



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



**BÁRBARA SILVA VELOSO**

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA TURBIDEZ NA  
INATIVAÇÃO DE COLIFORMES E COLIFAGOS NO PROCESSO DE  
DESINFECÇÃO SOLAR

RIO DE JANEIRO  
2010

BÁRBARA SILVA VELOSO

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA TURBIDEZ NA  
INATIVAÇÃO DE COLIFORMES E COLIFAGOS NO PROCESSO DE  
DESINFECÇÃO SOLAR

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadores: Selma Gomes Ferreira Leite, D.sc.

Jorge Gomes dos Santos, D.sc.

RIO DE JANEIRO  
2010

V438i Veloso, Bárbara Silva.

Influência da temperatura e da turbidez na inativação de coliformes colifagos no processo de desinfecção solar/ Bárbara Silva Veloso. -- 2010. 88 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

Orientador: Selma Gomes Ferreira Leite e Jorge Gomes dos Santos.

1. Desinfecção Solar. 2. Termorresistência. 3. Turbidez. 4. Coliformes. 5. Colifagos – Dissertação. I. Leite, Selma Gomes Ferreira (Orient.). II. Santos, Jorge Gomes dos (Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química. III. Título.

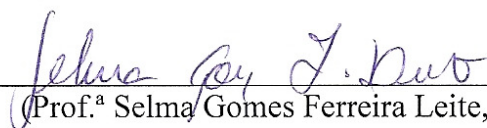
CDD: 621.4838

BÁRBARA SILVA VELOSO

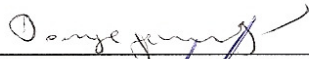
INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA TURBIDEZ NA  
INATIVAÇÃO DE COLIFORMES E COLIFAGOS NO PROCESSO DE  
DESINFECÇÃO SOLAR

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.


Aprovada em



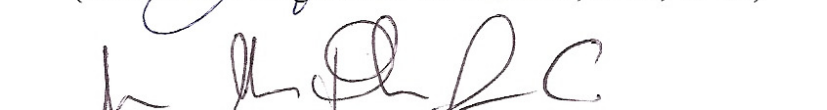
(Prof.ª Selma Gomes Ferreira Leite, D.sc., UFRJ)



(Dr. Jorge Gomes dos Santos, D.sc., CNEN/IEN)



(Prof. Alvaro Augusto da Costa Leitão, D.sc., UFRJ)



(Prof.ª Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, D.sc., UFRJ)



(Dr. Ronaldo Antonio Corrêa, D.sc., CNEN/IEN)

*Aos meus queridos pais, Jorge e Regina.  
E ao meu querido esposo, Vinicius.  
Com eterno amor.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, criador de todas as coisas, responsável pela minha existência. Por iluminar minha vida, por permitir a realização de mais esse sonho, e por colocar em meu caminho pessoas tão maravilhosas que em palavras não conseguirei expressar minha gratidão.

Aos meus queridos e amados pais, Jorge e Regina, meus maiores incentivadores, por uma vida de ensinamentos, carinho e atenção. Tudo que eu sou, eu devo a vocês. Obrigada por tudo que vocês fizeram por mim.

Ao meu querido e amado esposo, Vinicius, que me apoiou em todos os meus projetos e sonhos, que sempre compartilhou de todas as minhas alegrias e tristezas, sempre me motivou e incentivou a não desistir. Você é minha fonte de inspiração.

Aos meus familiares, pelo apoio e incentivo constantes, não preciso citá-los pessoalmente, pois tenho certeza que vocês sabem o quanto são importantes para mim.

Aos meus professores, todos. Pois os ensinamentos recebidos durante toda a minha vida me possibilitaram ser quem sou.

Aos meus queridos orientadores, Prof.<sup>a</sup> Selma Gomes Ferreira Leite e Jorge Gomes dos Santos, que me receberam e orientaram com muito carinho e dedicação e tornaram esse trabalho possível.

Aos grandes amigos que acompanham a minha vida, especialmente, Jamille, e os que conquistei durante todo o mestrado, especialmente, Marcinha, Carol, Fábio e Ronaldo. Obrigada pelo agradável convívio, apoio, ajuda e amizade.

Ao professor Álvaro Augusto da Costa Leitão e Janine Simas Cardoso, por ajudarem sempre prontamente e tornarem possíveis os experimentos com o colifago lambda.

Obrigada a todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram da construção e do desenvolvimento deste trabalho.

*Esforça-te, e tem bom ânimo; não pases, nem te espantes:  
Porque o Senhor teu Deus é contigo,  
Por onde quer que andares.  
Js. 1:9*

## RESUMO

VELOSO, Bárbara Silva. Influência da temperatura e da turbidez na inativação de coliformes e colifagos no processo de desinfecção solar. Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

A Desinfecção Solar da Água (SODIS) é uma opção simples e de baixo custo para o tratamento de água contaminada para comunidades rurais difusas, localizadas em regiões onde a disponibilidade de energia solar é abundante. Entretanto, estudos sobre a desinfecção solar, não apresentam detalhes de como a temperatura da água afeta o processo. Além disso, muitas pesquisas apontam a ação da componente ultravioleta da radiação solar como fator principal no mecanismo do SODIS o que impõe a necessidade de amostras de baixa turbidez. O presente estudo avaliou a influência da temperatura e da turbidez na inativação do indicador de coliformes, *Escherichia coli* K12A15 e do indicador de vírus entéricos, colifago lambda, no processo de desinfecção solar. Também foi testada a termorresistência das bactérias *Escherichia coli* ATCC 11229, *Serratia marcescens* e *Salmonella typhimurium* TA102. Os testes em laboratório mostraram que somente a bactéria *Serratia marcescens* foi inativada a 45°C, e todas alcançaram a inativação a partir de 47°C. A turbidez influenciou no grau de inativação das bactérias, aumentando o tempo necessário para a obtenção da desinfecção. No caso do colifago lambda, foram necessárias temperaturas a partir de 55°C, e a turbidez influenciou na inativação do mesmo. Nos testes de laboratório, a radiação artificial UV-A, apresentou efeito sinérgico com a temperatura, e esta última mostrou-se como efeito principal na inativação dos micro-organismos testados. Na simulação do SODIS numa situação de aplicação real e nas condições de insolação do dia, *E. coli* K12A15 foi inativada (exceto na garrafa completamente pintada de preto), e o colifago foi reduzido por cerca de 3 log. A inativação ocorreu mais rapidamente nas garrafas pintadas de preto pela metade, mesmo para a garrafa que continha 4 litros de água. Na garrafa completamente pintada de preto, o SODIS foi menos eficiente, fato que evidencia a importância das componentes visível e ultravioleta da radiação solar na prática deste método.

Palavras-chaves: Desinfecção Solar, termorresistência, turbidez, coliformes, colifago lambda.



## ABSTRACT

VELOSO, Bárbara Silva. Influência da temperatura e da turbidez na inativação de coliformes e colifagos no processo de desinfecção solar. Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

Solar Water Disinfection (SODIS) is a simple and cost-effective treatment for contaminated water among rural communities located in regions with abundant solar energy. However, studies on solar water disinfection do not detail how water temperature affects the process. In addition, ultraviolet solar radiation has been pointed as the key of the mechanism of SODIS which implies the need of samples with low turbidity. This study evaluated the influence of temperature and turbidity on the inactivation of *Escherichia coli* K12A15 and lambda phage in the process of disinfection. Thermoresistance was also tested with *Escherichia coli* ATCC 11229, *Serratia marcescens* and *Salmonella typhimurium* TA102. Only *Serratia marcescens* was inactivated at 45 °C and all bacteria were inactivated at 47 °C. Turbidity influenced the bacterial degree of inactivation by increasing the time for disinfection. Same results were reached for lambda phage at temperature above 55 °C. Turbidity influenced its inactivation. Artificial UVA has shown low synergistic effect with temperature which was identified as the main cause of microbial inactivation. When SODIS was applied in order to simulate an actual condition of sunlight, *Escherichia coli* K12A15 was inactivated (except in the darkened bottles) and lambda phage was reduced around three logarithmical orders. Inactivation occurred more rapidly in the bottles partially darkened, including bottles which contained 4 liters of water. SODIS was less efficient for the completely darkened bottle. It highlights the importance of visible components and ultraviolet solar radiation in practice of this method.

Keywords: Solar Disinfection, thermoresistance, turbidity, coliforms, lambda phage.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Utilização do método SODIS	28
<b>Figura 2-</b> PETs claras e com um dos lados pintados de preto para absorver melhor a luz solar	29
<b>Figura 3-</b> Efeito da temperatura na taxa de crescimento e as conseqüências moleculares para a célula	32
<b>Figura 4-</b> Valores médios da radiação UV-A solar ( $mWcm^{-2}$ ) em cada período de tempo	35
<b>Figura 5-</b> Gráficos referentes aos valores médios da irradiação de UV-A no verão e no outono, no Rio de Janeiro	36
<b>Figura 6-</b> Garrafas expostas no concentrador solar	37
<b>Figura 7-</b> Médias das temperaturas da água alcançadas no processo SODIS no verão	38
<b>Figura 8-</b> Eficiência de inativação da SODIS em função da condição climática	40
<b>Figura 9-</b> Efeito da turbidez e profundidade da água sobre a desinfecção solar	43
<b>Figura 10-</b> Logotipo da ONG Católica CRS	44
<b>Figura 11-</b> Suporte com as lâmpadas de UV-A sobre os béqueres	51
<b>Figura 12-</b> Béqueres dentro do banho maria posicionados embaixo das lâmpadas de UV-A	51
<b>Figura 13-</b> Esquema dos ensaios com colifago lambda	55
<b>Figura 14-</b> Placas de lise formadas no tapete de bactérias	56
<b>Figura 15-</b> Garrafas expostas ao sol	57
<b>Figura 16-</b> Termorresistência da <i>Escherichia coli</i> K12A15	59
<b>Figura 17-</b> Termorresistência da <i>Escherichia coli</i> ATCC11229	60
<b>Figura 18-</b> Termorresistência da <i>Serratia marcescens</i>	61
<b>Figura 19-</b> Termorresistência da <i>Salmonella typhimurium</i> TA102	61
<b>Figura 20-</b> Inativação das bactérias: <i>E. coli</i> K12A15, <i>E. coli</i> ATCC1129, <i>S. marcescens</i> e <i>S. typhimurium</i> TA102 a 45°C e UV-A ( $9,7 W/m^2$ )	62

<b>Figura 21-</b> Inativação das bactérias: <i>E. coli</i> K12A15, <i>E. coli</i> ATCC1129 e <i>S. typhimurium</i> TA102 a 50°C, e em água sem turbidez e com turbidez de 2000 NTU	63
<b>Figura 22-</b> Inativação da <i>Escherichia coli</i> K12A15 a 52°C, em água sem turbidez e com turbidez de 500 NTU e 2000 NTU	64
<b>Figura 23-</b> Inativação da <i>Escherichia coli</i> K12A15 a 55°C, em água sem turbidez e com turbidez de 500 NTU e 2000 NTU	65
<b>Figura 24-</b> Influência da UV-A (40 W/m <sup>2</sup> ) e turbidez na inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15	66
<b>Figura 25-</b> Influência da UV-A (40 W/m <sup>2</sup> ) e turbidez na inativação da bactéria <i>S. typhimurium</i> TA102	67
<b>Figura 26-</b> Influência da temperatura (50°C), UV-A (20 W/m <sup>2</sup> ), sem e com turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15	68
<b>Figura 27-</b> Influência da temperatura (52°C), UV-A (20 W/m <sup>2</sup> ) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15	69
<b>Figura 28-</b> Influência da temperatura (52°C), UV-A (40 W/m <sup>2</sup> ) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15	70
<b>Figura 29-</b> Termorresistência do colifago lambda	71
<b>Figura 30-</b> Termorresistência do colifago lambda (53°C, 55°C, 57°C e 60°C) e influência da turbidez (500NTU)	72
<b>Figura 31-</b> Termorresistência do colifago lambda (53°C, 55°C, 57°C e 60°C) e influência da turbidez (2000 NTU)	73
<b>Figura 32-</b> Influência da temperatura (53°C, 55°C e 57°C) e UV-A (30 W/m <sup>2</sup> ) na inativação do colifago lambda	74
<b>Figura 33-</b> Temperaturas da água durante o experimento de simulação do SODIS de acordo com cada garrafa: semi-pintada de 5L, semi-pintada de 2L, transparente de 2L e pintada totalmente de preto	75
<b>Figura 34-</b> Valores de UV-A alcançados durante a simulação do SODIS	76
<b>Figura 35-</b> Inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15 durante a simulação do SODIS	77
<b>Figura 36-</b> Inativação do colifago lambda durante a simulação do SODIS	79

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Distribuição da irradiância solar que atinge o topo da atmosfera	33
<b>Tabela 2-</b> Níveis de turbidez da água	43
<b>Tabela 3-</b> Reagentes utilizados	45
<b>Tabela 4-</b> Equipamentos e acessórios utilizados	45
<b>Tabela 5-</b> Composição do meio LB.	48
<b>Tabela 6-</b> Composição do meio Top Agar	53

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	16
1.1 DESINFECÇÃO SOLAR, UM MÉTODO ALTERNATIVO PARA TRATAMENTO DE ÁGUA	16
1.2 JUSTIFICATIVA	18
<b>2 OBJETIVOS</b>	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	20
3.1 ALGUMAS BACTÉRIAS INDICADORAS: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Serratia marcescens</i>	20
3.2 COLIFAGO LAMBDA, INDICADOR DE VÍRUS ENTÉRICOS	21
3.3 DESINFECÇÃO DA ÁGUA	23
3.4 DESINFECÇÃO SOLAR	25
3.4.1 <b>Influência da temperatura na desinfecção solar</b>	31
3.4.2 <b>Fundamentos da desinfecção com radiação ultravioleta</b>	33
3.4.3 <b>Influência do concentrador solar na eficiência do SODIS</b>	36
3.4.4 <b>Influência das condições climáticas na eficiência do SODIS</b>	39
3.4.5 <b>Recrescimento dos micro-organismos</b>	41
3.4.6 <b>Influência da turbidez</b>	42
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	45
4.1 REAGENTES	45
4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS	45
4.3 CEPAS	47
4.4 EXPERIMENTOS COM BACTÉRIAS	47
4.4.1 <b>Meio de cultura LB e salina</b>	47
4.4.2 <b>Manutenção das cepas bacterianas</b>	49
4.4.3 <b>Obtenção das culturas bacterianas para os experimentos</b>	49

4.4.4	<b>Preparação da água sintética sem e com turbidez</b>	49
4.4.5	<b>Condução dos experimentos</b>	50
4.4.6	<b>Quantificação das bactérias</b>	52
4.5	<b>EXPERIMENTOS COM COLIFAGO LAMBDA</b>	52
4.5.1	<b>Meio de cultura, Top Agar e MgSO<sub>4</sub></b>	52
4.5.2	<b>Condução dos experimentos</b>	53
4.5.3	<b>Quantificação do colifago lambda</b>	56
4.6	<b>SIMULAÇÃO DO SODIS</b>	57
4.6.1	<b>Preparo das garrafas</b>	57
4.6.2	<b>Condução dos experimentos para simulação da aplicação do SODIS</b>	58
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	59
5.1	<b>INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, UV-A E TURBIDEZ NA INATIVAÇÃO DE BACTÉRIAS</b>	59
5.1.1	<b>Termorresistência das bactérias</b>	59
5.1.2	<b>Termorresistência das bactérias a 45°C e influência da UV-A (9,7 W/m<sup>2</sup>)</b>	62
5.1.3	<b>Termorresistência das bactérias (50°C, 52°C e 55°C) e influência da turbidez (500 NTU e 2000 NTU)</b>	63
5.1.4	<b>Influência da UV-A (40 W/m<sup>2</sup>) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação das bactérias <i>Escherichia coli</i> K12A15 e <i>Salmonella typhimurium</i> TA102</b>	65
5.1.5	<b>Influência da temperatura (50°C e 52°C), UV-A (20 W/m<sup>2</sup> e 40 W/m<sup>2</sup>) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15</b>	68
5.2	<b>INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, UV-A E TURBIDEZ NA INATIVAÇÃO DO COLIFAGO LAMBDA</b>	70
5.2.1	<b>Termoresistência do colifago lambda</b>	70
5.2.2	<b>Termoresistência do colifago lambda (53°C, 55°C, 57°C e 60°C) e influência da turbidez (500 NTU e 2000 NTU)</b>	71
5.2.3	<b>Influência da temperatura (53°C, 55°C e 57°C) e UV-A (30 W/m<sup>2</sup>) na inativação do colifago lambda</b>	73
5.3	<b>SIMULAÇÃO DO SODIS</b>	74

<b>5.3.1 Inativação da bactéria <i>Escherichia coli</i> K12A15 durante a simulação do SODIS</b>	76
<b>5.3.2 Inativação do colifago lambda durante a simulação do SODIS</b>	78
<b>6 CONCLUSÕES</b>	80
<b>REFERÊNCIAS</b>	82

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 DESINFECÇÃO SOLAR, UM MÉTODO ALTERNATIVO PARA TRATAMENTO DE ÁGUA

Atualmente são cada vez mais constantes as discussões entre organizações, instituições acadêmicas e científicas e autoridades governamentais sobre a escassez eminente dos recursos hídricos em nosso planeta. O Brasil, apesar de sua condição aparentemente confortável comparada a outros países, principalmente do oriente médio, não pode ficar alheio a essa questão uma vez que os recursos hídricos no Brasil não estão distribuídos de forma homogênea, e já são muitas as regiões brasileiras que sentem os problemas de falta de água e convivem com freqüentes problemas por essa razão (MOREIRA & PATERNIANI, 2005b).

