2006)

Foi observado, nas culturas em placas de Petri, que as colônias de *Salmonella* spp. produziam abundante formação de exopolímero ou mucilagem externa. Essa camada de exopolímeros confere à bactéria proteção externa à ação da radiação UV e aos desinfetantes em geral, assim como é também uma barreira biológica para os predadores (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000). Provavelmente, esse exopolímero, de composição polissacarídica, também tenha favorecido a sobrevivência de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

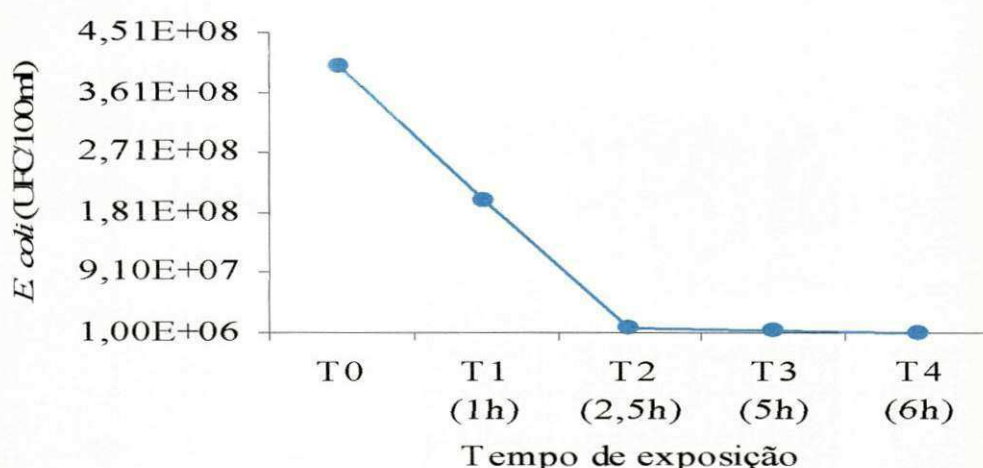


Figura 5.12 – Comportamento da população de *E. coli* ao longo de 6 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -11/05/2006)

A Figura 5.12 mostra que a população de *E. coli*, mesmo com concentração inicial cerca de 100 vezes superior à concentração de *Salmonella* spp. e 1.000 vezes maior que a de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), apresentou redução de duas ordens decimais em relação a sua concentração inicial (redução de 99,75%), atingindo, após seis horas de radiação, a densidade de $1,00 \times 10^6$ UFC/100ml. Esses resultados estariam indicando que cepas produtoras de exopolímeros apresentam cinética de desinfecção diferente da *E. coli* e, portanto, para cepas produtoras de exopolímeros, não seria adequado usar *E. coli* e, provavelmente, nem coliformes termotolerantes, como indicadores globais de morte ou de decréscimo de enteropatogênicos humanos. Os resultados tornam-se interessantes e bastante valiosos nesse contexto, considerando que cepas de *Salmonella* spp. não produtoras de exopolímeros têm curvas de decréscimo bacteriano e de desinfecção com diferentes agentes, idênticas ou muito próximas à de

coliformes. Trabalhos específicos sobre esse comportamento de cepas mais e menos produtoras de exopolímeros e sob estrito controle experimental deveriam ser realizados para estudar e esclarecer mais profundamente estes achados.

Os resultados mostram que não foram obtidos decréscimos de 100% das bactérias sob ensaio experimental. Pelo contrário, a Figura 5.13 evidencia baixas eficiências de desinfecção, registrando valores negativos, indicativos de recrescimento no caso da população de *S. aureus* (ATCC 25923).

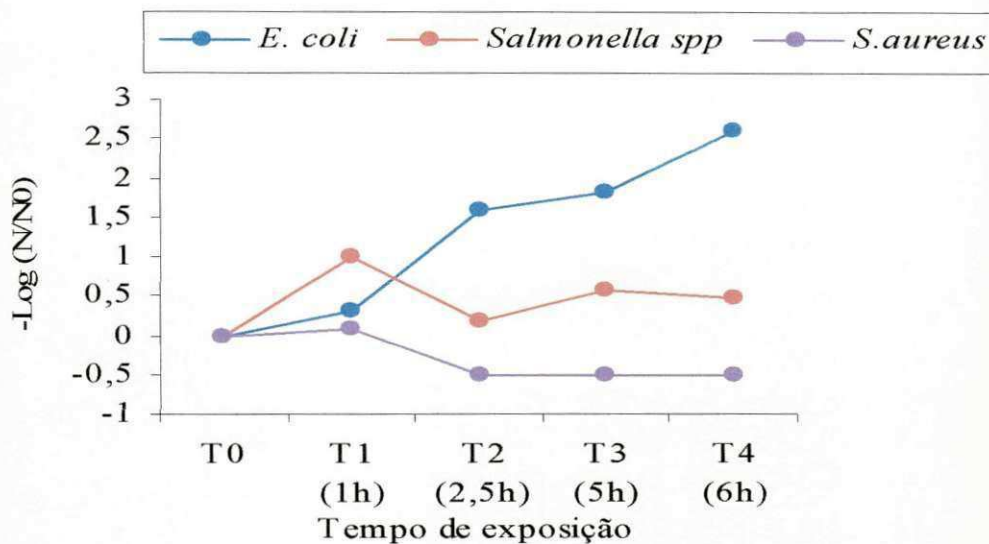


Figura 5.13 – Eficiência da desinfecção com radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) na inativação das populações de *Salmonella spp.*, *E. coli* e *S. aureus* (ATCC 25923) (CG/PB -11/05/2006)

Outros fatores que poderiam ter contribuído com os comportamentos aleatórios dessas bactérias foram: a) a concentração celular inicial elevada, entre 10^5 e 10^8 UFC/100ml, visto que quanto maior a população inicial, menor a eficiência da desinfecção, sendo necessário maior tempo de exposição para a inativação microbiana (TORTORA, 2000; COTTON *et al.*, 2001; DONAIRE, 2001); b) a utilização de bactérias de distintos gêneros, uma vez que gêneros e espécies de bactérias diferentes apresentam variedades fisiológicas e, portanto, distintas respostas celulares quando são submetidas às mesmas condições experimentais (CORDEIRO, LEITE, & DEZOTTI, 2004). *E. coli* e *Salmonella spp.* são bactérias Gram-negativas, ou seja, possuem uma parede celular mais complexa e mais rica em lipídios que as das bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*. A parede celular das Gram-negativas possui uma membrana

externa rica em lipoproteína, lipopolissacarídeos e fosfolipídeos, que se constituem em barreira seletiva para diferentes substâncias (TORTORA, 2000).

No segundo teste de desinfecção com as lâmpadas fluorescentes germicidas foram utilizadas as bactérias do grupo coliforme, autóctones da água do córrego da UFCG, diluída com água destilada estéril até obter turbidez de 11,7UNT. A população inicial de coliformes termotolerantes foi de $1,20 \times 10^5$ UFC/100ml e, após o tempo de exposição de cinco horas à fonte de radiação, a densidade final foi de $3,00 \times 10^5$ UFC/100ml, ou seja, houve crescimento.

Os resultados do comportamento da população de coliformes termotolerantes nesse experimento são apresentados na Tabela 5.14 .

Tabela 5.14 – Concentração de coliformes termotolerantes, porcentagem de redução e eficiência ao longo de 5 horas de exposição à radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) (CG/PB -22/05/2006)

Hora	Tempo de exposição	Coliformes termotolerantes (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	1,20E+05	0	0
10:00	T1 (1h)	6,40E+05	- 0,73*	- 433,33*
11:30	T2 (2,5h)	1,98E+05	- 0,22*	- 65*
13:00	T3 (4h)	7,90E+05	- 0,82*	- 558,34*
14:00	T4 (5h)	3,00E+05	- 0,40*	- 150*

*o sinal negativo (-) indica aumento

A Figura 5.14 representa a eficiência de desinfecção. Observa-se que os valores negativos foram alcançados, indicando a ocorrência do crescimento bacteriano.