Na grande maioria das regiões onde a água é escassa, esta possui ainda qualidade imprópria para muitos tipos de usos, devido ao lançamento de efluentes de esgotos sanitários e industriais “in natura” nos mananciais, o que faz necessário a adequação da água para o uso a que se destina, através de técnicas apropriadas de tratamento (MOREIRA & PATERNIANI, 2005b).

Sabe-se, contudo, que a maioria dos problemas de saúde que afeta a população mundial está intrinsecamente relacionada com questões sanitárias (BOTTO et al, 2002). O abastecimento de água potável, saneamento básico, higiene e a manipulação correta da água de consumo são fundamentais para a saúde global. O consumo de água tratada adequadamente poderia impedir anualmente 1,4 milhões de mortes de crianças por diarreia (WHO, 2009).

As doenças de veiculação hídrica constituem um grupo no qual o agente patogênico é ingerido junto com a água, ou transmitido durante as atividades de higiene pessoal e no lazer por meio do contato com água contaminada. A transmissão de doenças de veiculação hídrica relaciona-se, em primeiro lugar, com as características físicas, químicas e biológicas das águas naturais e, secundariamente, com o estado de saúde, idade e condições de higiene da população exposta. Crianças menores que cinco



anos são mais vulneráveis aos efeitos da carência de água potável e da falta de saneamento básico (BATISTA, 2008).

Considerando que as fontes contaminantes dos recursos hídricos podem ser de diferentes origens e composição, estas questões de sustentabilidade da água são de preocupação de saúde pública e de todos os níveis de desenvolvimento econômico mundial, e exigem métodos mais baratos e inovadores para tratamento da água (ADRIAENS et al, 2003).

A desinfecção da água pode ser realizada por diferentes tratamentos físico-químicos, incluindo aplicação direta de energia térmica, química e técnicas de filtração. A energia solar também pode ser utilizada eficazmente neste domínio porque a inativação de micro-organismos é alcançada através de aquecimento da água a uma determinada temperatura e por exposição à radiação solar ultravioleta (SAITOH & ELGHETANY, 2002).

Uma tecnologia desenvolvida pelo Instituto Federal Suíço de Ciência e Tecnologia Aquática (EAWAG) e apoiado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), com o objetivo de ser aplicada em países em desenvolvimento, é *Solar Water Disinfection* ou Desinfecção Solar da Água (SODIS). O processo SODIS é simples e utilizado para melhorar a qualidade microbiológica da água potável. Ele utiliza a radiação solar para inativar micro-organismos patogênicos de veiculação hídrica. A água contaminada é colocada em garrafas plásticas transparentes do tipo PET (tereftalato de polietileno) de 2 litros, e expostas ao sol. A luz solar desinfeta a água através da sinergia de dois mecanismos: a radiação UV e a radiação infravermelha, esta última eleva a temperatura da água. É recomendada uma exposição de 6 horas para que haja desinfecção completa (ADRIAENS et al, 2003).

Uma vez que o sol é uma fonte natural, universalmente disponível e gratuita, tanto de calor como de radiação UV, é de se imaginar que essa fonte pode ser a base de um sistema de desinfecção efetivo e de baixo custo para uso em regiões afastadas e menos favorecidas (BERNARDES et al, 1999).

Hoje, o método SODIS é usado por mais de 3 milhões de pessoas em mais de 20 países na África, Ásia e América Latina. Por outro lado, ainda há quase 1 bilhão de pessoas que não têm acesso à água potável. Uma importante avaliação da influência sobre a saúde nestas áreas demonstrou que o SODIS, combinado com o melhoramento do comportamento higiênico, pode reduzir a incidência de diarreia de 20 a 70%. Uma variedade de experiências tem sido feita com diferentes abordagens durante a implementação do Projeto SODIS (SODIS, 2006).

## 1.2 JUSTIFICATIVA

A abordagem para obtenção de água segura para comunidades rurais difusas passa invariavelmente pelo sistema de tratamento a nível doméstico, que apresenta o método SODIS (Desinfecção Solar da Água) como uma das possíveis alternativas. A literatura especializada sobre o método SODIS não apresenta estudos detalhados de como a temperatura da água afeta o processo SODIS. Além disso, a ação da componente ultravioleta da radiação solar é apontada pelas pesquisas como fator principal no processo SODIS, o que impõe a necessidade de amostras de baixa turbidez (< 30 NTU). Porém, a água utilizada para consumo nas comunidades rurais difusas, provém freqüentemente de fontes superficiais como rios e lagos, e estas apresentam normalmente turbidez muito acima do valor recomendado para aplicação do método em questão. Este estudo buscou entender principalmente a contribuição da componente térmica da radiação solar, apesar da presença de altos níveis de turbidez, na inativação de micro-organismos indicadores de coliformes e vírus entéricos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal desta pesquisa foi entender como a temperatura da água afeta a desinfecção solar da água contaminada com diferentes bactérias e com o indicador de vírus entéricos (colifago lambda), e o grau de interferência da turbidez na inativação destes micro-organismos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência da temperatura e da radiação UV na inativação de *Escherichia coli* K12A15, *Escherichia coli* ATCC229, *Serratia marcescens*, *Salmonella typhimurium* TA102, e colifago lambda;
- Avaliar a influência da turbidez no processo de desinfecção solar;
- Avaliar a eficiência do processo SODIS, simulando uma situação real.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ALGUMAS BACTÉRIAS INDICADORAS: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*

Enquanto alguns poucos micro-organismos não patogênicos podem ser tolerados em um suprimento de água, a presença de *organismos indicadores* específicos significa que uma determinada fonte de água pode estar contaminada por patógenos que geralmente estão associados ao trato intestinal; sua presença indica contaminação fecal da fonte da água. O indicador mais amplamente utilizado corresponde a um grupo de organismos denominados *coliformes*. Estes são utilizados como indicadores de contaminação da água, uma vez que normalmente estão presentes em grandes quantidades no trato intestinal de seres humanos e de outros animais (MADIGAN et al, 2004).

O grupo coliformes divide-se em dois subgrupos: coliformes totais e termotolerantes. Os coliformes totais são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de se desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a  $35,0 \pm 0,5$  °C em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo. Já os coliformes termotolerantes fermentam lactose a  $44,5 \pm 0,2$  °C em 24 horas; tendo como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal (BRASIL, 2009).

A *Escherichia coli* corresponde a um habitante comum do intestino de humanos e outros animais de sangue quente e representa 90% de todos os coliformes presentes. Os pequenos bacilos Gram-negativos são classificados como bactérias entéricas. Várias linhagens de *Escherichia coli* correspondem a potenciais patógenos transmitidos por alimentos e podem estar presentes também nas redes de água (JUHNA et al, 2007).

A *Escherichia coli* que foi a bactéria escolhida para a maioria dos experimentos deste trabalho, é uma bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e anitol, com

produção de ácido e gás a  $44,5 \pm 0,2$  °C em 24 horas, sendo a temperatura ótima de 37° C, produz indol a partir do triptofano, é oxidase negativa, não hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas  $\beta$ -galactosidase e  $\beta$ -glucoronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2009).

Os gêneros *Salmonella* e *Escherichia* são intimamente relacionados; os dois gêneros apresentam cerca de 50% de homologia, a partir de análises de hibridização de DNA:DNA. No entanto, contrariamente à maioria das linhagens de *Escherichia*, os membros do gênero *Salmonella* são geralmente patogênicos tanto para humanos quanto para outros animais de sangue quente. Em humanos, as doenças mais comuns causadas por salmonelas são a febre tifóide e as gastroenterites (MADIGAN et al, 2004).

Em escala mundial, provavelmente uma das bactérias patogênicas mais importantes transmitidas pela água corresponde a *Salmonella typhi* (organismo causador da febre tifóide), embora possa também ser transmitida por alimentos contaminados. *Salmonella spp.* são bacilos gram-negativos, aeróbios facultativos, relacionados a *Escherichia coli* e outras bactérias entéricas. É normalmente encontrada nos tratos intestinais de humanos e de animais de sangue quente. Virtualmente todas as espécies de *Salmonella* são patogênicas ao homem (MADIGAN et al, 2004).

A *Serratia marcescens* também usada neste trabalho, apresenta a produção de pigmentos vermelhos contendo pirrol e é fermentadora de butanediol, características do gênero. Espécies de *Serratia* podem ser isoladas da água e do solo, como também do intestino de vários insetos e vertebrados e, ocasionalmente do intestino do homem (MADIGAN et al, 2004).

### 3.2 COLIFAGO LAMBDA, INDICADOR DE VÍRUS ENTÉRICOS

Os vírus entéricos humanos são importantes causas de enfermidades veiculadas através da água. Esses patógenos, que são eliminados em grandes quantidades pelas fezes de indivíduos infectados, podem permanecer viáveis e infecciosos durante vários meses no ambiente e, assim, contaminar águas destinadas ao consumo humano, além de

resistirem aos atuais processos de tratamento da água e do esgoto aplicados no controle bacteriano. Dessa forma, a qualidade de águas tratadas nem sempre é garantida em termos de segurança virológica, pois os atuais indicadores do grupo coliforme determinam somente a segurança bacteriológica da água (TAVARES et al, 2005).

Os vírus podem ser transmitidos pela água e causar doenças em seres humanos, de modo bastante comum, enterovírus são liberados na água a partir de matéria fecal. Os rotavírus, astrovírus e vírus da hepatite A, são responsáveis por milhares de casos de doenças a cada ano (MADIGAN et al, 2004).

A contaminação das águas superficiais com vírus entéricos através da eliminação das águas residuárias humanas é uma preocupação para saúde pública (MIAGOSTOVICH et al, 2008; BAUMANN et al, 2009), especialmente se essas águas de superfície são utilizadas como águas de recreação, e também se as fontes são utilizadas para a produção de água potável (RUTJES et al, 2005). Os vírus também podem ser transportados e assim, acabam contaminando as águas subterrâneas (YATES et al, 1985).

Vírus entéricos podem ser transmitidos por uma variedade de rotas, incluindo contatos de pessoa a pessoa, fezes e vômito de indivíduos infectados. São regularmente introduzidos no ambiente através da descarga de resíduos tratados e não tratados, e assim, esses patógenos virais podem contaminar o solo, a água doce e até mesmo o ambiente marinho (BOSCH et al, 2008).

As dificuldades técnicas, para análise da maioria dos vírus permanecem restritas a laboratórios equipados com sofisticadas instalações e pessoal bem treinado. Por outro lado, é inviável para monitorar a presença de todos os patógenos virais, o que levou à origem do conceito de micro-organismo indicador (BOSCH, 1998).

Indicadores bacterianos não dão um indício confiável da qualidade virológica da água. Grupos selecionados de bacteriófagos (também chamados fagos, infectam apenas bactérias) aparecem como uma melhor opção para a sua utilização como indicadores de vírus (BOSCH, 1998). Os bacteriófagos, devido a sua morfologia, estrutura e composição, apresentam comportamento semelhante aos vírus entéricos na água

(DUTKA et al., 1988; STETLER, 1984 apud AMARAL et al, 1994).

Os colifagos são bacteriófagos que infectam as bactérias do grupo coliformes. O colifago lambda utilizado neste trabalho, é um micro-organismo indicador de vírus entéricos, é um dos fagos mais estudados e infecta a *Escherichia coli*. Morfologicamente, as partículas do fago lambda são similares às de muitos outros bacteriófagos. Seu genoma consiste em uma molécula de DNA de fita dupla, linear, que apresenta uma cauda de 12 nucleotídeos de comprimento na extremidade 5' de cada uma das fitas (MADIGAN et al, 2004).

### 3.3 DESINFECÇÃO DA ÁGUA

Cerca de 4 bilhões de casos de diarreia a cada ano causam pelo menos 1,8 milhões de mortes, dos quais 90% são crianças menores de cinco anos de idade, principalmente nos países em desenvolvimento. Isto é equivalente a morte de uma criança a cada 15 segundos, ou 20 aviões jumbos batendo todos os dias. Estas mortes representam aproximadamente 4% de todas as mortes, e 18% das mortes de crianças menores de cinco anos em países em desenvolvimento. 88% destas mortes são atribuídas ao fornecimento de água contaminada, saneamento inadequado e falta de higiene. Estes fatores são intervenções que reduzem as doenças diarreicas em média, entre um quarto e a metade (UNICEF, 2008).

Segundo a OMS, globalmente, 1bilhão de pessoas não tem acesso à água tratada e cerca de 2,6 bilhões não têm acesso aos serviços de saneamento básico. A maioria dessas pessoas vive na África e na Ásia. Na África, por exemplo, 2 em cada 5 pessoas carecem de um melhor abastecimento de água (WHO, 2009).

No Brasil, apesar do avanço tecnológico e de pesquisas que contribuem enormemente para o progresso social, os dados que indicam as condições de saneamento são ainda assustadores. A situação de maior precariedade se encontra nos bolsões de pobreza, nas favelas, nas periferias das cidades, na zona rural, principalmente em áreas difusas. A falta de saneamento básico no país é a causa direta de 80% das

doenças e 65% das internações (BOTTO et al, 2002).

MARTÍN-DOMÍNGUEZ et al (2005), observaram durante o período de estudo, que poços mais próximos de rios, geralmente apresentam alta contaminação de coliformes totais, especialmente na estação chuvosa. E são nesses locais que a maioria das pessoas que não tem acesso a água tratada, coletam água para consumo próprio. Poços profundos continuam a ser o mais seguro tipo de fonte, quando comparado aos poços rasos e poços artesanais.

Os esforços para melhorar a água, o saneamento e a higiene interagem uns com os outros para melhorar a saúde geral. O acesso ao saneamento, evita a contaminação da água potável a partir de resíduos humanos e reduz as infecções. Medidas simples como lavagem freqüente das mãos e armazenamento seguro de água potável são de alto impacto (WHO, 2009).

O objetivo dos processos de desinfecção é a inativação ou destruição de micro-organismos indesejáveis, capazes de produzir doenças, presentes na água de uso. A sobrevivência destes micro-organismos pode variar de minutos a meses em função da temperatura a qual a água está submetida. O processo não implica necessariamente na destruição completa de todas as formas vivas presentes, mas naquelas que podem transmitir doenças (MEYER, 1994 apud BATISTA, 2008).

Existem vários métodos para a desinfecção da água a nível doméstico, alguns tradicionais e com ampla experiência acumulada em seu uso e outros com aplicação relativamente nova. O método mais antigo é o da ebulição. Ferver a água consome grandes quantidades de combustível, o que provoca agressão contra a vegetação em regiões em que a lenha é utilizada e ainda é um incremento na contaminação atmosférica por queima da lenha ou do querosene, além de requerer esforço pessoal em sua aplicação (DÍAZ et al, 2001). A ebulição também pode aumentar o risco de doenças respiratórias devido à exposição à fumaça (SCHMID et al, 2008).

Dentre os métodos químicos, o tratamento com cloro é o mais usado. É muito efetivo para eliminar bactérias patogênicas e mantém uma concentração residual na água que garante o nível de desinfecção alcançado durante um período de tempo. Mas é



ineficaz contra vírus e cistos de protozoários. Por outro lado, requer uma dosagem específica e um técnico qualificado, pois uma dose excessiva afeta o sabor e o cheiro da água e ainda oferece risco à saúde, e doses baixas podem ser ineficazes (DÍAZ et al, 2001). O armazenamento do cloro nas residências oferece risco adicional, e muitas pessoas não utilizam este método por não acharem o sabor agradável e por acreditarem que faz mal à saúde (SODIS, 2006).

Também há o tratamento da água com ozônio, este é um método eficaz, mas requer equipamentos específicos e possui alto custo relativo. Seu poder de oxidação é cerca de 1,5 vezes o do cloro. E ainda há o uso da radiação ultravioleta, que não altera nem o odor e nem o sabor da água e é efetiva contra um grande número de micro-organismos sem gerar subprodutos em sua utilização nem à água e nem ao meio (DÍAZ et al., 2001; OKUNO & VILELA, 2005)..

A falta de um abastecimento e saneamento adequados contribui para um sério perigo à saúde e expõem muitos ao risco de doenças através da água contaminada. A difícil situação da saúde tem sido em muitas áreas, melhorada após a introdução da Desinfecção Solar da Água (SODIS) como método de tratamento a nível familiar (SODIS, 2006; BERNEY et al, 2006b).

### 3.4 DESINFECÇÃO SOLAR

Os estudos relativos à desinfecção solar, conhecida como SODIS (do inglês *Solar Water Disinfection*), tiveram seu início no final da década de 70. Entretanto, esses estudos só vieram a tomar corpo a partir de 1985. Os estudos iniciais foram financiados por organismos internacionais como a *United Nations Children's Fund* (UNICEF) e a *Integrated Rural Energy Sistem Association* (INRESA), da Universidade das Nações Unidas, e seus resultados fazem parte de relatórios publicados por essas organizações (BERNARDES et al, 1999).

O primeiro trabalho escrito sobre desinfecção de água por energia solar data de 1984 pelo autor Acra. Desde então, vários estudos em diferentes países já foram realizados a fim de comprovar a viabilidade deste método, dando especial importância

para os testes realizados pelo Instituto Federal Suíço de Ciência e Tecnologia Aquática (EAWAG) e pelo Instituto de Investigação e Desenvolvimento em Abastecimento de Água, Saneamento Ambiental e Conservação de Recurso Hídrico (CINARA) na Colômbia, e pelos trabalhos escritos pelo autor Wegelin. No Brasil, existem vários estudos que demonstram que a desinfecção solar é uma alternativa de baixo custo para fornecer água tratada às populações naquelas localidades que possuem altos índices de radiação solar, podendo ser empregada principalmente onde não existe tratamento de água e onde são comuns os casos de doenças como cólera e diarreia (BOTTO et al, 2002).

Durante a primeira fase das investigações sobre a desinfecção solar, os estudiosos no assunto combinaram os efeitos e descobriram uma forte sinergia entre a radiação e o calor. Os resultados mostraram que a uma temperatura da água de 50° C, somente é necessária a quarta parte da quantidade de radiação UV requerida a 30° C (500 W/m<sup>2</sup> durante umas 5 horas) para inativar a mesma quantidade de coliformes fecais (EAWAG & SANDEC, 2005).

Durante a segunda fase do projeto de investigação, vários tipos de recipientes foram testados em condições reais, usando diferentes qualidades de água e condições climáticas. As garrafas PET (tereftalato de polietileno) foram consideradas as mais eficientes pois permitem a transmitância de cerca de 80% da UV-A, e a reutilização das garrafas ainda ajuda o meio ambiente. Durante a terceira fase foi estudada a aceitação sociocultural, a aplicabilidade e a viabilidade financeira da SODIS através de vários projetos e cerca de 84% dos usuários afirmaram que continuariam utilizando o método, 13% consideraria usar no futuro e somente 3 % se recusaram a usar o método por não acreditarem que a qualidade da água utilizada afeta a saúde de quem a consome (EAWAG & SANDEC, 2005).

Recentemente foram levantadas dúvidas sobre um risco à saúde devido à liberação de substâncias químicas na água a partir das garrafas PET. Segundo SCHMID et al (2008), o SODIS é um método de tratamento seguro e a concentração de substâncias químicas liberadas na água é muito baixa, e esses valores estão abaixo dos valores-limite permitidos.

O uso da energia solar para desinfecção de águas 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 ao consumo humano, mas biologicamente não, uma vez que apenas a avaliação do aspecto dessas, não permite conclusão sobre a contaminação da amostra de água coletada (MOREIRA & PATERNIANI, 2005b).

Em 1991, estudos avaliaram o potencial da desinfecção solar, e um método de tratamento de água eficaz e de baixo custo foi desenvolvido. No passado foram utilizados processos distintos para o tratamento de água mediante energia solar, com a finalidade de melhorar a qualidade microbiológica da água. No primeiro processo, a radiação UV, foi usada pelo seu efeito bactericida, no segundo, a radiação infravermelha, para elevar a temperatura da água, técnica conhecida como pasteurização solar ou SOPAS (*Solar Water Pasteurization*) (EAWAG & SANDEC, 2005).

A pasteurização é proposta por alguns autores com a utilização de coletores solares, os quais são aquecidos quando expostos à luz solar. Diferentes métodos são usados para o desempenho do sistema, onde a água flui por dentro do coletor e é aquecida a uma determinada temperatura. Esses coletores são normalmente utilizados para pré-aquecimento de água não tratada. Segundo GOMES et al (2009) e DUFF & HODGSON (2005), a pasteurização solar de água por si só, é suficiente para inativar completamente as bactérias.

O centro de pesquisa suíço, EAWAG, mostrou que é possível a inativação de bactérias, vírus, cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium*, através da combinação de radiação ultravioleta e elevação da temperatura da água. A água bruta deve ter baixa turbidez (< 30 NTU), para que a radiação penetre suficientemente. Essa técnica, chamada SODIS envolve capital mínimo e é uma opção promissora de tratamento doméstico. Os testes de campo do SODIS (Figura 1), em um número de diferentes países têm demonstrado melhoria significativa da qualidade da água e diminuição no número de mortes causadas por diarreia (UNICEF, 2008).



Figura 1: Utilização do método SODIS. Fonte: SODIS, 2006.

EAWAG & SANDEC (2005) apresentam as seguintes recomendações para a aplicação do método:

- Verificar se as condições climáticas são adequadas;
- Encher as garrafas PET com água até a metade, agitar durante 20 segundos e completar com água;
- Verificar se a água está suficientemente clara para aplicação do método SODIS, pois se a água estiver muito turva, é necessário um pré tratamento;
- Verificar se as garrafas estão fechadas corretamente;
- Eleger um suporte adequado para expor as garrafas, onde haja sol por pelo menos 6 horas;

Apesar da recomendação de agitar a água por alguns segundos antes de fazer o método SODIS (EAWAG & SANDEC, 2005), BOTTO (2006) comprovou em seus estudos que as amostras agitadas não apresentaram eficiência significativa na remoção do indicador coliforme termotolerante (*Escherichia coli*) quando comparada às amostras

não agitadas. Em média, a eficiência das amostras agitadas foi de apenas 0,014% maior que as não agitadas e a taxa de decaimento bacteriano foi 1,10 vezes maior para as amostras agitadas.

As garrafas plásticas utilizadas para a desinfecção solar devem ser transparentes, limpas e do tipo PET (tereftalato de polietileno) com capacidade para até dois litros e se estiverem com um dos lados pintados de preto, podem absorver melhor o calor em oposição às cores claras que possuem propriedades refletoras (Figura 2). Em dias ensolarados, as garrafas devem ser expostas ao sol no sentido horizontal durante seis horas ininterruptas (BOTTO et al, 2002; EAWAG & SANDEC, 2003).



Figura 2: PETs claras e com um dos lados pintados de preto para absorver melhor a luz solar. Fonte: FAPERJ, 2007.

Segundo ZAPP et al (1987 apud BATISTA, 2008), a eliminação dos organismos patogênicos requer um mínimo de duas horas de exposição à radiação solar de 600 W/m<sup>2</sup>. É recomendado como fator de segurança, principalmente para as regiões tropicais úmidas, um período de cinco a seis horas de exposição. A presença de nuvens ou de potenciais interferências climáticas diminui a eficiência do processo de desinfecção.

O método SODIS de tratamento, já foi testado com sucesso em vários países, como Bolívia, Burkina Faso, China, Colômbia, Indonésia, Tailândia, Togo e Peru. Conseguiu-se a inativação total de coliformes e de outros micro-organismos, além da

redução da mortalidade infantil e de ocorrências de doenças diarréicas em crianças. A OMS já aprovou esse método e realiza a promoção do mesmo (BOTTO et al, 2002).

O sistema de desinfecção solar apresenta as seguintes limitações: (a) não é útil para o tratamento de grandes volumes de água; (b) requer água relativamente incolor, com turbidez menor que 30 NTU; (c) necessita de condições geográficas e climáticas que favoreçam a utilização da radiação solar (EAWAG & SANDEC, 2005).

MTAPURI-ZINYOWERA et al (2009), observaram em seus experimentos a eficiência da SODIS na inativação de *Giardia duodenalis* e *Entamoeba histolytica/díspar*. Em baixas temperaturas e quando havia nebulosidade, não houve completa inativação de *G. duodenalis* e *E. histolytica/díspar*. E uma comparação feita neste estudo indica claramente que a perda de viabilidade deste último organismo foi mais lenta do que o primeiro.

Apesar de o método ser interessante e de não requerer muitos materiais, o SODIS não alcançou uma grande popularidade devido a um excesso de variáveis em relação a sua eficiência e uma eventual segurança. A latitude e a altitude geográfica, a estação do ano; o número de horas e o horário de exposição, as nuvens, a temperatura; o tipo, o volume e o material das embalagens utilizadas para armazenar a água; a turbidez e a cor da água; são entre outros, os parâmetros que poderiam interferir em uma desinfecção perfeita (DESINFECCIÓN SOLAR, 2008).

A Organização Mundial de Saúde considera o método SODIS como uma opção válida, mas somente como um “método menor e experimental”. Ainda assim, em áreas onde não há outro meio disponível para desinfetar a água, o método pode melhorar substancialmente a qualidade bacteriológica da mesma. Nas comunidades que o método SODIS foi adotado, melhores resultados foram obtidos quando funcionários ou pessoal capacitado estiveram sempre presentes para monitoração, como no caso de voluntários de ONGs localizadas nas comunidades (DESINFECCIÓN SOLAR, 2008).

Foi comprovado por ANGELIS et al, (2008) a eficiência da solarização da água para a eliminação celular de *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* presentes em suspensão aquosa mantida em frascos de vidro e garrafas PET incolores e verdes. As

garrafas PET incolores foram mais eficientes e demonstraram que a exposição da água, para consumo humano à radiação solar, pode ser utilizada para diminuir o risco de enfermidades de veiculação hídrica.

CONROY et al, (1996) verificaram que a frequência de diarreia foi menor em crianças que usaram água tratada com desinfecção solar do que aquelas que beberam água sem o tratamento. A desinfecção solar consegue inativar patógenos bacterianos e também protozoários. Oocistos de *Cryptosporidium parvum* são particularmente mais resistente do que cistos de *Giardia lamblia*. BETANCOURT & ROSE (2004), MCGUIGAN et al (2006) observaram a inativação de oocistos de *Cryptosporidium parvum* e cistos de *Giardia muris*, com exposição da água ao sol por no mínimo 6 horas

### 3.4.1 Influência da temperatura na desinfecção solar

Além da radiação ultravioleta, a água também absorve grande quantidade de radiação com comprimento de onda na faixa do vermelho e infravermelho, transformando luz em calor (MADIGAN et al, 2004).

De acordo com a literatura, os micro-organismos patogênicos geralmente presentes nas águas são vulneráveis ao calor e à radiação ultravioleta (BRYANT et al, 1992 apud BERNARDES et al, 1999). As células vegetativas morrem devido à desnaturação das proteínas e à hidrólise de outros componentes. Na água, mesmo com algumas bactérias tendo a capacidade de esporular, o que as tornam particularmente resistentes ao calor, em geral pode-se afirmar que a maioria das bactérias morre entre os 40 e 100°C, enquanto que as algas, protozoários e fungos morrem entre os 40 e 60°C (DESINFECCIÓN SOLAR, 2008).

A temperatura é um dos fatores, se não o mais importante fator ambiental que afeta o crescimento e a sobrevivência dos micro-organismos. Entretanto, os valores absolutos das temperaturas mínima, ótima e máxima (temperaturas cardeais) variam de maneira ampla dentre os diferentes micro-organismos, usualmente refletindo a variação térmica e a temperatura média de seus habitats. À medida que a temperatura aumenta, as reações químicas e enzimáticas passam a ocorrer com maior velocidade o que leva ao

aumento do crescimento e das atividades metabólicas, mas até certos limites, pois acima desses, as funções celulares caem rapidamente para zero devido a danos irreversíveis em determinadas proteínas, conforme mostra a figura 3 (MADIGAN et al, 2004).

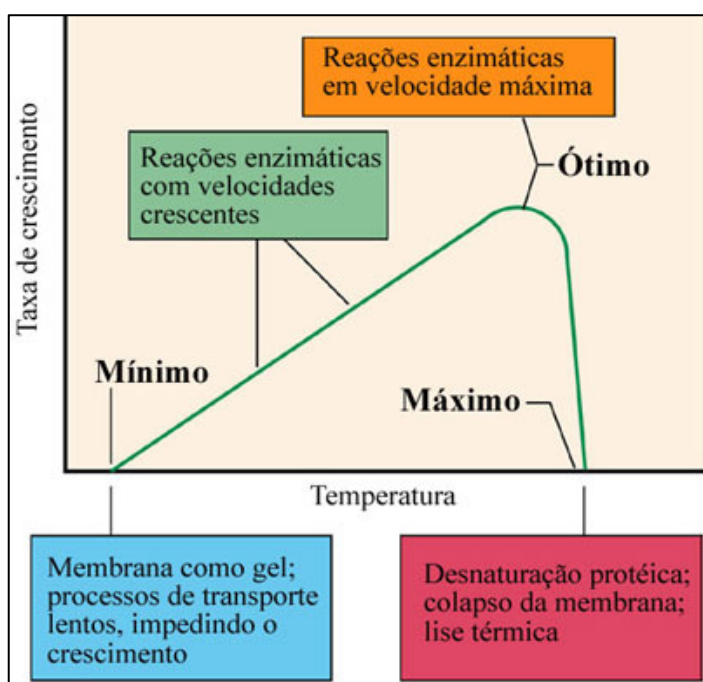


Figura 3: Efeito da temperatura na taxa de crescimento e as conseqüências moleculares para a célula. As três temperaturas cardiais variam nos diferentes organismos. Fonte: MADIGAN *et al.*, 2004.

A *Escherichia coli*, por exemplo, é uma bactéria mesófila típica, pois apresenta um ótimo de crescimento em temperaturas medianas. Quando cultivada em um meio complexo, a temperatura ótima corresponde a 39°C, a máxima, a 48°C, e a mínima, a 8°C. Mas esses valores podem sofrer ligeiras alterações nas diferentes linhagens e em relação aos meios utilizados para o cultivo (MADIGAN et al, 2004).

HEASELGRAVE et al (2006), determinaram a eficiência da desinfecção solar na inativação de poliovírus e cistos de *Acanthamoeba polyphaga*. A inativação ocorreu com uma temperatura de cerca de 50°C por 6 horas ou 55°C por 4 horas.