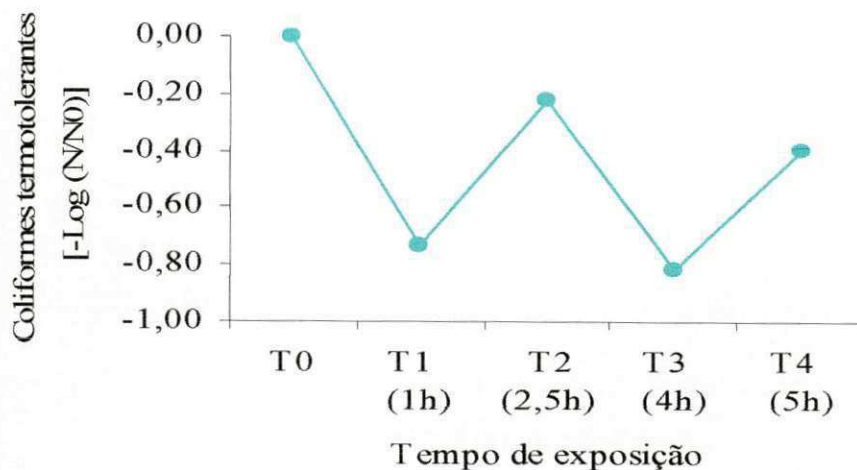


Figura 5.14 – Eficiência da desinfecção com radiação UV de lâmpadas fluorescentes germicidas 15W (NARDS) na inativação da população de coliformes termotolerantes (CG/PB – 22/05/06)

5.3.2 – Experimento 4: Teste de desinfecção com emprego de radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) e água inoculada com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 939)

Neste experimento foi usada luz UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) com irradiância máxima, medida a 25cm da fonte de radiação, de aproximadamente $10,4\text{W}/\text{m}^2$ e água de poço artesiano, localizado próximo ao Campus da UNICAMP/SP. Foram usadas culturas puras das bactérias testes, inoculadas isoladamente em amostras de água de poço.

A temperatura inicial das amostras de água dentro das garrafas PET transparentes inoculadas com *Salmonella typhimurium* (ATCC 3985), *Escherichia coli*, *S. aureus* (ATCC 25923) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) foram de 31°C, 26°C, 25°C e 26°C, respectivamente, elevando-se em média 2,5°C ao longo das 4 horas de exposição à radiação UV artificial. Ou seja, em nenhum momento foram atingidos valores bactericidas de temperatura que, para estas bactérias mesófilas são superiores a 45°C.

Tabela 5.15 – Concentração de *S. aureus* (ATCC 25923) e porcentagem de redução ao longo de quatro horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 09/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Staphylococcus aureus</i> (Nº UFC/100ml)	Redução (%)
09:00	T0	1,44E+05	0
10:00	T1 (1h)	0,00E+00	100
11:30	T2 (2,5h)	0,00E+00	100
13:00	T3 (4h)	0,00E+00	100

A Tabela 5.15 mostra a evolução das concentrações de *S. aureus* (ATCC 25923) durante as 4 horas de exposição da amostra de água à radiação da lâmpada germicida. A densidade da população inicial foi de $1,44 \times 10^5$ UFC/100ml, ocorrendo inativação de 100% da população inicial (Figura 5.15), após 1 hora de exposição à fonte de radiação. Esses resultados, ao contrário do observado no Experimento 3, indicam elevada susceptibilidade desta bactéria Gram-positiva ao efeito bactericida da luz UV artificial quando submetida, individualmente, à fonte de radiação de maior potência.

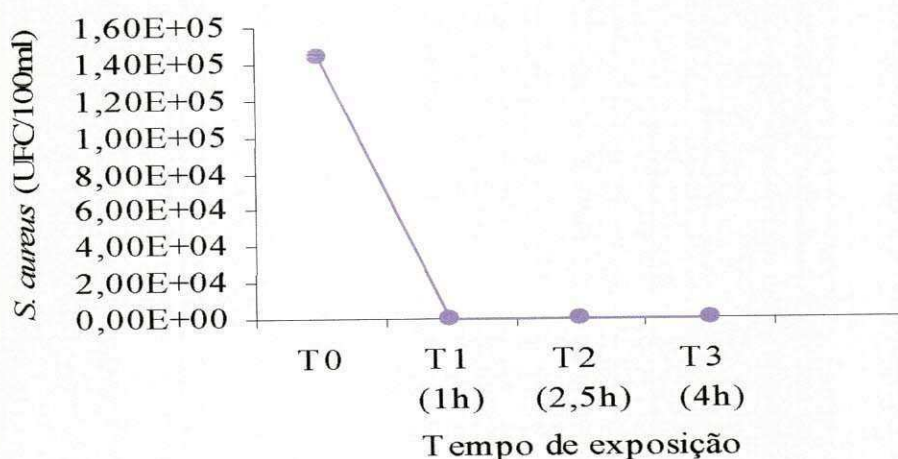


Figura 5.15 – Comportamento de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 09/08/06)

Nas águas inoculadas com a cepa de *E. coli* proveniente do trato intestinal humano e com as cepas de *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939), a concentração inicial foi de, respectivamente, $1,18 \times 10^5$ UFC/100ml, $8,20 \times 10^4$ UFC/100ml, $5,00 \times 10^4$ UFC/100ml. Conforme os resultados (Tabela 5.16), após 4 horas de exposição à ação da lâmpada germicida 254nm, a concentração de células viáveis de *S. typhimurium* (ATCC 3985) foi de $1,60 \times 10^4$ UFC/100ml, de $3,00 \times 10^4$ UFC/100ml de *P. aeruginosa* (ATCC 939) e com redução de uma ordem decimal da densidade inicial a *E. coli*, ficando $5,00 \times 10^4$ UFC/100ml.

Tabela 5.16 – Concentração da população de *E. coli*, *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939), porcentagem de redução e eficiência ao longo de quatro horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 16, 26, 28/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)	<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)	<i>P. aeruginosa</i> (N° UFC/100ml)	Eficiência -log (N/N0)	Redução (%)
09:00	T0	1,18E+05	0	0	8,20E+04	0	0	5,00E+04	0	0
10:00	T1 (1h)	1,04E+05	0,05	11,86	2,80E+04	0,47	65,85	4,80E+04	0,02	4
11:30	T2 (2,5h)	9,20E+04	0,11	22,03	2,00E+04	0,61	75,61	4,70E+04	0,03	6
13:00	T3 (4h)	5,00E+04	0,37	57,63	1,60E+04	0,71	80,48	3,00E+04	0,22	40

A absorção direta da radiação UV pelas células é parte significativa na inativação dos microrganismos. Sabendo que a radiação UV é energia eletromagnética, sua eficiência não é limitada pela maioria das variáveis que definem a qualidade da água, contudo, turbidez da água, a deposição de sais pouco solúveis em volta da lâmpada, ou ainda a redução da eficiência da lâmpada pelo excesso de uso da mesma podem reduzir a intensidade da radiação e conseqüentemente diminuir a absorção dessa energia luminosa pelas proteínas e pelos ácidos nucleicos das células bacterianas (DANIEL *et al.*, 2001; CORDEIRO, LEITE, & DEZOTTI, 2004).

Durante a execução dos testes descritos, amostras de água não tiveram contato direto com a lâmpada, e a emissão dessa luz foi monitorada durante todo o experimento, portanto essas variáveis não interferiram na eficiência da ação germicida das mesmas. Assim, pode-se atribuir os resultados obtidos principalmente a dois fatores que, individualmente e/ou em conjunto, inviabilizaram a eficiência desse processo de desinfecção. Esses fatores foram: a) exposição de curta duração para a concentração inicial do microrganismo; b) altura da lâmpada em relação à superfície externa da garrafa (25cm), que pode ter reduzido a intensidade da radiação transmitida para a lâmina d'água.