### 3.4.2 Fundamentos da desinfecção com radiação ultravioleta

O Sol é a nossa principal fonte emissora natural de radiação ultravioleta. A radiação ultravioleta corresponde a 9% do total da radiação solar, seguido de 40% localizado na região do visível e cerca de 50% infravermelha, o restante corresponde a raios gamas e raios-X. A radiação ultravioleta corresponde à fração da radiação que compõe o espectro eletromagnético que possui comprimento de onda menor que 400nm (Tabela 1), e divide-se em UV-A, UV-B e UV-C, esta última recebe o nome de radiação germicida e é totalmente absorvida pelo ozônio antes de atingir a superfície terrestre (OKUNO & VILELA, 2005).

Tabela 1: Distribuição da irradiância solar que atinge o topo da atmosfera. Fonte: OKUNO & VILELA (2005).

<b>Faixa de comprimento de onda (nm)</b>	<b>Irradiância (W/m<sup>2</sup>)</b>	<b>% do total</b>
UV-C (< 280)	6,4	0,5
UV-B (280 – 315)	21,1	1,5
UV-A (315 – 400)	85,7	6,3
Visível (400 – 700)	532,0	38,9
Infravermelho (> 700)	722,0	52,8

Fatores temporais, geográficos e meteorológicos afetam a irradiância espectral da radiação solar na superfície da Terra, tais como: hora do dia, estação do ano, latitude geográfica, altitude, presença de nuvens, reflexão na superfície (a neve e a areia refletem respectivamente cerca de 30% e 25% da radiação ultravioleta) e ozônio (OKUNO & VILELA, 2005).

Radiação é um termo que se refere à emissão e propagação de energia eletromagnética na forma de ondas. A radiação solar que alcança a superfície da Terra constitui apenas uma parte de todo o espectro eletromagnético (ACRA et al, 1984 apud ANGELIS et al, 2008). Segundo HIJNEN et al, (2006), a radiação ultravioleta é eficaz na inativação de todos os agentes patogênicos.

A radiação solar é composta de diferentes comprimentos de onda, cada qual com sua energia específica. A luz solar com comprimento de onda de 315-400 nm, compreendida na faixa do espectro da luz ultravioleta, é absorvida por compostos como os ácidos nucléicos. A radiação solar ao incidir sobre a matéria promove fotodegradação, induzindo ações mutagênicas e degenerações celulares (WEGELIN et al, 1994).

A radiação UV interfere na biossíntese e reprodução celular, como consequência dos danos fotoquímicos causados a seus ácidos nucléicos. O ácido desoxirribonucléico (DNA) é o responsável pelo controle das funções e pela reprodução das células. Cada gene do DNA controla a formação do ácido ribonucléico (RNA), responsável pela formação de enzimas específicas e de proteínas estruturais. A radiação UV é absorvida rompendo as ligações entre as bases e fazendo com que se formem novas ligações entre nucleotídeos adjacentes e, posteriormente, moléculas duplas ou dímeros das bases pirimídicas. A maioria dos dímeros formados é de timina – timina, também podendo ocorrer dímeros de citosina – citosina e citosina – timina. A formação de um número de dímeros suficiente impede que haja a duplicação do DNA, impossibilitando assim a reprodução do micro-organismo, além de comprometer a síntese protéica (STANIER, DOUDOROFF & ADELBERG, 1963 apud AGUIAR et al, 2002).

Além dos danos no DNA do micro-organismo, a radiação UV também é absorvida pela matéria-orgânica que induz reações fotoquímicas que criam espécies altamente reativas, tais como superóxidos, peróxidos de hidrogênio, radicais hidroxila, oxigênio singlete e ozônio que podem oxidar componentes celulares. Este processo é denominado desinfecção foto-oxidativa solar (*solar photo-oxidative disinfection*) (CONROY et al, 1998; SODIS, 2006).

GELOVER et al (2006) apresentaram uma alternativa que melhora o processo

SODIS através da fotocatalise solar com o catalisador dióxido de titânio (87.5 mg/L) imobilizado em cilindros de vidro Pyrex®. Este processo demonstrou ser efetivo para a remoção de bactérias coliformes e mostrou bom desempenho em sua aplicação na remoção de helmintos *Ascaris spp*, parasitas intestinais. Os tratamentos reduziram em 15% os ovos de helmintos, e reduziram a zero a viabilidade dos ovos com seis horas de tratamento. No tratamento sem o catalisador, os ovos apresentaram uma viabilidade de 10% do valor inicial na formação de larvas.

BATISTA (2008) avaliou a eficiência do processo SODIS através de análises microbiológicas, pré e pós-desinfecção, utilizando a *Escherichia coli* como micro-organismo indicador, através do método de membrana filtrante. O sistema empregado foi capaz de promover a completa desinfecção em 150 min usando apenas o efeito fototérmico, e em 120 min com a adição do concentrador solar e do catalisador  $\text{TiO}_2$  imobilizado. GOSWAMI et al (2004), afirmaram que a fotocatalise solar pode também promover a desintoxicação, e tem-se mostrado ser uma tecnologia inovadora e com enorme potencial para resolver problemas ambientais criados pelo desenvolvimento industrial.

Segundo PASCOAL et al (2007), os maiores valores médios de incidência de radiação UV são encontrados às 12:00 horas (Figura 4).

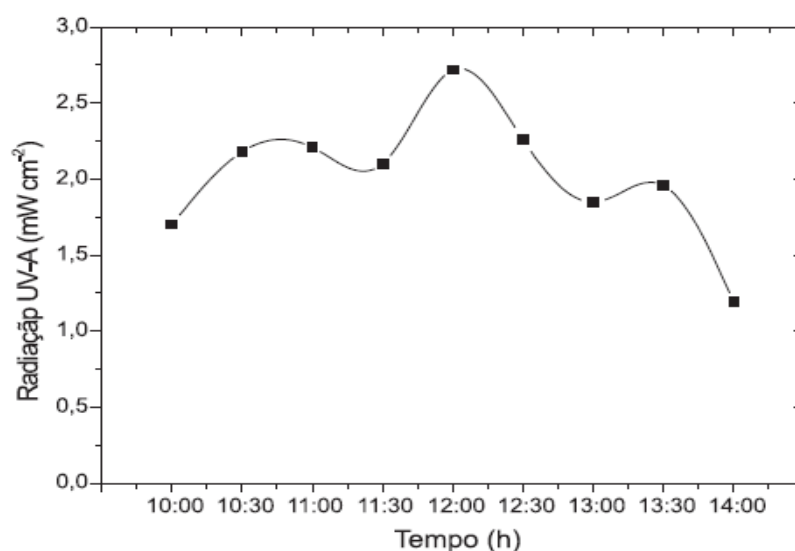


Figura 4: Valores médios da radiação UV-A solar ( $\text{mWcm}^{-2}$ ) em cada período de tempo. Fonte: PASCOAL et al., 2007.

O mesmo padrão foi encontrado por (SANTOS et al, 2009), nas estações outono e verão no Rio de Janeiro, quando em torno de 12:00 horas, houve um aumento na intensidade de irradiação de UV. Os maiores valores foram encontrados no verão ensolarado, e a presença de nuvens interfere na incidência de UV, conforme mostra a figura 5.

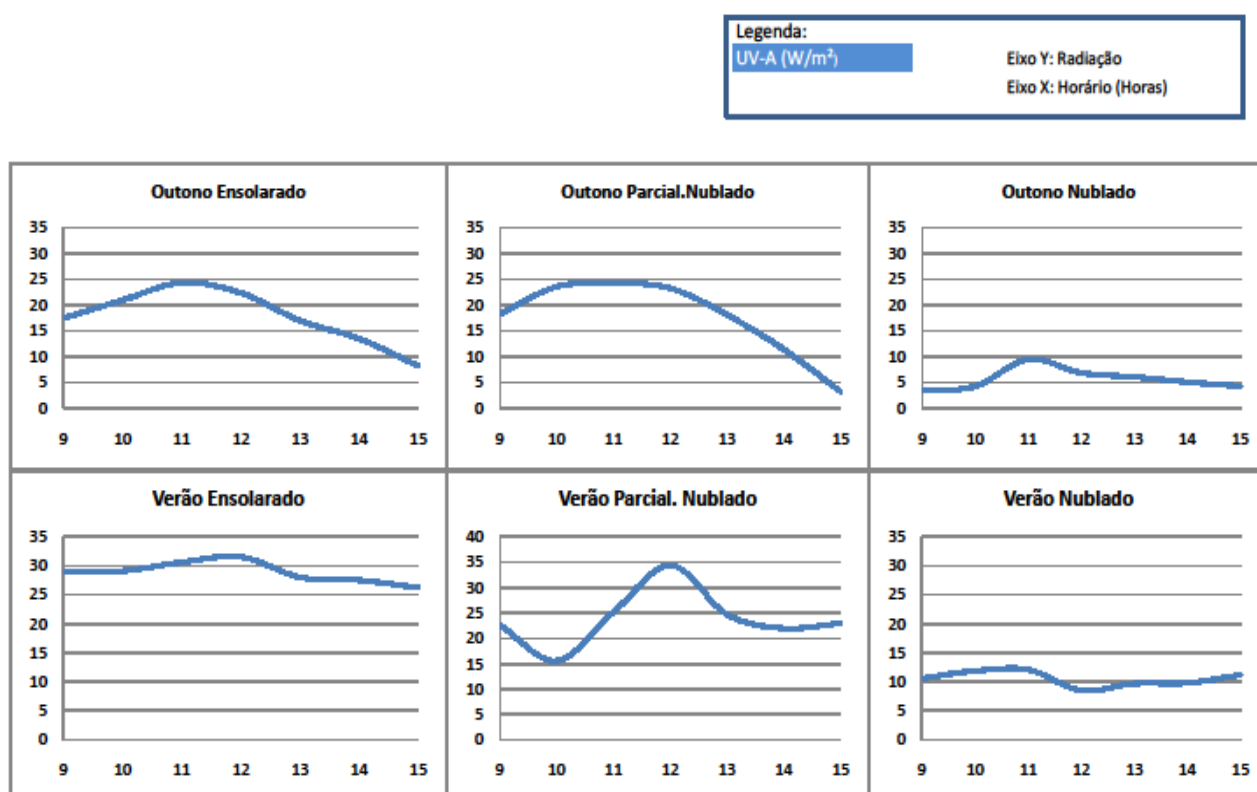


Figura 5: Gráficos referentes aos valores médios da irradiação de UV-A no verão e no outono, no Rio de Janeiro. Fonte: SANTOS et al, 2009.

### 3.4.3 Influência do concentrador solar na eficiência da SODIS

É possível ajudar no aumento da temperatura da água utilizando um concentrador solar, e por conseqüência, inativando os micro-organismos em menos tempo. O uso do concentrador solar de paredes planas aumenta a radiação útil dentro da garrafa em até 2,25 vezes. Dependendo da posição da garrafa e da hora do dia o

aumento pode ser de até três vezes (DOMÍNGUEZ et al, 2002). A figura 6 ilustra o modelo do concentrador solar empregado.

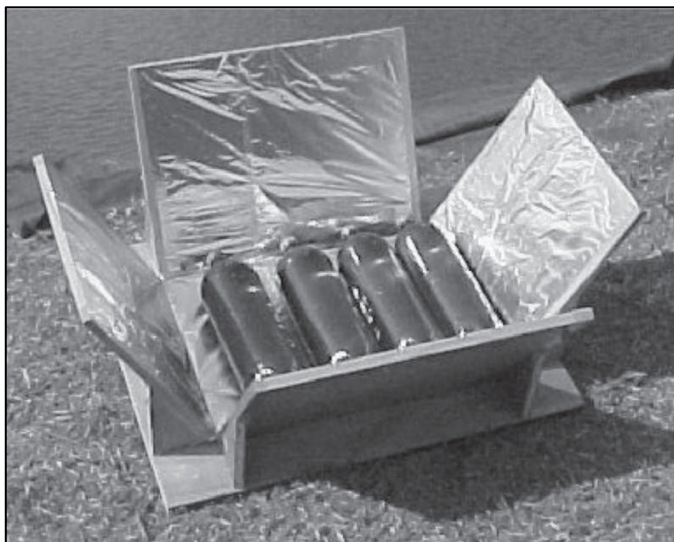


Figura 6: Garrafas expostas no concentrador solar. Fonte: MOREIRA & PATERNIANI, 2005a.

O concentrador solar proposto pelo Instituto Mexicano de Tecnologia da Água (IMTA), possui capacidade para três garrafas, sendo construído com uma base e quatro paredes revestidas com papel alumínio (MOREIRA & PATERNIANI, 2005a).

DOMÍNGUEZ et al, (2002), com o objetivo de aumentar a eficiência da SODIS, realizou um estudo sobre o valor de reflexão de vários materiais para melhorar o uso do concentrador solar de paredes planas para desinfecção da água de consumo humano. Testaram-se novos materiais de uso comum como plásticos metalizados, lâminas de alumínio e galvanizada, assim como papel alumínio e fita de alumínio. Esta última foi a que apresentou melhor resultado considerando reflexividade, durabilidade e eficiência para remoção de coliformes totais. O uso da fita ainda facilita a construção do concentrador por ser auto-adesiva.

Concentradores com superfícies reflexivas tiveram melhor desempenho segundo pesquisas, no aumento da temperatura da água do que concentradores pintados de preto

(SODIS, 2006). A posição das garrafas também tem influência na quantidade de radiação recebida. Segundo DOMÍNGUEZ et al, (2002) as garrafas dos extremos fazem sombra sobre a central, e estas ainda recebem radiação reflexionada das paredes laterais.

SANTOS et al (2009), verificaram as temperaturas médias alcançadas durante o verão na cidade do Rio de Janeiro, no processo de desinfecção solar. Nos dias nublados, a temperatura variou entre 30°C e 40°C, em dias parcialmente ensolarados a temperatura ficou entre 45°C e 55°C. Já em dias completamente ensolarados (Figura 7) a temperatura chegou a atingir 65°C, quando a garrafa utilizada foi a semi-pintada no concentrador solar. O mesmo foi observado por MOREIRA & PATERNIANI (2005a), em seus estudos durante o processo de desinfecção solar.

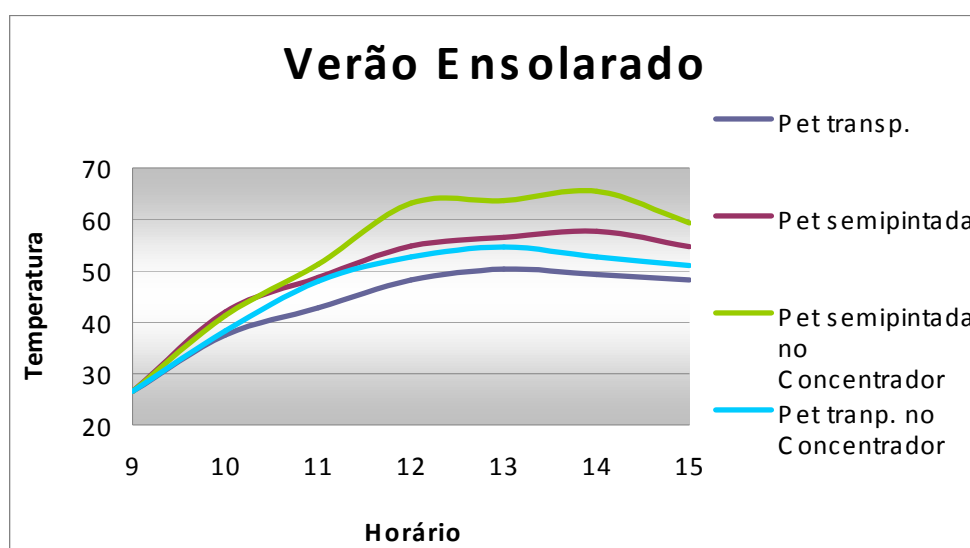


Figura 7: Médias das temperaturas da água alcançada no processo SODIS no verão. Fonte: SANTOS et al, 2009.

De acordo com as observações de MOREIRA & PATERNIANI (2005a), a eficiência de inativação de coliformes totais nas garrafas que não utilizaram o concentrador solar atingiu a média de 99,56% (valor residual médio 61,6 NMP/100mL) com tempo de exposição de 6 horas; enquanto a eficiência para garrafas com o concentrador solar foi em média 99,89% (valor residual médio 15,4 NMP/100mL) e

99,98% (valor residual médio 14 NMP/100mL) com 4 horas e 6 horas de exposição, respectivamente. Observou-se, também, que as garrafas cujas temperaturas alcançaram 50°C e tempo de exposição de 6 horas, sem o concentrador solar, tiveram 100% de eficiência. Já naquelas que utilizaram o concentrador solar a eficiência foi de 100% com 4 horas de exposição, quando alcançou-se a temperatura de 70° C.

SAITOH & EL-GHETANY (2002); MCLOUGHLIN et al, (2004); GILL et al, (2004), verificaram a eficiência de outros modelos de concentradores. Os resultados mostraram que o concentrador parabólico promoveu uma inativação de *E. coli* mais bem sucedida.

#### 3.4.4 Influência das condições climáticas na eficiência do SODIS

As condições climáticas durante o tempo de exposição ao sol influenciam o aquecimento da água e a inativação dos micro-organismos. A temperatura da água durante o processo de desinfecção solar atinge valores superiores nos dias sem nuvens (MOREIRA & PATERNIANI, 2005b).

OATES et al (2003), verificaram a eficiência da desinfecção solar no Haiti e observaram que o processo SODIS é eficiente durante todo o ano, exceto quando há presença de nuvens e temperaturas mais baixas.

KEHOE et al (2004), observaram em seus estudos que *Shigella dysenteriae* tipo I é muito sensível ao processo SODIS e é facilmente inativada mesmo durante condições nubladas, e concluíram que o processo SODIS é uma intervenção apropriada para uso em países em desenvolvimento durante epidemias de *Shigella dysenteriae* tipo I.

MOREIRA & PATERNIANI (2005b), observaram que a inativação média de bactérias do grupo coliformes totais foi 3,29% maior no processo realizado com céu aberto para o tempo de exposição de 4 horas do que em dias com nuvens. Para o tempo de exposição de 6 horas a diferença na eficiência diminuiu, chegando a 99,992% (valor

residual médio 1,1 NMP/100ml) nos dias com céu aberto e 99,6% (valor residual médio 56 NMP/100ml) nos dias com nuvens; diferença de apenas 0,392%.

A figura 8 representa o desenvolvimento da desinfecção ao longo do tempo de exposição em função das condições climáticas segundo MOREIRA & PATERNIANI (2005b).

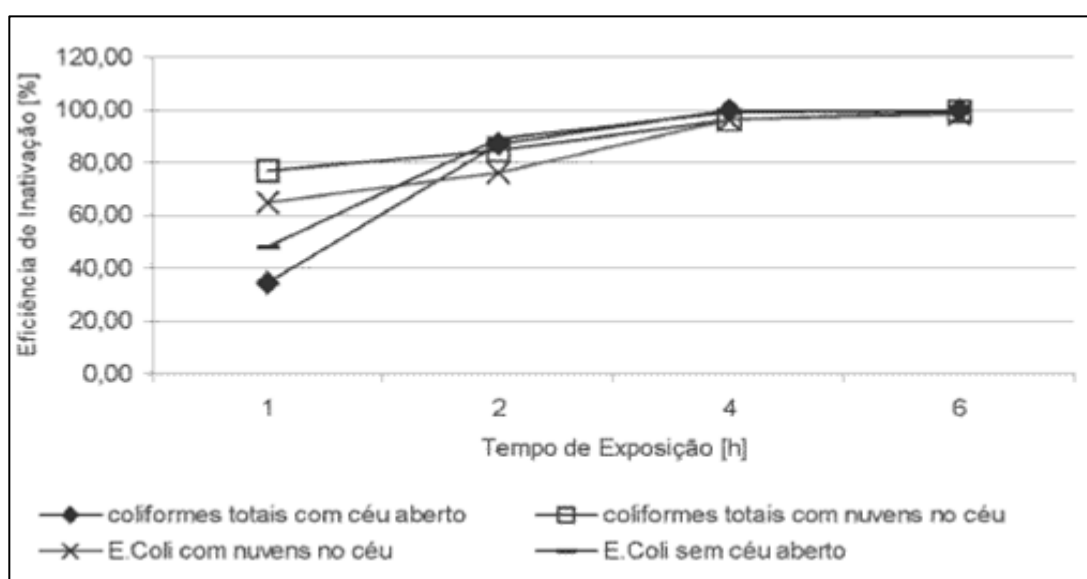


Figura 8: Eficiência de inativação da SODIS em função da condição climática. Fonte: MOREIRA & PATERNIANI (2005b).

ALBUQUERQUE et al (2006), observaram que a temperatura se mantém mais elevada em dias ensolarados, de modo que a sobrevivência de *E. coli* aumenta em dias nublados e diminui em função do tempo de exposição à radiação e verificou-se uma correlação inversa entre o número de células viáveis de *E. coli* e o tempo de exposição da cepa à radiação solar.



### 3.4.5 Recrescimento dos micro-organismos

O recrescimento dos micro-organismos tem um papel importante devido à manutenção da potabilidade da água e como a desinfecção solar não possui efeito residual a água deve ser consumida em um tempo breve (SODIS, 2006).

MOREIRA & PATERNIANI (2005b), observaram em seus estudos que o recrescimento bacteriano depende significativamente da temperatura que a água alcançou durante a desinfecção. Segundo eles, as amostras dos ensaios com tempo de exposição de 1 e 2 horas apresentaram, 24 horas após o fim da SODIS, valores de concentração de coliformes totais e *E. coli* tanto superiores como inferiores àqueles apresentados no momento final da SODIS, indicando que pode ocorrer um recrescimento significativo de micro-organismos após o processo SODIS, se o tempo de exposição e a temperatura não forem adequadas.

AMARAL et al (2006) avaliaram a eficiência da radiação solar na desinfecção da água de poços rasos, do Município de Jaboticabal, SP e comprovaram que as maiores reduções ocorreram para *Escherichia coli*. Os resultados obtidos evidenciaram que a radiação solar foi eficaz na desinfecção da água com reduções, após 12h de exposição, de 98,2%, 99,9% e 100% nos números de micro-organismos mesófilos, coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Foi verificada a ausência de recrescimento de todos os micro-organismos pesquisados após 12h de exposição ao sol.

Para MOREIRA & PATERNIANI (2005a), estudaram o recrescimento de *E. coli*, da ordem  $10^5$  e  $10^4$  NMP (100ml)<sup>-1</sup>. Para a avaliação de reativação bacteriana a água foi armazenada em moringas de mesa por 24 horas, simulando uma situação comum nas residências rurais brasileiras. Os resultados mostraram que o uso do concentrador solar permite reduzir o tempo de exposição ao sol de 6 para 4 horas, sem prejuízo da eficiência da SODIS. Sendo utilizado o concentrador solar com tempo de exposição de 6 horas tem-se, além do processo de desinfecção, o processo de pasteurização solar, permitindo assim a utilização deste para potabilização da água. O recrescimento foi inibido totalmente apenas nas amostras cuja temperatura da água esteve em torno de 70°C no final do período de exposição ao sol.

Segundo os estudos de BOSSHARD et al (2009), num ensaio de desinfecção solar (com exposição ao sol de um dia, cerca de 8 horas), o estado dos patógenos *Shigella flexneri* e *Salmonella typhimurium* continuou a deteriorar-se, mesmo na ausência de irradiação: aparentemente, as células não foram capazes de reparar os danos. Isto sugere fortemente que para *S. typhimurium* e *S. flexneri*, a desinfecção solar é um meio eficaz de combater este problema, pois é suficiente para danificar irreversivelmente as células e que o armazenamento das garrafas após a irradiação não permite a regeneração de células bacterianas inativadas.

MUÑOZ & VILLANUEVA (2002) estudaram o recrescimento de coliformes totais e *E. coli*, e foi observado que a *E. coli* requer um tempo maior para recuperar-se do que os coliformes totais.

#### 3.4.6 Influência da turbidez

A turbidez é uma medida da quantidade de partículas finas, suspensas na água e pode ser quantificada em unidade nefelométrica (NTU) (MADIGAN et al, 2004). A turbidez desempenha um papel preponderante na eficiência da desinfecção solar da água. As partículas suspensas na água causam o espalhamento da radiação promovendo o efeito escudo sobre os micro-organismos, pois impede que a radiação solar as alcance efetivamente. O aumento da turbidez diminui a eficiência da desinfecção. A água a ser tratada deve ser a menos turva quanto possível, não podendo exceder a 30 NTU (SODIS, 2006).

Segundo ELKARMI et al, (2008), para alcançar maior eficiência é necessário aumentar o tempo de exposição, em condições de alta turbidez e em condições meteorológicas severas para compensar os efeitos dessas fatores.

Um aumento na profundidade da água também reduz a quantidade de radiação apta a atravessar a coluna total de água. Segundo BRANDÃO et al (2000), a profundidade da lâmina d'água adotada no recipiente influi de forma significativa no tempo necessário para completa inativação dos organismos patogênicos. A figura 9

mostra a fração de radiação remanescente dentro de uma coluna de água para uma determinada profundidade de água, variando com a turbidez, segundo EAWAG & SANDEC (2003).

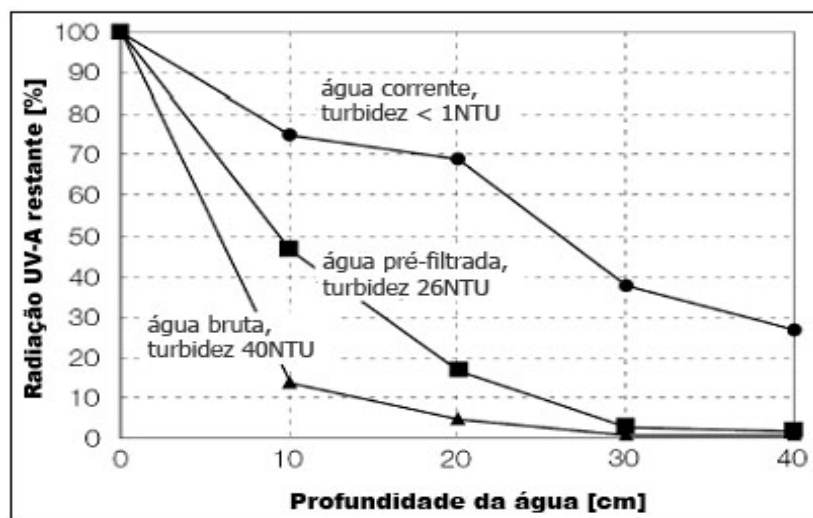


Figura 9: Efeito da turbidez e profundidade da água sobre a desinfecção solar. Fonte: EAWAG & SANDEC (2003).

A turbidez também varia de acordo com a fonte de origem. Nos países em desenvolvimento onde as fontes de água são escassas, as águas superficiais como poços, rios e lagos são usadas para múltiplas atividades, incluindo o consumo. O nível de turbidez para fontes de água comuns é mostrado na tabela 2:

Tabela 2: Níveis de turbidez da água. Fonte: EPA, 1991.

Fonte	Turbidez (NTU)
Água de poço	1-10
Córregos	5-100
Rios	10-2000
Lagos	10-1000

Se a turbidez é maior que 30 NTU, antes de expor a água ao sol é necessário pré-tratá-la. Os sólidos e partículas maiores podem ser eliminados armazenando a água por um dia antes de fazer o método SODIS, para que as partículas se assentem no fundo, depois se pode filtrar a matéria sólida usando um filtro de areia ou um pano. O pré-tratamento diminui o número de micro-organismos patogênicos com a decantação, e com uma filtração grosseira, reduz até mesmo, o número de cistos e ovos de vermes que são resistentes ao cloro e UV, mas podem ser filtrados com relativa facilidade (BURCH & THOMAS; 1998).

Na Guatemala, a ONG católica *Catholic Relief Services* (CRS), com apoio da Escola Regional de Engenharia Sanitária, desenvolveu uma prova simples da turbidez para uso da população. Se for possível a visualização do logotipo da ONG (Figura 10) através da garrafa com água a ser testada, a turbidez é menor que 30 NTU (EAWAG & SANDEC, 2005).



Figura 10: Logotipo da ONG Católica CRS. Fonte: EAWAG & SANDEC (2005).

Segundo RODRIGUES et al (2001), a turbidez também influencia na fotocatalise. De acordo com seus estudos, há uma maior eficiência trabalhando-se com águas com menores teores de cor e turbidez. A turbidez elevada interferiu mais do que a cor para o rendimento do processo.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES

Na tabela 3 foram descritos os reagentes utilizados nos ensaios de desinfecção.

Tabela 3: Reagentes utilizados.

Item	Reagente	Marca
01	Agar	DIFCO
02	Argila	COLORGIL
03	Bacto-triptona	DIFCO
04	Extrato de levedura	HIMEDIA
05	MgSO <sub>4</sub>	ISO FAR
06	NaCl	ISO FAR

### 4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

Na tabela 4 foram descritos os equipamentos e acessórios utilizados nos ensaios de desinfecção.

Tabela 4: Equipamentos e acessórios utilizados.

Item	Equipamentos e Acessórios	Marca	Modelo
01	Autoclave de Bancada	CRISTÓFOLI	VITALE
02	Autoclave Vertical	Phoenix	-

<b>Item</b>	<b>Equipamentos e Acessórios</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>
03	Balança Eletrônica	BIOPRECISA	JA3003N
04	Banho Maria	Hemoquímica	HM1003
05	Banho Maria DUBNOFF	Nova Ética	304
06	Cabina de Segurança Biológica	Grupo Veco	Bio Seg 12
07	Contador de Colônias	Phoenix	CP602
08	Destilador	QUIMIS	Q 341-25
09	Estufa de Cultura Bacteriológica	Olidef cz	Linea
10	Estufa para Esterilização	ICAMO	5
11	Lâmpada UV-A Black Light	SYLVANIA	F15W/ 350 BL
12	Micro-ondas	Electrolux	ME185
13	Radiômetro	International Light Technologies	1400-A
14	Refrigerador Biplex	Consul	Frost Free 300
15	Turbidímetro de Bancada	MS TECNOPON	TB 1000

Item	Equipamentos e Acessórios	Marca	Modelo
16	Vortex	Scientific Industries	Genie 2

### 4.3 CEPAS

Foram utilizadas nos experimentos as cepas bacterianas derivadas de *Escherichia coli* K12A15, *E. coli* ATCC 11229, *Salmonella typhimurium* TA102, *Serratia marcescens*, e o colifago lambda. A *E. coli* ATCC 11229 e a *Serratia marcescens*, foram fornecidas pelo laboratório de Microbiologia Industrial da Escola de Química (Universidade Federal do Rio de Janeiro). Já a *E. coli* K12A15, a *Salmonella typhimurium* TA102 e o colifago lambda utilizados, foram fornecidos pelo laboratório de Radiobiologia Molecular do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (Universidade Federal do Rio de Janeiro).

### 4.4 EXPERIMENTOS COM BACTÉRIAS

#### 4.4.1 Meio de cultura LB e salina

Tanto para os experimentos com bactérias como os experimentos com o colifago lambda, foi utilizado o meio de cultura Luria-Bertani (LB). A composição do meio LB está descrita a seguir (Tabela 5):

Tabela 5: Composição do meio LB.

**LB**

<b>Reagente</b>	<b>Quantidade g/L</b>
NaCl	10
Bacto-triptona	10
Extrato de levedura	5

Esta composição refere-se ao meio líquido, utilizado para a obtenção das culturas bacterianas empregadas nos experimentos. Para a obtenção do meio sólido utilizado nas placas de Petri, foi acrescentado Agar 1,5 %. Já para o meio sólido para os *slants* (tubos de ensaio contendo meio sólido), utilizados na manutenção das cepas bacterianas, foi acrescentado Agar 2%.

A solução salina utilizada para diluição das amostras coletadas foi o NaCl (9 g/L) solubilizado em água destilada.

Todos os meios e soluções foram autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Após a autoclavação, o meio LB sólido foi distribuído em placas de Petri estéreis, ou no caso de *slants*, o meio foi vertido em tubos de ensaio estéreis e esses mantidos na horizontal para que o meio se solidificasse com uma grande superfície formada para inoculação de cepas bacterianas. Todos os processos foram realizados dentro da capela de fluxo laminar.