A Figura 5.16 apresenta a eficiência da desinfecção da lâmpada germicida de comprimento de onda de 254nm na remoção das populações dos microrganismos inoculados na água de poço.

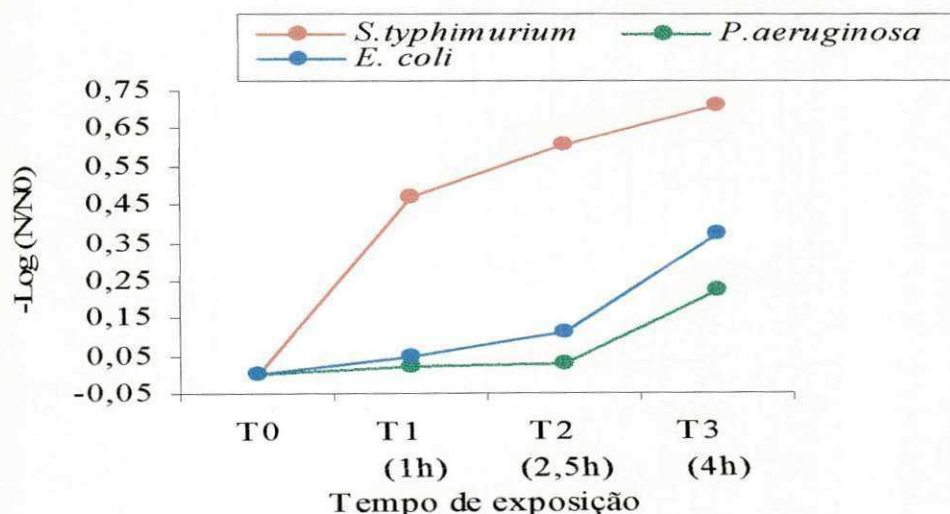


Figura 5.16 – Eficiência da desinfecção com a radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) na inativação das populações de *E. coli*, *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) (Campinas/SP – 16, 26, 28/08/06)

Cordeiro, Leite & Dezotti (2004) estudaram a inativação de duas espécies de microrganismos, *E. coli* e *Pseudomonas* spp., por desinfecção fotolítica, utilizando irradiação UV-C (8W/m^2 , 254nm) com concentração de 10^{11} UFC/100ml para *E. coli* e 10^{12} UFC/100ml para *Pseudomonas* spp. observando ausência de crescimento após 20 minutos de irradiação UV para *Pseudomonas* spp., o que não ocorreu com *E. coli*, com concentração inicial dez vezes menor em relação a *Pseudomonas* spp.. Com concentração inicial inferior, de 10^6 UFC/100ml para ambos os microrganismos, o

tratamento foi 100% eficiente. Dessa forma, o processo de fotodegradação mostrou-se eficiente na descontaminação de água, contudo, cabe ressaltar que, nesse experimento, a lâmpada, posicionada a uma distância de 12cm.

As Figuras 5.17, 5.18 e 5.19 representam o comportamento da densidade de *E. coli*, *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) durante o processo de desinfecção.

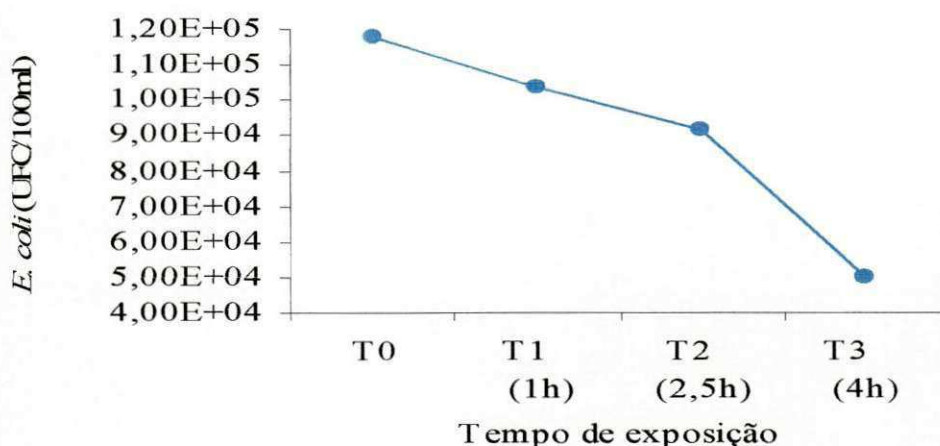


Figura 5.17 – Comportamento da população de *E. coli* ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 16/08/06)

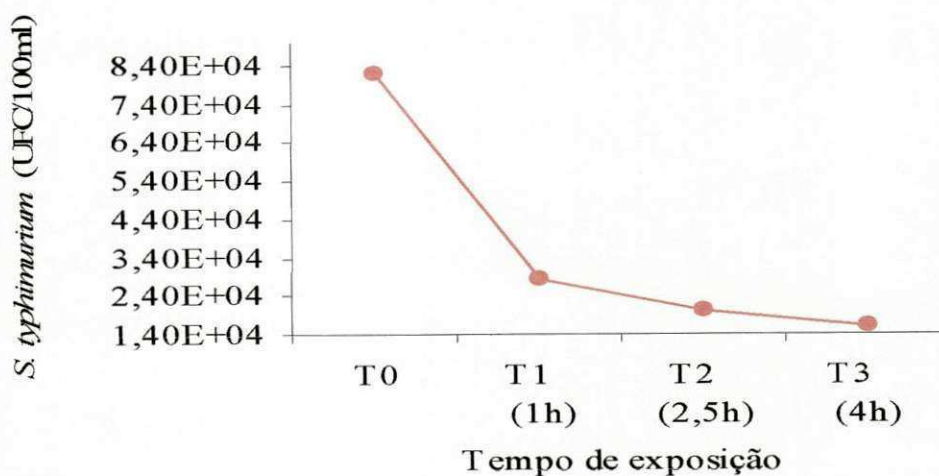


Figura 5.18 – Comportamento de *S. typhimurium* (ATCC 3985) ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 26/08/06)

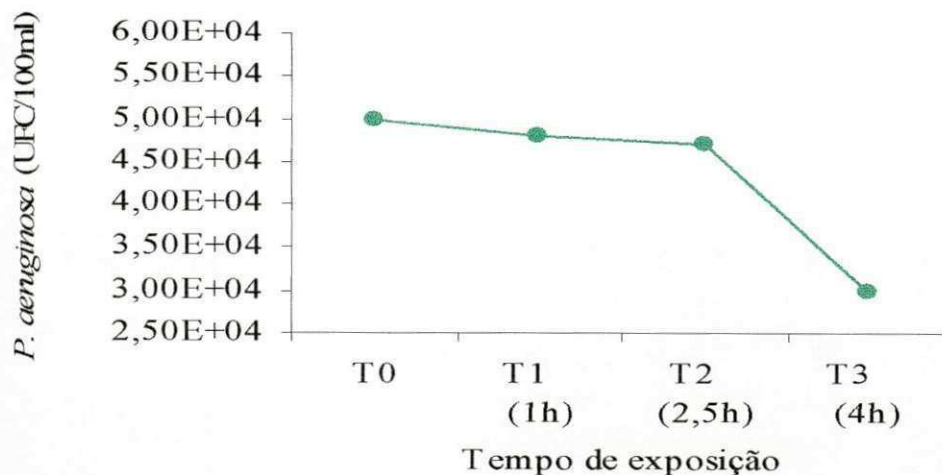


Figura 5.19 – Comportamento de *P. aeruginosa* (ATCC 939) ao longo de 4 horas de exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 28/08/06)