Após a autoclavação da solução salina, esta foi distribuída em tubos de ensaio estéreis. Foram preparados tubos com 9 ml, para uma diluição 1:10 (pois acrescentava-se 1 mL da amostra colhida).



#### 4.4.2 Manutenção das cepas bacterianas

As cepas bacterianas foram mantidas no freezer, sob uma temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  em glicerol. Uma amostra de cada cepa era transferida com auxílio da alça de platina para *slants*, para uso freqüente. Após o crescimento das colônias por 24 horas, a temperatura ambiente, os *slants* eram mantidos na geladeira, sob refrigeração à temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.4.3 Obtenção das culturas bacterianas para os experimentos

Para a utilização das cepas, as culturas foram transferidas dos *slants* para *Erlenmeyers* de 50 mL contendo cerca de 30 mL do meio LB líquido com auxílio de alça de platina e incubadas em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Após a incubação, a concentração de bactérias no inóculo era cerca de  $10^9$  UFC/mL. E então esta solução foi diluída em salina para uma concentração final de  $10^5$  UFC/mL para a utilização nos experimentos.

A concentração final de  $10^5$  UFC/mL foi quantificada através de plaqueamento em meio LB e contagem de colônias quantificados de acordo com a metodologia descrita adiante, no item 4.4.6.

#### 4.4.4 Preparação da água sintética sem e com turbidez

A água utilizada nos experimentos era filtrada e fervida por cerca de 2 horas para evaporação do cloro presente.

Para a obtenção da água turva, foi acrescentada e misturada argila artesanal à água. A análise de difração e fluorescência de raios-X, revelaram que a argila era constituída basicamente de quartzo ( $\text{SiO}_2$ ).

A solução obtida foi medida num turbidímetro para verificação do valor da

turbidez. A argila era acrescentada até o valor desejado. Para os experimentos foram utilizadas os seguintes valores de turbidez: 500 NTU e 2000 NTU.

Todas as águas foram distribuídas em *Erlenmeyers* de 2 litros, identificadas com o valor da turbidez e autoclavadas a 120°C por 20 minutos.

#### 4.4.5 Condução dos experimentos

Para a realização de cada experimento, primeiramente foi escolhida a temperatura a ser testada, o valor da UV e o tempo de duração do ensaio, para que todo o material a ser utilizado fosse preparado (lavado, limpo, autoclavado a 120°C por 20 minutos e seco).

Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Na maioria dos experimentos foi utilizada a bactéria *Escherichia coli* K12A15, porém, também realizamos experimentos com *Escherichia coli* ATCC 11229, *Serratia marcescens* e *Salmonella typhimurium* TA102, com o objetivo de comparar a eficiência da desinfecção solar com diferentes bactérias. Todo o processo foi desenvolvido da mesma forma para todas as bactérias.

No bico de Bünsen, amostras de 100 ml das águas com diferentes valores de turbidez foram distribuídas em béqueres de 300 ml, contaminados com bactérias (cerca de  $10^5$  UFC/mL), e colocados no banho maria com agitação. O alto valor de contaminação foi escolhido com o intuito de estudar os casos mais desfavoráveis de contaminação.

Quando o experimento era para analisar somente o efeito da temperatura, o banho maria era então programado para a devida temperatura, e agitação suficiente para homogeneizar a água contaminada. A temperatura escolhida levava cerca de 1 hora para ser alcançada, fato similar ao que acontece numa situação normal com a água exposta ao sol.

Quando o experimento tinha também como objetivo a verificação do efeito da

UV, uma lâmpada de UV-A era ligada sobre os béqueres. Mas quando o objetivo do experimento era verificar somente a UV, a temperatura do banho maria não era ligada, apenas a agitação e as lâmpadas de UV-A. O valor da UV-A era regulado com a aproximação das lâmpadas na superfície da água nos béqueres. Os valores utilizados foram:  $9,7 \text{ W/m}^2$ ,  $20 \text{ W/m}^2$ ,  $30 \text{ W/m}^2$  e  $40 \text{ W/m}^2$ .

O monitoramento da radiação UV foi feito com auxílio do radiômetro e da temperatura com um termômetro de mercúrio.

Foram posicionadas horizontalmente três lâmpadas de UV-A num suporte sobre o banho maria (Figuras 11 e 12). Para o ajuste do valor da UV-A, o radiômetro foi posicionado na mesma altura que a água dentro dos béqueres e dependendo do valor esperado a lâmpada era movida para cima ou para baixo.

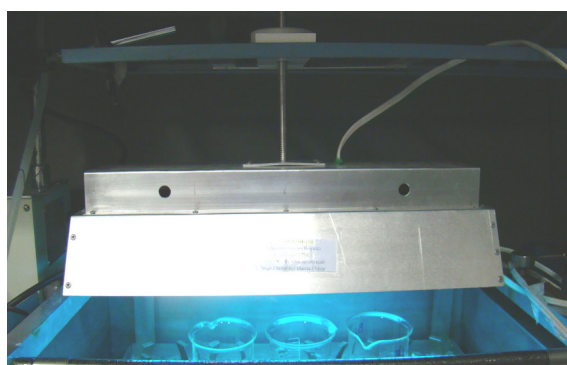


Figura 11: Suporte com as lâmpadas de UV-A sobre os béqueres.

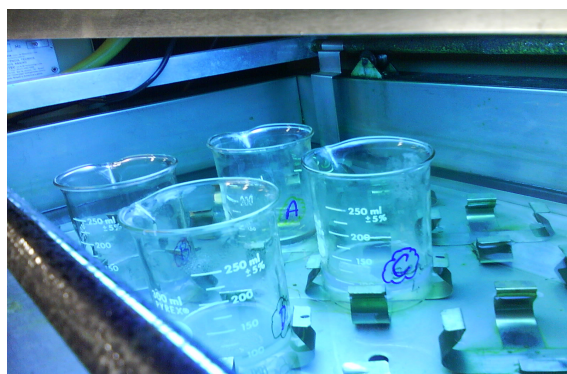


Figura 12: Béqueres dentro do banho maria posicionados embaixo das lâmpadas de UV-A.

O tempo de exposição só foi contado a partir do alcance da temperatura escolhida (nos experimentos com temperatura), o que levava cerca de 1 hora. As amostras foram coletadas em tempos pré-estabelecidos, e foram previamente diluídas, e retirados 100 µl de cada amostra com auxílio de uma pipeta automática e colocados em placas de Petri. Pérolas de vidro estéreis foram utilizadas para espalhar o inóculo na superfície do meio sólido. Todo o procedimento foi realizado no bico de Bunsen.

As placas de Petri inoculadas foram incubadas em estufa a 37°C, e no dia seguinte realizada a contagem de colônias.

#### **4.4.6 Quantificação das bactérias**

A quantificação das bactérias foi feita a partir da contagem de colônias expresso em UFC/mL. A metodologia consiste na diluição progressiva da suspensão bacteriana, tomando-se uma pequena alíquota de uma suspensão mais concentrada, de onde se faz a transferência desta para uma solução salina esterilizada, com volume previamente determinado. De cada diluição, procede-se imediatamente o plaqueamento das amostras, que consiste no espalhamento de 100 µl da amostra, com auxílio de pérolas de vidro, em uma placa de Petri contendo meio LB. As placas foram incubadas em estufa a 37°C e no dia seguinte era realizada a contagem de colônias.

### **4.5 EXPERIMENTOS COM COLIFAGO LAMBDA**

#### **4.5.1 Meio de cultura, Top Agar e MgSO<sub>4</sub>**

O meio LB já descrito anteriormente nos experimentos com as bactérias é o mesmo utilizado nos experimentos com o colifago lambda.

Também foi utilizado nos experimentos o Top Agar, que após ser fundido no micro-ondas por cerca de 2 minutos, foi distribuído em alíquotas de 2,5 mL em tubos de hemólise e colocados em banho maria a 47° C, a fim de que se evitasse a solidificação. Para a obtenção do Top Agar são necessários os seguintes reagentes, mostrados na

tabela 6:

Tabela 6: Composição do meio Top Agar

<b>TOP AGAR</b>	
<b>Reagente</b>	<b>Quantidade g/L</b>
Agar	0,8 %
NaCl	0,7 %

Para a diluição dos colifagos foi utilizado  $MgSO_4$ , na proporção de 1,206 g/L.

Todas as soluções foram também autoclavadas a 120° C por 20 minutos.

#### 4.5.2 Condução dos experimentos

A condução dos experimentos com o colifago lambda ocorreu da mesma forma das bactérias: escolha da temperatura, do valor da UV e do tempo de duração dos ensaios; a obtenção das culturas bacterianas durante a noite; preparação da água com ou sem turbidez.

No bico de Bunsen, amostras de 100 ml das águas com diferentes valores de turbidez eram distribuídas em Béqueres de 300 ml, contaminados com cerca de  $10^5$  UFP/mL e colocados no banho maria.

Após a coleta das amostras, estas eram guardadas em geladeira até o término de todas as coletas, para que as amostras fossem processadas de uma só vez.

O Top Agar foi fundido no micro-ondas, por cerca de 2 minutos ou por tempo suficiente. Depois de esfriar um pouco, foi distribuído em tubos de hemólise (2,5 mL) com auxílio de uma pêra automática e pipeta estéril, e mantidos em banho maria a 47°C

para que não ocorresse a solidificação.

A cultura de *E. coli* K12A15 em meio LB líquido, foi distribuída em tubos de hemólise (300 µL). Cada amostra coletada contendo fagos era convenientemente diluída e uma alíquota de 100 µL foi adicionada aos tubos de hemólise contendo as bactérias, e então incubados em banho maria a 37°C por cerca de 20 minutos, para que os colifagos pudessem adsorver na superfície das bactérias.

Após a incubação, cada tubo de hemólise contendo Top Agar fundido era adicionado a um tubo de hemólise contendo os colifagos e as bactérias. E em seguida, rapidamente vertidos numa placa de Petri contendo meio LB sólido e distribuídos uniformemente sobre a superfície do meio. Após a solidificação do Top Agar adicionado, as placas eram incubadas em estufa a 37°C por uma noite.

A figura 13 a seguir apresenta o roteiro de análise utilizado para o colifago lambda já descrito anteriormente.

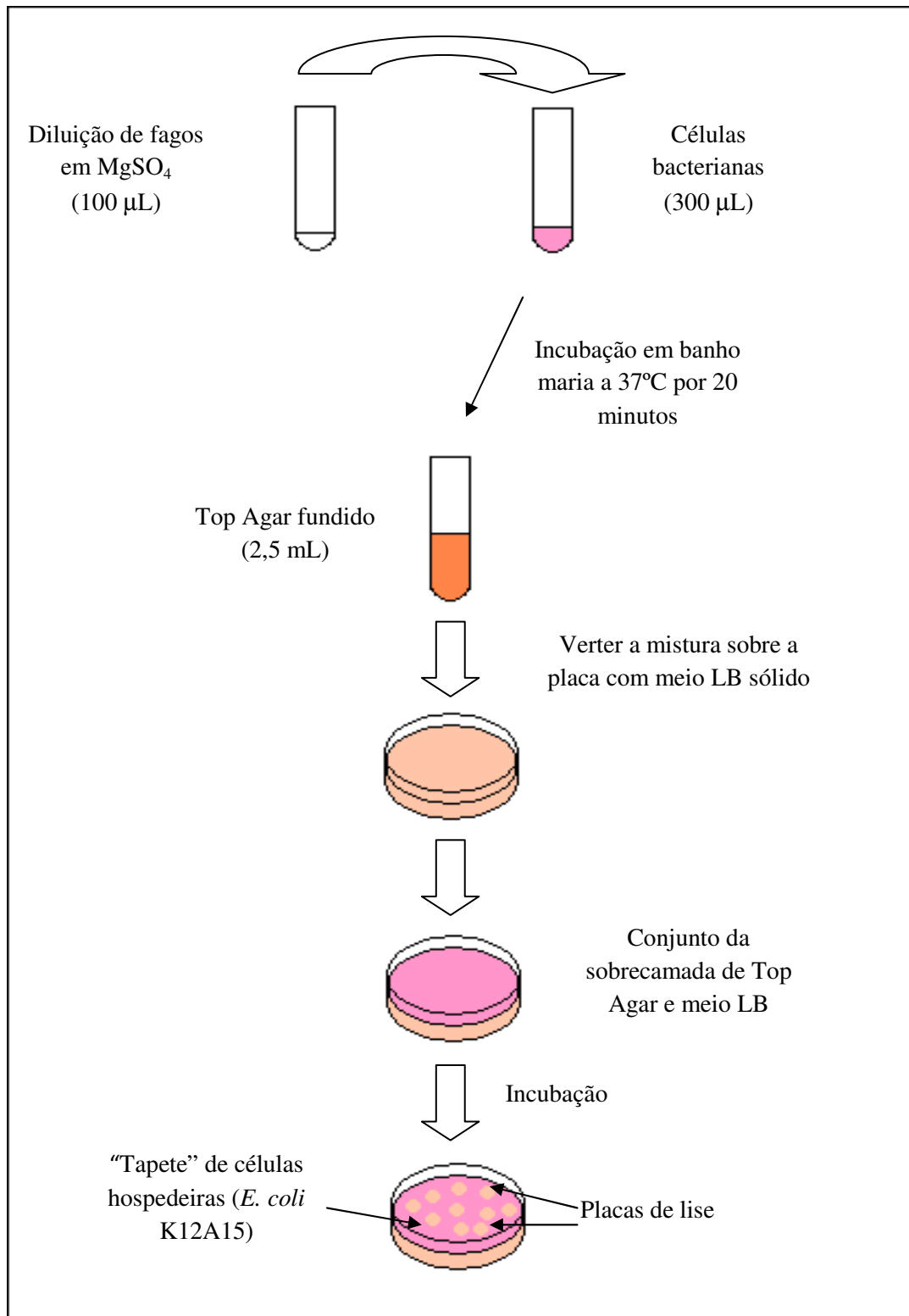


Figura 13: Esquema dos ensaios com colifago lambda. Adaptado de Madigan et al, 2004.

#### 4.5.3 Quantificação do colifago lambda

Após a incubação a 37°C das placas inoculadas durante uma noite, foi realizada a quantificação do colifago lambda, feita a partir da contagem de placas de lise ou “plaques”, que ocorre por meio da determinação dos efeitos dos vírus nas células hospedeiras que infectam.

Quando uma partícula viral inicia uma infecção em uma cultura de células, no caso, um “tapete” de células hospedeiras crescendo em uma superfície plana, pode haver o aparecimento de uma zona de *lise* ou de *inibição do crescimento*, que resulta na formação de uma área clara no “tapete” de células hospedeiras. Essa zona clara recebe a denominação placa de lise ou “plaques”, e convencionou-se que cada placa de lise é formada em decorrência dos eventos de replicação iniciados por uma partícula viral (MADIGAN et al, 2004).

As placas de lise correspondem essencialmente a “janelas” que surgem no tapete de células, exibindo crescimento confluyente. Durante a incubação da cultura, as bactérias crescem, originando uma superfície turva, visível a olho nu. No entanto, em todas as regiões onde a infecção viral tenha sido iniciada com sucesso, ocorrerá a lise das células, que resultará na formação de uma placa de lise, como visto na figura 14 (MADIGAN et al, 2004).



Figura 14: Placas de lise formadas no tapete de bactérias.



## 4.6 SIMULAÇÃO DO SODIS

### 4.6.1 Preparo das garrafas

As garrafas PET utilizadas eram embalagens de refrigerantes e de água mineral que foram reaproveitadas. Foram utilizadas 3 garrafas PET de 2 litros e 2 garrafas de 5 litros. As tampas foram perfuradas para a introdução de um termômetro de mercúrio (100°C). As garrafas e suas tampas foram bem lavadas com detergente, e depois com álcool 70%, e secaram abertas dentro da capela de fluxo laminar com a UV ligada. Em seguida foram cuidadosamente fechadas e seus gargalos e tampas embrulhados com papel alumínio a fim de que se evitasse uma contaminação com a manipulação. Duas garrafas PET (2 L e 5 L), foram lixadas na parte que ficou voltada para baixo, e pintadas com tinta esmalte na cor preta fosca, conforme feito por MOREIRA & PATERNIANI (2005b). Uma garrafa PET de 2 litros foi completamente pintada de preto para avaliar a inativação sem a ação da radiação UV-A (Figura 15).



Figura 15: Garrafas expostas ao sol.

#### 4.6.2 Condução dos experimentos para simulação da aplicação do SODIS

O monitoramento da radiação UV foi com auxílio de um radiômetro e da temperatura com os termômetros de mercúrio.

As garrafas foram cheias com água estéril (nas de 2 litros de capacidade foi colocado 1,7 litros de água, e 4 litros de água na de 5 litros de capacidade com a metade pintada de preto), dentro da capela de fluxo laminar e depois as águas foram contaminadas com cerca de  $10^5$  UFC/mL de bactérias e  $10^5$  UFP/mL para os colifagos. A garrafa de 5 litros completamente transparente não foi contaminada, foi utilizada apenas para monitoramento da temperatura da água para comparação com a garrafa de 5 litros pintada pela metade de preto. Após a contaminação, as garrafas foram expostas no telhado a partir das 9:20 da manhã (horário de verão do dia 1 de dezembro de 2009).

As amostras foram coletadas de hora em hora, com o auxílio de pipeta estéril, e colocadas em tubos de ensaio estéreis com tampas. Foi medida a temperatura da água dentro de cada garrafa e a UV-A no momento da coleta.

As amostras foram imediatamente processadas, para a análise das bactérias. Para a análise dos colifagos, as amostras foram armazenadas em geladeira, e foram todas processadas juntas como descrito anteriormente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A eficiência da desinfecção é mostrada em termos de  $-\text{Log } N/N_0$  em função do tempo de exposição à temperatura e/ou UV-A, onde  $N_0$  corresponde à concentração inicial de micro-organismos, e  $N$  corresponde ao número de micro-organismos após um determinado tempo de exposição.

### 5.1 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, UV-A E TURBIDEZ NA INATIVAÇÃO DE BACTÉRIAS

#### 5.1.1 Termorresistência das bactérias

As figuras 16, 17, 18 e 19, apresentam a influência de diferentes temperaturas na inativação das bactérias *Escherichia coli* K12A15, *E. coli* ATCC11229, *Serratia marcescens* e *Salmonella typhimurium* TA102, respectivamente.

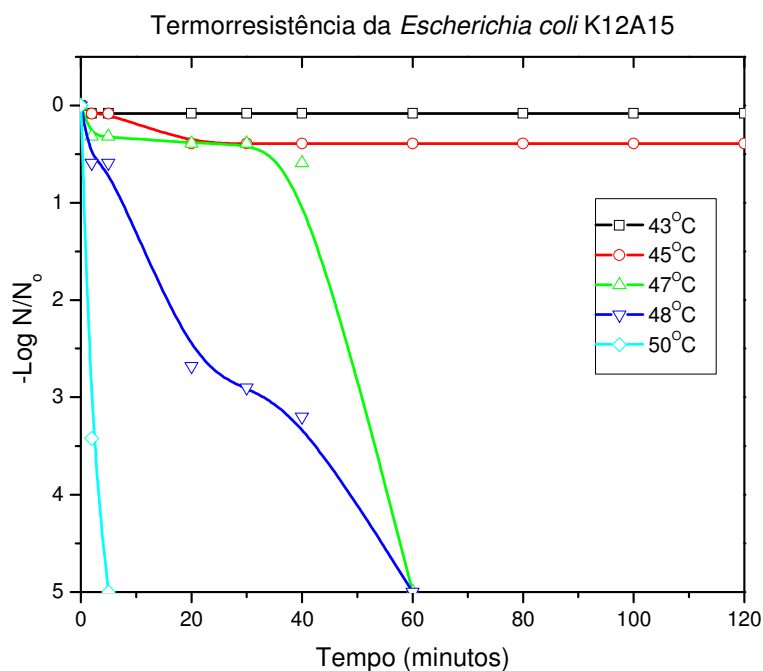


Figura 16: Termorresistência da *Escherichia coli* K12A15.

A *E. coli* K12A15 não foi inativada a 43°C e a 45°C, nesta última houve uma pequena redução no número de bactérias. A inativação ocorreu a partir de 47°C, e o tempo de inativação a esta temperatura foi o mesmo a 48°C, 60 minutos. A 50°C a inativação ocorreu em 5 minutos (Figura 16).

Assim como a *E. coli* K12A15, a *E. coli* ATCC11229 não foi inativada a 43°C e a 45°C. A inativação ocorreu a partir de 47°C, porém em menor tempo que a *E. coli* K12A15, 30 minutos. A 48°C e a 50°C, o tempo para a inativação foi o mesmo, cerca de 5 minutos (Figura 17).

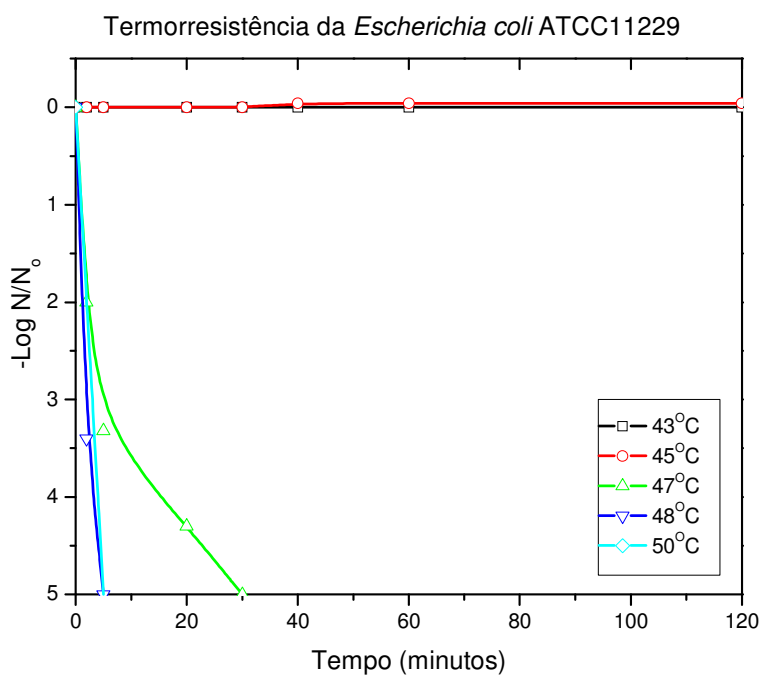


Figura 17: Termorresistência da *Escherichia coli* ATCC11229.

A figura 18 refere-se a termorresistência da bactéria *Serratia marcescens*. Assim como as outras bactérias testadas, a *S. marcescens* não foi inativada a 43°C, porém apresentou inativação a 45°C em 160 minutos. A 47°C a inativação ocorreu em 20 minutos. A *S. marcescens* e a *E. coli* ATCC11229 apresentaram tempos similares para a inativação a 48°C cerca de 5 minutos, e a 50°C, o tempo necessário para a inativação foi 2 minutos.

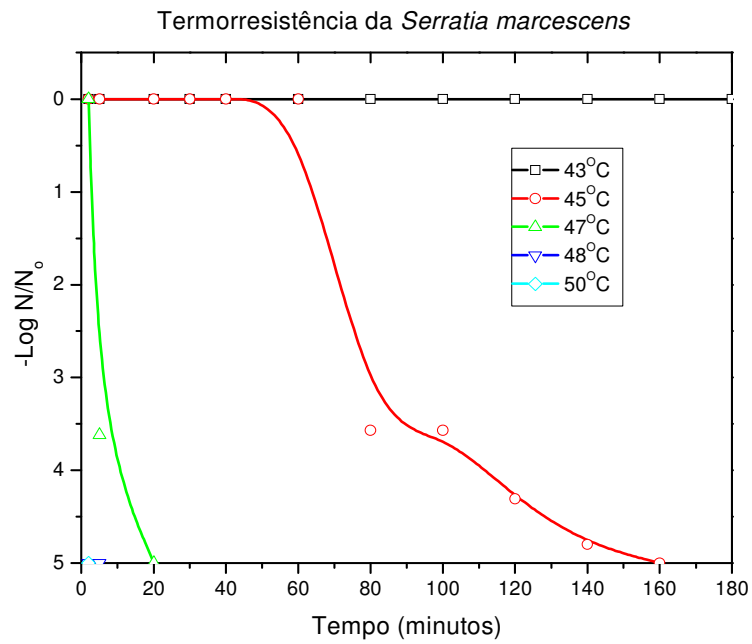


Figura 18: Termorresistência da *Serratia marcescens*.

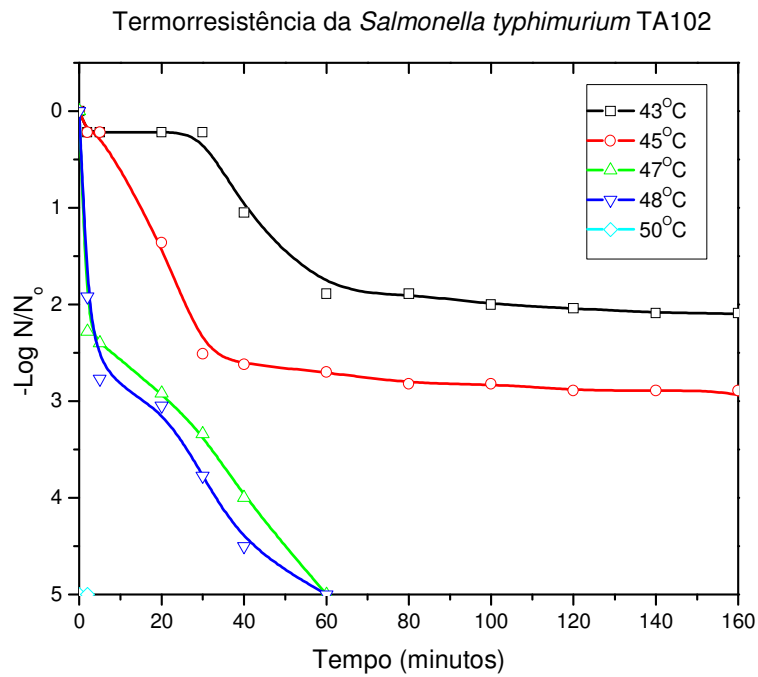


Figura 19: Termorresistência da *Salmonella typhimurium* TA102.

A 43°C, a bactéria *Salmonella typhimurium* TA102 foi a que mostrou maior sensibilidade, pois diminuiu cerca de 2 log (Figura 19). A 45°C diminuiu cerca de 3 log. O tempo de inativação a 47°C e a 48°C foram iguais, 60 minutos, assim como a *E. coli* K12A15 (Figura 16). A 50°C o tempo necessário para a inativação foi em torno de 2 minutos, assim como para a *Serratia marcescens* (Figura 18).

Segundo BERNEY et al (2006a), foi observado que a partir de 45°C existe sensibilidade ao calor em relação a *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, e a partir de 40°C para *Vibrio cholerae*. Também foi comprovada a inativação de *Salmonella typhimurium* por BARER et al (2000), que estudaram os efeitos da desinfecção solar simulada na inativação desta bactéria.

### 5.1.2 Inativação das bactérias a 45°C e influência da UV-A (9,7W/m<sup>2</sup>)

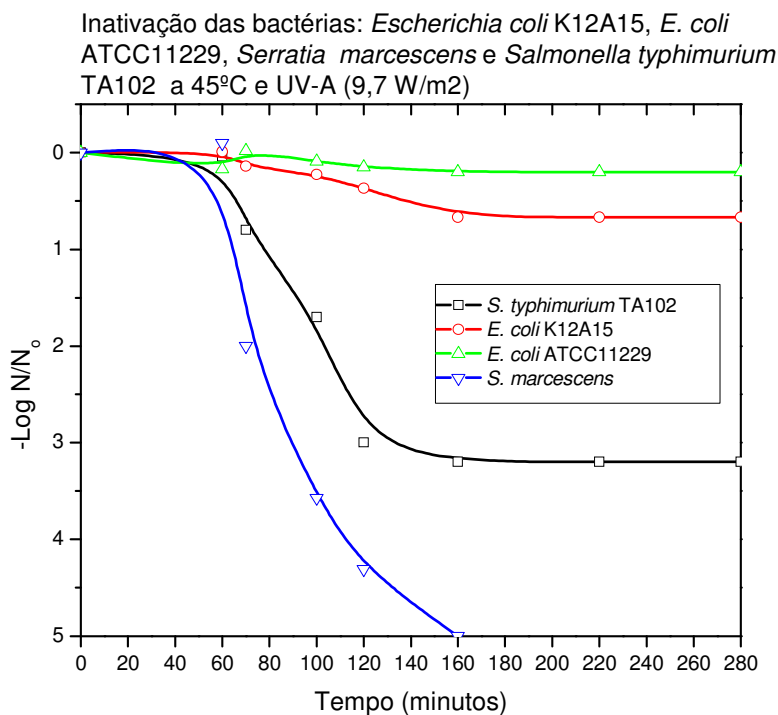


Figura 20: Inativação das bactérias: *E. coli* K12A15, *E. coli* ATCC11229, *S. marcescens* e *S. typhimurium* TA102 a 45°C e UV-A (9,7 W/m<sup>2</sup>).

A Figura 20 refere-se ao comportamento das quatro bactérias expostas a temperatura de 45°C e uma pequena dose de UV-A (9,7 W/m<sup>2</sup>). Esta comparação buscou avaliar a presença de sinergia entre UV-A e temperatura na inativação das bactérias, pois esta temperatura já foi testada anteriormente, e foi observado que somente a bactéria *Serratia marcescens* foi inativada a 45°C (Figura 18). Apesar da presença de UV-A, a *Serratia marcescens* manteve-se como a única, dentre as quatro bactérias, que alcançou a inativação. As outras três bactérias mantiveram o mesmo comportamento dos experimentos sem UV-A. Na temperatura testada (45°C) a UV-A (9,7W/m<sup>2</sup>) não apresentou efeito sinérgico na inativação das bactérias.

### 5.1.3 Inativação das bactérias (50°C, 52°C e 55°C) e influência da turbidez (500 NTU e 2000 NTU)

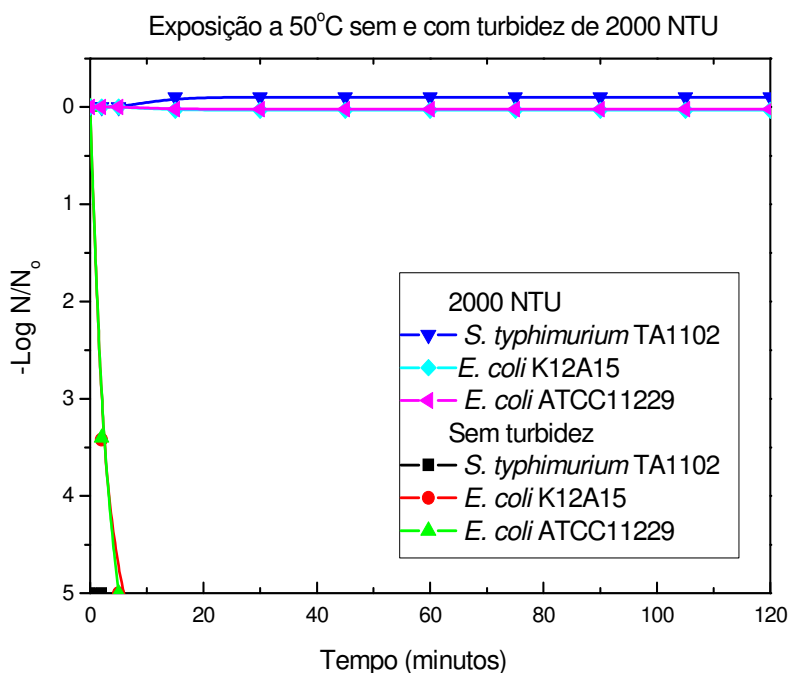


Figura 21: Inativação das bactérias: *E. coli* K12A15, *E. coli* ATCC1129 e *S. typhimurium* TA102 a 50°C, e em água sem turbidez e com turbidez de 2000 NTU.