5.4 – Testes de desinfecção com emprego de simulador solar

5.4.1 - Experimento 5: Testes de desinfecção com emprego de lâmpadas solares 20W (PHILIPS Clio) e água inoculada com *Salmonella* spp., *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC25923) e *P. aeruginosa* (ATCC 939)

Neste experimento foram utilizadas lâmpadas solares de 20W com irradiância máxima de $15,1\text{W/m}^2$, medida a 30cm de distância da fonte de radiação. A desinfecção solar fundamenta-se na sinergia entre a temperatura e a radiação UV emitida pelo sol. Embora simule as condições naturais de emissão solar, as lâmpadas solares utilizadas nesse experimento emitem radiação UV-A e uma pequena quantidade de UV-B, porém não promovem o aquecimento. A temperatura inicial das amostras de água de poço inoculadas, individualmente, com *Salmonella* spp., *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC25923) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) variaram em $26^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e mantiveram-se constantes ao longo dos testes de desinfecção. Os resultados apresentados na Tabela 5.17 referentes à concentração de *Salmonella* spp., foram obtidos de uma cinética de desinfecção com duração total de 8 horas de exposição. A inativação total da população desse microrganismo, proveniente do trato intestinal humano, foi alcançada antes de quatro horas e trinta minutos de exposição à radiação solar artificial.

Tabela 5.17 – Concentração de *Salmonella* spp. e porcentagem de redução ao longo de quatro horas e trinta minutos de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 01/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Salmonella</i> spp. (N° UFC/100ml)	Redução (%)
11:00	T0	1,52E+05	0
12:00	T1 (1h)	1,12E+05	26,32
13:30	T2 (2,5h)	2,80E+04	81,58
14:30	T3 (3,5h)	0,00E+00	100
15:30	T4 (4,5h)	0,00E+00	100

Tabela 5.18 – Concentração de *S. aureus* (ATCC 25923) e porcentagem de redução ao longo de quatro horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 10/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Staphylococcus aureus</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
09:00	T0	3,20E+04	0
10:00	T1 (1h)	0,00E.00	100
11:30	T2 (2,5h)	0,00E.00	100
13:00	T3 (4h)	0,00E.00	100

Os resultados apresentados na Tabela 5.18 mostram as concentrações de *S. aureus* (ATCC 25923) durante as quatro horas de exposição às lâmpadas solares. Como observado no Experimento 4, a cepa de *S. aureus* (ATCC 25923) mostrou alta susceptibilidade à desinfecção com luz solar artificial. Com uma concentração inicial de $3,20 \times 10^4$ UFC/100ml, a inativação foi de 100%, após 1 hora de exposição à fonte de radiação. As Figuras 5.20 e 5.21 representam, respectivamente, o comportamento da densidade de *Salmonella* spp. e *S. aureus* (ATCC 25923), durante o processo de desinfecção.

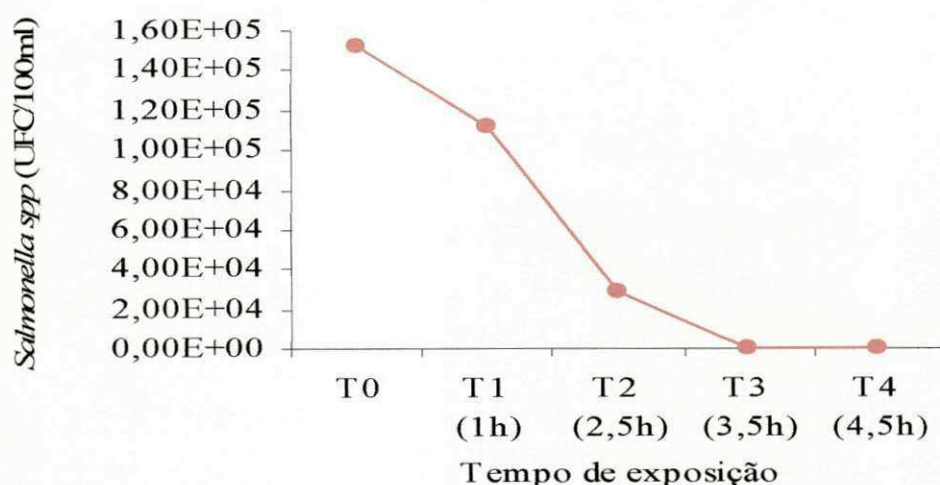


Figura 5.20 – Comportamento de *Salmonella* spp. ao longo de 4,5 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clío) (Campinas/SP – 01/08/06)

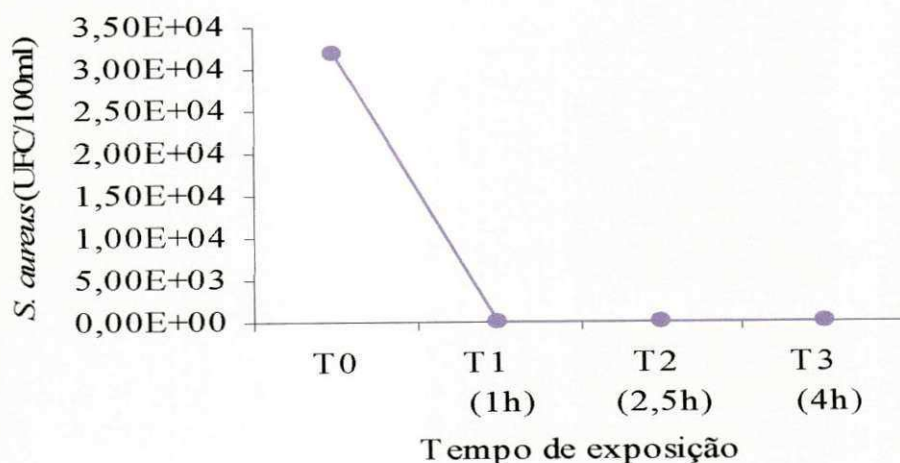


Figura 5.21 – Comportamento de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 4 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clío) (Campinas/SP – 10/08/06)

Com a finalidade de testar um tempo de exposição diferente daquele aplicado no Experimento 4, as amostras de água inoculadas com *E. coli* (ATCC 25922) foram submetidas a 6 horas de exposição à fonte de radiação. A Tabela 5.19 mostra que foi necessário aproximadamente 1,5 hora de exposição para remover 100% da população de *E. coli* (ATCC 25922),.

Tabela 5.19 – Concentração de *E. coli* (ATCC 25922) e porcentagem de redução ao longo de seis horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 22/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Escherichia coli</i> (Nº UFC/100ml)	Redução (%)
10:00	T0	8,40E+04	0
11:30	T1 (1,5h)	0,00E.00	100
14:00	T2 (4h)	0,00E.00	100
16:00	T3 (6h)	0,00E.00	100

P. aeruginosa é um patógeno oportunista de grande relevância sanitária, presente na natureza e de distribuição cosmopolita, pode estar presente nas águas de origem mineral, usadas para consumo sem tratamento, nas águas de piscinas e águas poluídas em geral. Por ser produtora de abundante mucilagem na forma de exopolímero, pode ser mais resistente aos processos de desinfecção que os coliformes (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000; PELCZAR, CHAN & KRIEG, 1996b; APELLA & ARAÚJO, 2005).

No presente experimento de desinfecção com radiação UV de lâmpadas solares usando-se água inoculada com culturas puras de *P. aeruginosa* (ATCC 939), na concentração inicial de $5,20 \times 10^4$ UFC/100ml (Tabela 5.20), foi observado que esta bactéria apresentou maior resistência que *S. aureus* (ATCC 25923), evidenciando menos susceptibilidade que os cocos Gram-positivos frente à ação do agente desinfetante. Foram necessárias quatro horas de exposição à fonte de radiação para

atingir 100% de inativação enquanto que, como já foi dito, o *S. aureus* (ATCC 25923) atingiu essa máxima eficiência em apenas 1 hora de exposição. A grande sensibilidade da *P. aeruginosa* à UV-A foi relatada por Fernández *et al.* (1996). A exposição à radiação UV-A (365nm) foi eficaz na eliminação desse microrganismo, mas não afetou a viabilidade das células de *E. coli* (CORDEIRO, LEITE & DEZOTTI, 2004).

Tabela 5.20 – Concentração de *P. aeruginosa* (ATCC 939) e porcentagem de redução ao longo de quatro horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 28/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (N° UFC/100ml)	Redução (%)
09:00	T0	5,20E+04	0
10:00	T1 (1h)	3,00E+04	42,31
11:30	T2 (2,5h)	8,00E+03	84,62
13:00	T3 (4h)	0,00E+00	100

As Figuras 5.22 e 5.23 representam o comportamento das populações de *E. coli* (ATCC 25922), e *P. aeruginosa* (ATCC 939) durante o processo de desinfecção.

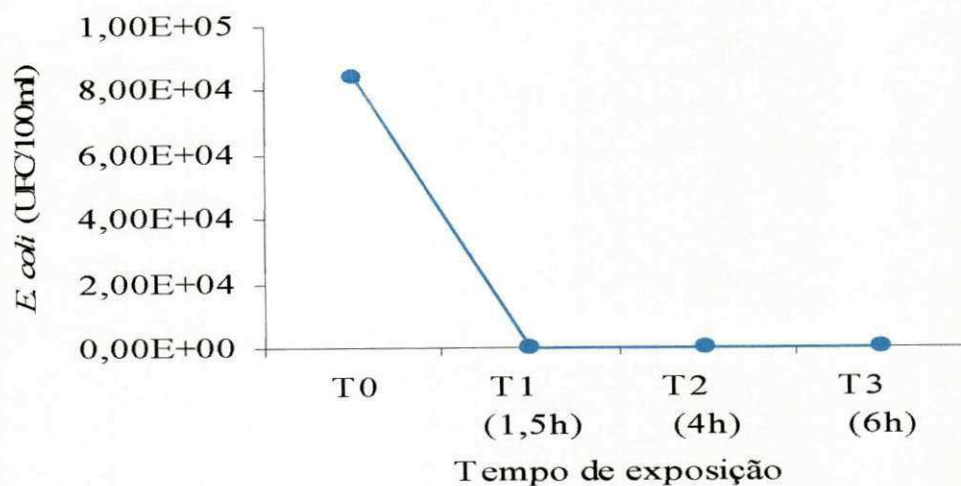


Figura 5.22 – Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) ao longo de 6 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 22/08/06)

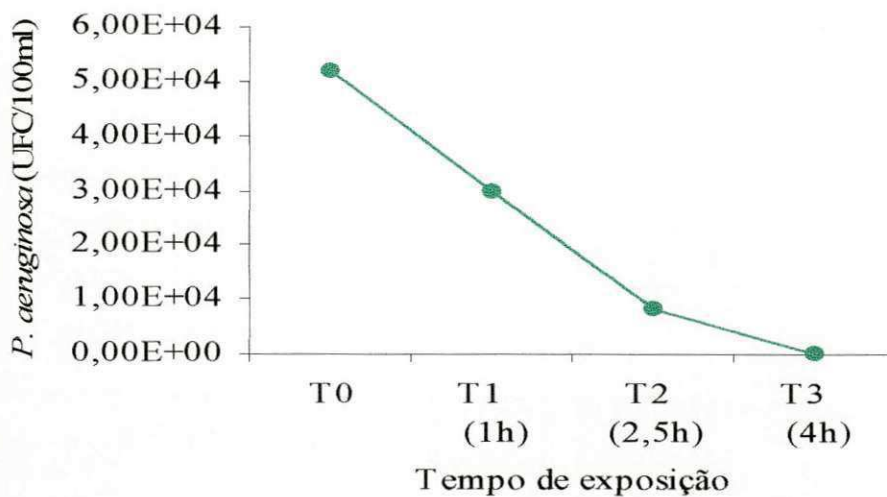


Figura 5.23 – Comportamento de *P. aeruginosa* (ATCC 939) ao longo de 4 horas de exposição à radiação de lâmpadas solares 365nm de 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 28/08/06)

5.5 – Estudos de recrescimento bacteriano

A reativação bacteriana após aplicada a desinfecção com UV tem um papel importante na alteração da qualidade da água, podendo transformar água de boa qualidade sanitária, logo após aplicado o processo, para águas não aptas ou não potáveis e, portanto, impedir seu uso. Os estudos do recrescimento das bactérias sob teste, após expostas à luz solar e radiação UV artificial foram realizados com o total das amostras de águas irradiadas nos testes realizados durante o desenvolvimento deste trabalho e que obtiveram 100% de inativação dos microrganismos.

O potencial de recrescimento bacteriano foi avaliado nas amostras de águas inoculadas com:

- *E. coli* (ATCC 25922) e *S. typhimurium* (ATCC 3985), submetidas à radiação solar em Campina Grande/PB – Experimento 2.
- *S. aureus* (ATCC 25923) submetida à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W – Experimento 4.
- *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) submetidas à radiação UV de lâmpadas solares de 20W – Experimento 5.

As garrafas, após irradiadas, foram armazenadas no laboratório durante 24 e 48 horas, sem exposição à luz. De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 5.21, 5.22, 5.23, 5.24, 5.25 e 5.26 não ocorreu recrescimento bacteriano em nenhuma das amostras irradiadas que continham *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923) e *S. typhimurium* (ATCC 3985). Já a amostra com *P. aeruginosa* apresentou recrescimento bacteriano.

Os mecanismos de recuperação dos microrganismos irradiados com UV incluem os processos enzimáticos da fotorreativação e da recuperação no escuro. A fotorreativação, que resulta na remoção dos dímeros do DNA, ocorre na presença de radiação na faixa de comprimento de onda de 310-480nm, e a recuperação no escuro ocorre, como seu nome sugere, na ausência de luz (CORDEIRO, LEITE, & DEZOTTI, 2004).

Tabela 5.21 – Experimento 2: Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) 24 e 48 horas após exposição à radiação solar – Teste 1 e Teste 2 (CG/PB – 09, 10, 13, 14/11/06)

Hora	Tempo de exposição	TESTE 1			TESTE 2		
		<i>Escherichia coli</i> (Nº UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (recrescimento 24h) (Nº UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (recrescimento 48h) (Nº UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (Nº UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (recrescimento 24h) (Nº UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (recrescimento 48h) (Nº UFC/100ml)
09:00	T0	6,60E+04	ND	ND	1,88E+05	ND	ND
10:00	T1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
11:00	T2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
13:00	T3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
15:00	T4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

ND – Não Determinado

Tabela 5.22 - Experimento 2: Comportamento de *S. typhimurium* (ATCC 3985) 24 e 48 horas após exposição à radiação solar – Teste 3 e Teste 4 (CG/PB – 21, 22, 25 e 26/11/06)

Hora	Tempo de exposição	TESTE 3			TESTE 4		
		<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	<i>S. typhimurium</i> (recrescimento 24h) (N° UFC/100ml)	<i>S. typhimurium</i> (recrescimento 48h) (N° UFC/100ml)	<i>S. typhimurium</i> (N° UFC/100ml)	<i>S. typhimurium</i> (recrescimento 24h) (N° UFC/100ml)	<i>S. typhimurium</i> (recrescimento 48h) (N° UFC/100ml)
09:00	T0	1,20E+05	ND	ND	1,82E+05	ND	ND
10:00	T1	1,50E+05	ND	ND	4,10E+05	ND	ND
11:00	T2	9,00E+04	ND	ND	2,80E+04	ND	ND
13:00	T3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	8,00E+03	ND	ND
15:00	T4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

ND – Não Determinado

Tabela 5.23 – Experimento 4: Comportamento de *S. aureus* (ATCC 26923) 24 e 48 horas após exposição à radiação UV de lâmpada germicida 254nm de 125W (PHILIPS) (Campinas/SP – 10 e 11/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>S. aureus</i> (N° UFC/100ml)	<i>S. aureus</i> (recrescimento 24h) (N° UFC/100ml)	<i>S. aureus</i> (recrescimento 48h) (N° UFC/100ml)
09:00	T0	1,44E+05	ND	ND
10:00	T1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
11:30	T2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
13:00	T3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

ND – Não Determinado

Tabela 5.24 – Experimento 5: Comportamento de *S. aureus* (ATCC 26923) 24 e 48 horas após exposição à radiação de lâmpada solares 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 11 e 12/11/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>S. aureus</i> (N° UFC/100ml)	<i>S. aureus</i> (recrescimento 24h) (N° UFC/100ml)	<i>S. aureus</i> (recrescimento 48h) (N° UFC/100ml)
09:00	T0	3,20E+04	ND	ND
10:00	T1	0,00E.00	0,00E.00	0,00E.00
11:30	T2	0,00E.00	0,00E.00	0,00E.00
13:00	T3	0,00E.00	0,00E.00	0,00E.00

Tabela 5.25 – Experimento 5: Comportamento de *E. coli* (ATCC 25922) 24 e 48 horas após exposição à radiação de lâmpada solares 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 23 e 24/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>Escherichia coli</i> (N° UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (recrescimento 24h) (N° UFC/100ml)	<i>Escherichia coli</i> (recrescimento 48h) (N° UFC/100ml)
10:00	T0	8,40E+04	ND	ND
11:30	T1	0,00E.00	0,00E.00	0,00E.00
14:00	T2	0,00E.00	0,00E.00	0,00E.00
16:00	T3	0,00E.00	0,00E.00	0,00E.00

Tabela 5.26 – Experimento 5: Comportamento de *P. aeruginosa* (ATCC 939) 24 e 48 horas após exposição à radiação de lâmpada solares 20W (PHILIPS Clio) (Campinas/SP – 29 e 30/08/06)

Hora	Tempo de exposição	<i>P.aeruginosa</i> (N° UFC/100ml)	<i>P.aeruginosa</i> (recrescimento 24h) (N° UFC/100ml)	<i>P.aeruginosa</i> (recrescimento 48h) (N° UFC/100ml)
09:00	T0	5,20E+04	ND	ND
10:00	T1	3,00E+04	ND	ND
11:30	T2	8,00E+03	ND	ND
13:00	T3	0,00E+00	Ex.	Ex.

O recrescimento excessivo verificado na amostra inoculada com *P. aeruginosa* (ATCC 939), seria uma resposta à capacidade de reparo do DNA dos microrganismos, favorecida pela inexistência do efeito residual do desinfetante usado, assim como pela grande capacidade de resistência de *P. aeruginosa* (ATCC 939), que poderia estar estressada frente às condições agressivas do ambiente dentro da garrafa PET, ocasionando a recuperação após terem cessado esses efeitos. A produção de piocianina por essa bactéria foi observada nas colônias quantificadas 24 e 48 horas após a desinfecção, a qual pode ser uma resposta metabólica de defesa à agressão da luz. Diversos pigmentos produzidos por bactérias fornecem proteção contra a luz solar (TORTORA, FUNKE & CASE, 2000).

A ausência do efeito sinérgico entre a radiação UV e temperaturas bactericidas (calor) e do efeito residual da radiação UV e os mecanismos de reparo do dano provocado ao DNA dos microrganismos são fatores que reduzem a eficiência do processo de desinfecção solar. Contudo, o manuseio inadequado da metodologia da tecnologia SODIS pode proporcionar a contaminação da água no interior das garrafas, tornando-a inadequada para o consumo humano.

Embora SODIS seja uma tecnologia simples de desinfecção de água para consumo humano, a sua difusão e promoção para diferentes níveis requer um processo dinâmico e criativo.

A implantação de SODIS nas comunidades rurais deve ser acompanhada de mudanças de costumes e crenças culturais e hábitos de higiene dos moradores. Atividades que visam uma aprendizagem participativa, especialmente sobre educação ambiental e sanitária devem ser desenvolvidas com auxílio dos agentes multiplicadores (líderes da comunidade, professores, assistentes de saúde) informando sobre noções de higiene, a relação entre uso e a qualidade da água consumida e suas limitações, as rotas de transmissão das doenças de veiculação hídrica levam ao interesse dos usuários acerca da importância e dos benefícios da desinfecção da água.

Portanto, a aceitabilidade e participação dos usuários de SODIS nas comunidades rurais e o monitoramento periódico, até que o método faça parte do cotidiano das comunidades, junto aos multiplicadores e aos moradores são fatores determinantes para o sucesso dessa nova tecnologia de desinfecção.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

A desinfecção solar, SODIS, mostrou-se viável na inativação de bactérias enteropatogênicas e indicadoras de contaminação fecal, particularmente quando a água apresentar baixa turbidez (<30UNT) e concentração inicial de 10^3 a 10^5 UFC/100ml; sob condições climáticas favoráveis (céu sem nuvens e intensa radiação solar) e se aplicam 4 a 5 horas de exposição ao sol.

A presença de nuvens reduz a incidência solar, conseqüentemente, o processo de desinfecção com luz solar requer maior tempo de exposição para a inativação total dos microrganismos.

A inativação de 100% das populações de microrganismos submetidas à desinfecção e a utilização de recursos materiais acessíveis, reafirmam a técnica de SODIS como uma opção simples e de custo mínimo para habitantes da zona rural que normalmente, bebem água de poços, açudes e barreiros sem tratamento prévio.

O calor mata os microrganismos desnaturando suas enzimas, por isso é utilizado como um dos métodos de controle do crescimento de microrganismos usando-se temperaturas acima do máximo tolerável por essas bactérias. Temperaturas bactericidas para as bactérias mesofílicas testadas neste trabalho não foram atingidas. Dessa forma, é necessária a combinação de temperatura e radiação UV para obter elevada eficiência do processo SODIS, como foi verificado nos resultados das garrafas embrulhadas em papel alumínio (garrafas controle), onde não houve penetração de luz e não ocorreu decréscimo bacteriano e sim crescimento excessivo.

O uso de radiação UV de lâmpadas solares teve elevada ação desinfetante no tratamento de água para consumo humano, removendo 100% da população de *S. aureus* (ATCC 25923), *Salmonella* spp. e *E. coli* (ATCC 25922).

Embora a literatura ateste a elevada eficiência na inativação microbiológica das lâmpadas germicidas, a carga bacteriana inicial influencia na eficiência desse processo de desinfecção. Neste estudo, utilizando concentrações iniciais de 10^4 a 10^8 UFC/100ml de *E. coli*, *S. typhimurium* (ATCC 3985) e *P. aeruginosa* (ATCC 939) não houve inativação desses microrganismos.

O emprego de lâmpada germicida de maior potência permitiu a remoção de 100% da população da bactéria gram-positiva *S. aureus* (ATCC 25923).

A presença de microrganismos com características fisiológicas que proporcionam resistência ao agente desinfetante e a ausência de efeito residual da radiação UV favorecem o recrescimento bacteriano, 24 e 48 horas após o término do processo de desinfecção com luz solar artificial.

CAPÍTULO 7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACRA, A.; RAFFOUL, Z.; KARAHAGOPIAN, Y. **Solar Disinfection of Drinking Water and Oral Rehydration Solutions**. Guidelines for Household Application in Developing Countries. Department of Environmental Health, Faculty of Health Sciences – American University of Beirut. UNICEF. Beirut, Lebanon, 1984.

ANDREOLLI, C.V.; HOPPEN, C.; PEGORINI, E.S.; DALARNI, O. **A crise d água e os mananciais de abastecimento**. In: Mananciais de Abastecimento: Planejamento e Gestão – Estudo de Caso do Altíssimo Iguçu. AMDREOLI, C.V., Curitiba: Sanepar Finep, 2003.

APELLA, M.C.; ARAUJO, P.Z. **Microbiologia de Agua. Conceptos Básicos**. In: Solar Safe Water. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Proyecto FP6-510603 DEL Sexto Programa Marco de la Unión Europea. Buenos Aires, Argentina, 2005.

APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th edition. Washington, DC. 1998.

ASCENCIO, M.T.L. **Tecnologías convencionales de tratamiento de agua y sus limitaciones**. In: Solar Safe Water. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Proyecto FP6-510603 DEL Sexto Programa Marco de la Unión Europea. Buenos Aires, Argentina, 2005.

BARROS, F.F. **Estudo da qualidade da água e balanço de sais em reservatórios superficiais na Bacia do Rio Curu**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE, 1994.

BARROS, R.T. de V.; VON SPERLING, M.; CASSEB, M.M.S. **Manual de Saneamento e Proteção Ambiental para os Municípios**. Escola de Engenharia da UFMG, 1997.

BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L.E. do; CARVALHO, G.R.M.; SILVA, C.V. da. **Coliformes como indicadores da qualidade da água: alcance e limitações**. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L. **Introdução à Engenharia Ambiental**. São Paulo: Prentice Hall, 2002.

BRANCO, S.M. **Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária**. 3ed. São Paulo: CETESB/ASCETESB, 1986.

BRANDÃO, C.C.S.; MONTEIRO, P.C.G.; FONSECA, B.M.; ARANTES, C. **Avaliação da Desinfecção Solar na Região Centro-Oeste do Brasil Usando Diferentes Organismos Indicadores de Contaminação.** XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

CARVALHO, R.S. **Água, um bem que precisa ser cuidado.** 2005. In: www.cnrh_srh.gov.br. Acessado em 24 de maio de 2006.

CEBALLOS, B.S.O; SOUSA, A.A.P.; KONIG, A. **Avaliação de três métodos simples de eliminação de bactérias fecais.** XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1993.

CEBALLOS, B.S.O. **Microbiologia Sanitaria y Ambiental.** In: Sistemas de lagunas de estabilización. MENDONÇA, S.R., Colombia: MC-Graw-Hill. Internacional Editions, 2000.

CEBALLOS, B.S.O.; SOARES, N.E.; MORAES, M.R.; CATÃO, R.M.R.; KONIG, A. **Microbiological aspects of an urban river used for unrestricted irrigation in the semi-arid region of north-east Brazil.** Water Science and Technology, v. 47, n. 3, p. 51-57. IWA – International Water Association, London, UK, 2003.

CEBALLOS, B.S.O; AZEVEDO, S.M.F.O; BENDATE, M.M.A.. **Fundamentos biológicos e ecológicos relacionados às cianobacterias.** In: Contribuição ao estudo da remoção de cianobacterias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano. Padua, V. L. de (coordenador). Prosab 4. Tema 1/Água. MMCT/FFINEP/CNPQ/CEF/CT-HIDRO/ABES. p23-82, 2006.

CIRELLI, A.F.; MORTIER, C. **Evaluación de la condición del agua para consumo humano en Latinoamérica.** In: Solar Safe Water. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Proyecto FP6-510603 DEL Sexto Programa Marco de la Unión Europea. Buenos Aires, Argentina, 2005.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução N°. 357/2005 - Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.** CONAMA. Brasília/DF.

CORDEIRO, A.C.; LEITE, S.G.F.; DEZOTTI, M. **Inativação por oxidação fotocatalítica de *Escherichia coli* e *Pseudomonas sp.*** Química Nova, v. 27, n.5, p. 689-694, jul., 2004.

COTTON, C.A.; OWEN, D.M.; CLINE, G.C.; BRODEUR, T.P. **UV disinfection costs for inactivating *Cryptosporidium*.** J. AWWA, p.82-94, june, 2001.

CRAIK, S.A.; FINCH, G.R.; BOLTON, J.R.; BELOSEVIC, M. **Inactivation of *Giardia Muris* cysts using medium-pressure ultraviolet radiation in filtered drinking water.** Wat. Res. v.34, n.18, p.4325-4332, 2000.

CRAIK, S.A.; WELDON, D.; FINCH, G.R.; BOLTON, J.R.; BELOSEVIC, M. **Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium and low- pressure ultraviolet radiation.** *Wat. Res.* v.35, n.6, p.1387-1398, 2001.

DANIEL, L.A.; BRANDÃO, C.C.S.; GUIMARÃES, J.R.; LIBÂNIO, M.; SÉRGIO, J.de L. **Processos de Desinfecção e Desinfetantes Alternativos na Produção de Água Potável.** ABES/ PROSAB. Rio de Janeiro, 2001.

DANIEL, L.A.; BRANDÃO, C.C.S.; GUIMARÃES, J.R.; LIBÂNIO, M.; SÉRGIO, J.de L. **Métodos alternativos para desinfecção de águas de abastecimento.** R. Eng. Sanit. e Amb., v.5, n.1, p.39-46, jan/mar 2000 e n.2 - abr/jun 2000.

DONAIRE, P.P.R. **Desinfecção de águas utilizando Radiação Ultravioleta e Fotocatálise Heterogênea.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil. Campinas, SP, 2001.

DONAIRE, P.P.R.; JARDIM, W.F. **Desinfección Solar de Águas de Represa en Campina Grande, Paraíba, Brasil.** In: Avances en tecnologías económicas solares para desinfección, descontaminación y remoción de arsénico en aguas de comunidades rurales de América Latina (métodos FH y RAOS) - Proyecto OEA AE 141. La Plata, Argentina, 2004.

FEACHEM, R.G.; BRADLEY, D.J.; GARELICK, H.; MARA, D.D. **Sanitation and Disease- Health Aspects of Excreta and Wasterwater Management.** Washington: Copyright, 1983.

FLEURY, G.C.E; CAMPOS, L.C. **Avaliação do uso combinado da radiação solar com a temperatura para desinfecção de água de abastecimento.** In: Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG –CONPEEX, 2.2005, Goiânia. Anais eletrônicos do XII Seminário de Iniciação Científica. Goiânia: UFG, 2005.

FNS – FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Saneamento.** 3ed. Brasília: Ministerio da Saúde – FNS, 1999.

GAGLIANO, L.M.; LITTER M.I. **Desinfección solar de aguas de Los Pereyra (Tucumán) e del Río de La Plata, Argentina.** In: Desinfección Solar de Aguas en Comunidades Rurales de América Latina. Proyecto OEA AE 141/2001. Agencia Interamericana para la Cooperación y el Desarrollo. La Plata, Argentina, 2001.

GALAL-GORCHEV, H. **Desinfección del agua potable y subproductos de inter's para la salud.** In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contra los Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. eCastro, R., 89-100. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996.

GELDREICH, E.E. **La amenaza mundial de los agentes patógenos transmitidos por el agua.** In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contra los Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. e Castro, R., 1-6. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996.

GELDREICH, E.E.; CRAUN, G.F. **Barreras múltiples para la protección y el tratamiento del abastecimiento de agua potable: um método probado de prevención de la propagación de las enfermedades transmitidas por el agua.** In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contra los Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. e Castro, R., 1-6. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996.

GOVERNO DO ESTADO DA PARAÍBA. Secretaria de Saúde. 2006. Disponível em: www.paraiba.pb.gov.br. Acesso em 17 de dezembro de 2006.

GUANNELLI, M.; BARCELÓ, M.R. **Tecnologías de tratamiento de aguas em Latinoamérica oferta disponible y diagnóstico de demanda.** In: Solar Safe Water. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Proyecto FP6-510603 DEL Sexto Programa Marco de la Unión Europea. Buenos Aires, Argentina, 2005.

GUERRA, N.M.M.; OTENIO, M.H.; SILVA, M.E.Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B.P.D. **Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável.** Acta Sci. Biol. Sci., v.28, n.1, p.13-18, jan/mar 2006.

GUIMARÃES, J.R.; IBÁÑEZ, J.; LITTER, M.I.; PIZARRO, Ramón. **Desinfección de Agua.** In: www.psa.es/webeng.solwater/CYTED01/22cap15.pdf. Acesso em: 21 de março de 2006.

HELLER, L. **Saneamento e Saúde.** OPAS/OMS. Brasilia. 1997.

IBÁÑEZ, P.F. **Desinfección con reactores solares: experiencia operativa.** In: Solar Safe Water. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Proyecto FP6-510603 DEL Sexto Programa Marco de la Unión Europea. Buenos Aires, Argentina, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - 2000 (PNSB). 2002. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 20 de março de 2006.

LITTER, M.I.; GONZÁLEZ, A.J. **Avances en tecnologías económicas solares para desinfección, descontaminación y remoción de arsénico en aguas de comunidades rurales de América Latina (métodos FH y RAOS) - Proyecto OEA AE 141.** La Plata, Argentina, 2004.

LITTER, M.I. **Tecnologías avanzadas de oxidación: tecnologías solares.** In: Solar Safe Water. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Proyecto FP6-510603 DEL Sexto Programa Marco de la Unión Europea. Buenos Aires, Argentina, 2005.

MÁRQUEZ-BRAVO, L.G. **Desinfección Solar.** Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Jiutepec, Mor. México, 1998.

MEIRA, C.M.B.S. **Avaliação da qualidade das águas do córrego que atravessa o Campus II da UFPB.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia Curso de Pós-graduação em Engenharia Civil. Campina Grande, PB, 1999.

METCALF, L.; EDDY, H.P. **Wasterwater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse.** 3 ed. New York, Mcgraw-hill, 1991.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria No. 518/GM. Em 25 de março de 2004. In: www.funasa.gov.br. Acesso em 25 de fevereiro de 2006.

MONTEIRO, P.C.G.; BRANDÃO, C.C.S.; SOUZA, M.A.A.A. **Viabilidade do Uso da Radiação Solar na Desinfecção da Água.** Universidade de Brasília – UnB, Departamento de Engenharia Civil, Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Brasília (DF). 2005. In: http://www.crid.or.cr/crid/CD_Agua/pdf/por/doc14605/doc14605.pdf. Acesso em 13 de dezembro de 2005.

MORAES, M.R.. **Comportamento de *Salmonella* spp., coliformes e *Streptococcus fecalis* num rio poluído (Campina Grade-PB/ Brasil).** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia Curso de Pós-graduação em Engenharia Civil. Campina Grande, PB, 2001.

NUNES FILHO, J.; SOUSA, A.R. de; SÁ, V.A. de L.; LIMA, B.P. **Relações entre as concentrações de íons e a salinidade de águas subterrâneas e superficiais visando à irrigação no sertão de Pernambuco.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.4, n.2, p.189-193, 2000.

OPAS. Organização Pan-americana de Saúde. 2001. Disponível em: www.opas.org.br. Acesso em 17 de dezembro de 2006.

PATERNIANI, J.E.S.; SILVA, M.J.M. da. **Desinfecção de Efluentes com Tratamento Terciário Utilizando Energia Solar (SODIS): Avaliação do Uso do Dispositivo para Concentração dos Raios Solares.** Disponível em: Engenharia Sanitária e Ambiental. Vol. 10 – No 1. ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro, 2005.

PELCZAR Jr., J. M., CHAN, E. C. S., KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2ª ed., vol. I. São Paulo: MAKRON Books, 1996a.

PELCZAR Jr., J. M., CHAN, E. C. S., KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2ª ed., vol. II. São Paulo: MAKRON Books, 1996b.

REBOUÇAS, A.C. **Água Doce no Mundo e no Brasil.** Águas Doces no Brasil. Instituto de Estudos Avançados da USP. Academia Brasileira de Ciências. São Paulo (SP), 2002.

REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. **Águas Doces no Brasil: Catálogo ecológico, uso e conservação.** São Paulo: Ed. Escrituras, 1999.

REIFF, F.M. **El estado de la desinfección del agua potable en América Latina y el Caribe** In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contralos Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. e Castro, R., 101-114. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996.

RICHTER, C.A. AZEVEDO NETTO, J.M. **Tratamento de água. Tecnologia atualizada.** São Paulo: Edgard Blucher, 1998.

SAUNDERS, R.J. **Abastecimento de água em pequenas comunidades: aspectos econômicos e políticos nos países em desenvolvimento.** Rio de Janeiro: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; BHN – Banco Nacional de Habitação. Brasília: CODEFASV – Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco, 1983.

SILVA, M.J.M. **Desinfecção de águas utilizando energia solar (SODIS): inativação e recrescimento bacteriano.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Campinas, SP, 2004.

SOARES, N.S.da C. **Dinâmica de Colifagos Somáticos, Bacteriófagos f-específicos e Bactérias Patogênicas no Rio Bodocongó (Campina Grande - PB/Brasil).** Dissertação de Mestrado. Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA) - UFBP/UEPB. Campina Grande, PB, 2002.

SODIS – SOLAR WATER DISINFECTION. 2003. Homepage. In: www.sodis.ch. Acesso em 13 de dezembro de 2005.

SOLARTE, Y.; SALAS, L.M.; SOMMER, B.; DIEROLF, C.; WEGELIN, M. **Uso de la radiación solar (UV-A y temperatura) en la inactivación del Vibrio cholerae en agua para consumo humano. Factores que condicionan la eficiencia del proceso.** Colombia Médica, Vol. 28 N° 3. Cali, Colombia, 1997.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L.. **Microbiologia.** 6ed. Porto Alegre:Artes médicas Sul, 2000.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUN, F. **Microbiologia.** 4 ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu Editora, 2004.

TRAVERSO, H.P. **Água y salud em América Latina y Caribe: Enfermedade infecciosas transmitidas por el água.** In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contra los Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. e Castro, R., 153-186. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996.

TUNDISI, José Galizia. **Água no século XXI – Enfrentando a Escassez.** São Carlos: RiMa editora, 2003.

UN. NAÇÕES UNIDAS. UN Millennium Development Goals (MDG). 2005. Disponível em: <http://www.un.org/millenniumgoals>. Acesso em 17 de dezembro de 2006.

UNICEF. The United Nations Children's Fund. 2004. Disponível em: www.unicef.org. Acesso em 17 de dezembro de 2006.

USEPA. **Alternative Disinfectants and Oxidants**. Guidance Manual, EPA 815-R-99-014. 1999.

VELANO, H.E.; NASCIMENTO, L.C. do; BARROS, L.M. PANZERI, H. **Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao Staphylococcus aureus**. PEsqui Odontol Brás, v.15, n.1, p. 18-22, jan/mar., 2001.

VIEIRA, V.P.P.B. **Água Doce no Semi-Árido**. Águas Doces no Brasil. Instituto de Estudos Avançados da USP. Academia Brasileira de Ciências. São Paulo (SP), 2002.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: DESA/UFGM. 2ed. 1996.

WITT, V.M.; REIFF, F.M. **Selección de los sistemas de desinfección desde la perspectiva de los subproductos de la desinfección**. In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contra los Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. e Castro, R., 153-186. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996a.

WITT, V.M.; REIFF, F.M. **Tecnologías de desinfección del agua para comunidades pequeñas y zonas rurales**. In: La Calidad del Agua Potable en America Latina: Ponderación de los Riesgos Microbiológicos contralos Riesgos de los Subproductos de la Desinfección Química, Editado por Craun, G.F. e Castro, R., 101-114. ILSI Press, Washigton, EUA, 1996b.

WHO. World Health Organization. 2004. Disponível em: www.who.int. Acesso em 17 de dezembro de 2006.