A figura 21 faz uma comparação da inativação das bactérias *E. coli* K12A15, *E. coli* ATCC 11229 e *Salmonella typhimurium* TA102, sem turbidez e com turbidez de

2000 NTU a 50°C. É possível notar que as bactérias em soluções com turbidez de 2000 NTU, não são inativadas, o que demonstrou grande interferência da turbidez na eficiência do processo. A inativação das bactérias na ausência da turbidez apresentou o mesmo tempo já visto anteriormente, as bactérias foram inativadas a essa mesma temperatura (50°C) em torno de 5 minutos nos casos da *E. coli* K12A15 e da *E. coli* ATCC 11229, e de 2 minutos no caso da *Salmonella typhimurium* TA102 (Figuras 16, 17, 18 e 19).

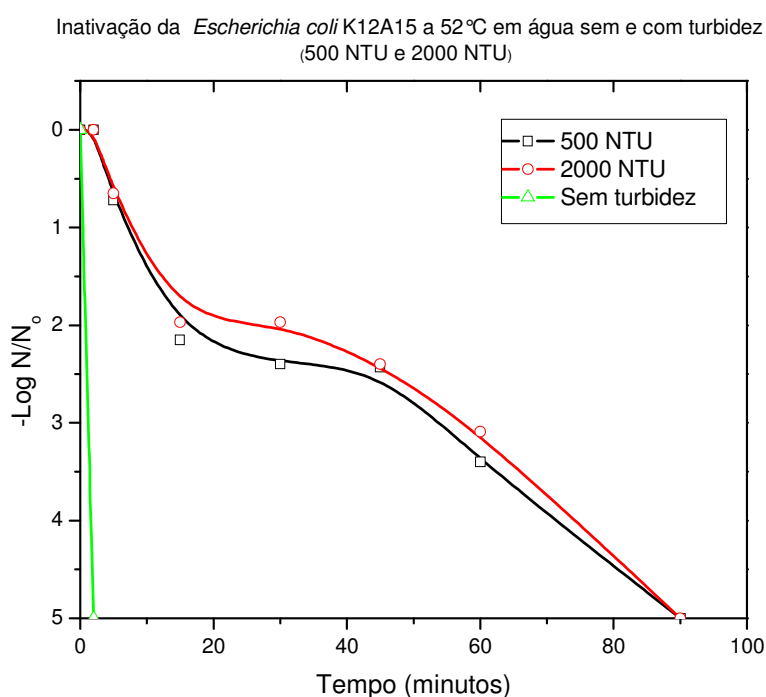


Figura 22: Inativação da *Escherichia coli* K12A15 a 52°C, em água sem turbidez e com turbidez de 500 NTU e 2000 NTU.

A figura 22 apresenta a inativação da bactéria *E. coli* K12A15 com diferentes valores de turbidez a 52°C. Apesar da presença de turbidez, a *E. coli* K12A15 foi inativada em 90 minutos para os dois valores utilizados (500 NTU e 2000 NTU), o que não ocorreu anteriormente a 50°C (Figura 21). O tempo de inativação na ausência da turbidez foi de 2 minutos.



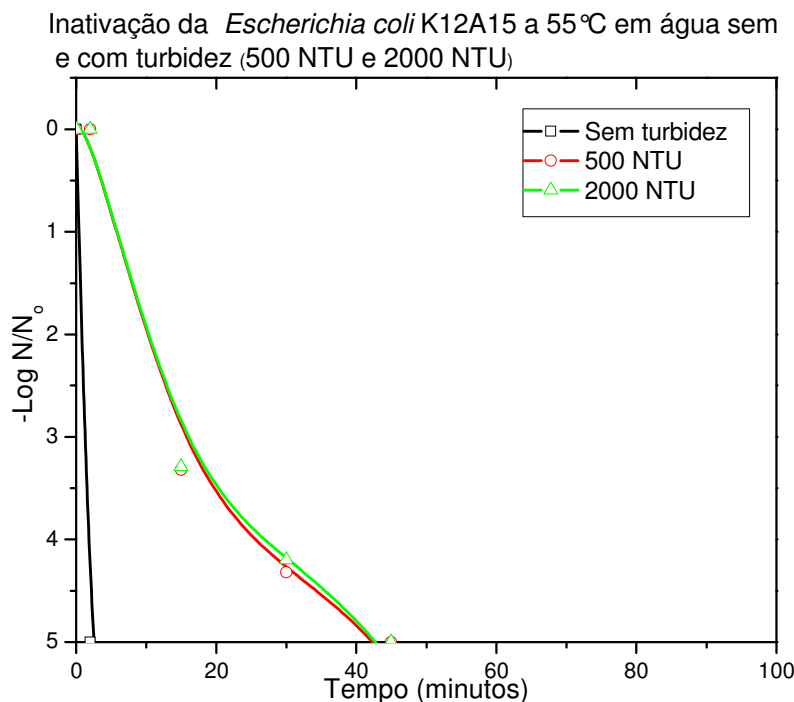


Figura 23: Inativação da *Escherichia coli* K12A15 a 55°C, em água sem turbidez e com turbidez de 500 NTU e 2000 NTU.

A 55°C (Figura 23), a *E. coli* K12A15 manteve a inativação apesar da presença de turbidez e mostrou o mesmo comportamento visto anteriormente sem turbidez, onde a inativação ocorreu mais rapidamente do que com as turbidez de 500 e 2000 NTU. O tempo de inativação em relação à água sem turbidez foi de 2 minutos.

#### 5.1.4 Influência da UV-A (40 W/m<sup>2</sup>) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação das bactérias *Escherichia coli* K12A15 e *Salmonella typhimurium* TA102

De acordo com as figuras 24 e 25, somente a exposição à UV-A, não foi suficiente para inativar as bactérias *E. coli* K12A15 e *Salmonella typhimurium* TA102, apesar de a irradiação utilizada ter sido alta (40 W/m<sup>2</sup>). De acordo com a figura 24, houve uma queda muito pequena no número de bactérias na água sem turbidez.

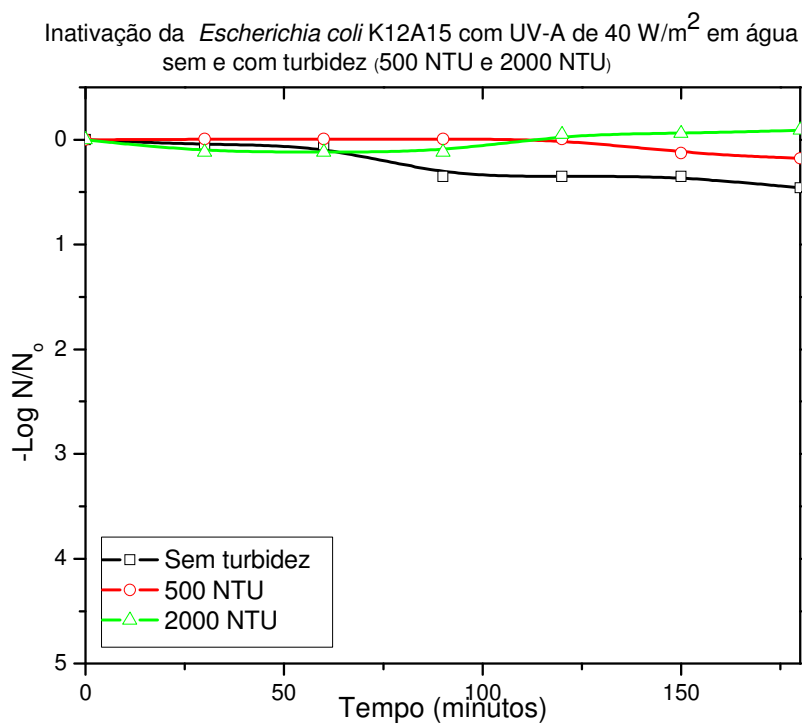


Figura 24: Influência da UV-A ( $40 \text{ W/m}^2$ ) e turbidez na inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15.

De acordo com a figura 25, houve uma pequena inativação da *Salmonella typhimurium* TA102 em água sem turbidez e na água com turbidez de 500 NTU. Já na presença da turbidez de 2000 NTU, o número de bactérias praticamente se manteve.

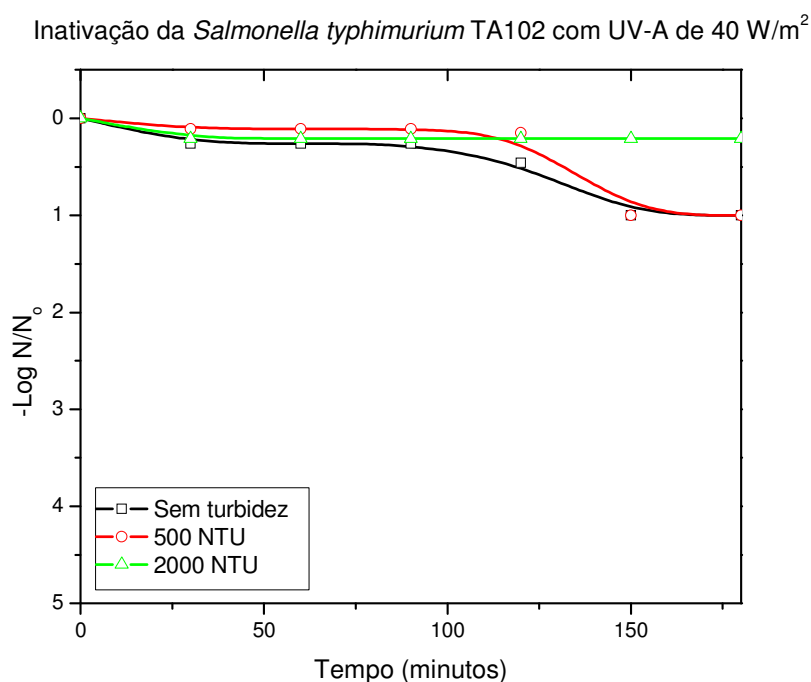


Figura 25: Influência da UV-A (40 W/m<sup>2</sup>) e turbidez na inativação da bactéria *Salmonella typhimurium* TA102.

SOUZA et al (2000) observaram em seus ensaios de desinfecção da água contaminada com *E. coli* ATCC 25922 com radiação ultravioleta, que a água com baixa cor e turbidez apresentou elevada inativação bacteriana (remoções maiores do que 5 log com baixa intensidade de radiação), enquanto que águas com cor e turbidez elevadas apresentaram baixa inativação (remoções menores que 1 log com intensidade de radiação ultravioleta mais elevada). Ou seja, quanto maior for a turbidez, maior o consumo de energia radiante (ultravioleta) necessária para a inativação.

KELLER et al (2002) mostraram em seus estudos que o número de salmonelas pode ser consideravelmente reduzido pela desinfecção com radiação UV numa estação de tratamento de esgoto, e a inativação foi mais eficiente em amostras com baixos níveis de turbidez, esta foi um obstáculo importante à radiação UV nas bactérias.

### 5.1.5 Influência da temperatura (50°C e 52°C), UV-A (20 W/m<sup>2</sup> e 40 W/m<sup>2</sup>) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15

A figura 26 apresenta a influência da turbidez a 50°C já vista anteriormente (Figura 21) e mais o incremento da UV-A de 20 W/m<sup>2</sup> para a *E. coli* K12A15. O tempo para a inativação da bactéria na água sem turbidez foi aproximadamente 2 minutos, já na ausência da UV-A, o tempo necessário foi de 5 minutos.

Assim como no experimento sem UV-A, também não houve inativação com turbidez de 500 e 2000 NTU, mas houve uma ligeira queda no número de bactérias, fato esse que não ocorreu com somente o uso da temperatura 50°C.

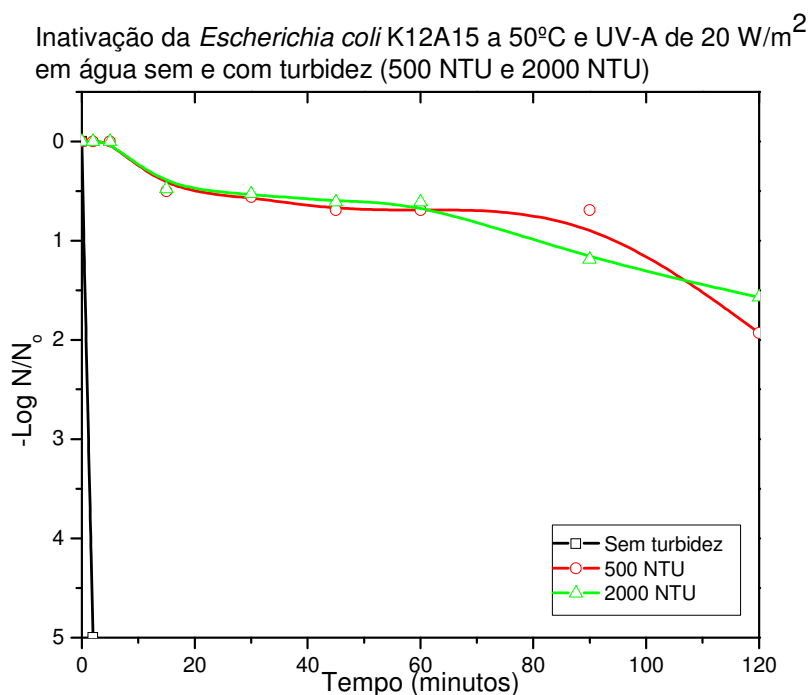


Figura 26: Influência da temperatura (50°C), UV-A (20 W/m<sup>2</sup>), sem e com turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15.

De acordo com as figuras 27 e 28, apesar da turbidez, houve inativação. Estes dois gráficos podem fazer uma comparação entre dois valores de UV-A (20 W/m<sup>2</sup> e 40 W/m<sup>2</sup>) na inativação da *E. coli* K12A15, com diferentes valores de turbidez a 52°C.

Segundo a figura 27, apesar do incremento da UV-A ( $20 \text{ W/m}^2$ ), para as amostras com turbidez, a inativação não ocorreu em menor tempo quando comparado ao experimento que não utilizou UV-A (Figura 22), onde a inativação ocorreu por volta de 90 minutos na presença dos dois valores de turbidez. Para as amostras sem turbidez o tempo de inativação foi de 2 minutos.

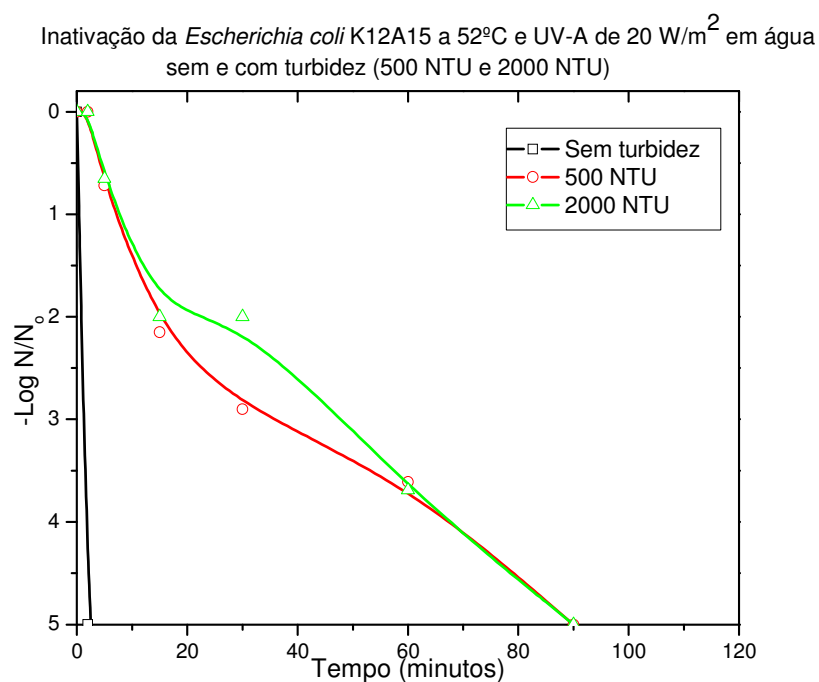


Figura 27: Influência da temperatura ( $52^\circ\text{C}$ ), UV-A ( $20 \text{ W/m}^2$ ) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15.

O aumento da UV-A de  $20 \text{ W/m}^2$  para  $40 \text{ W/m}^2$  (Figura 28), reduziu o tempo de inativação na água com turbidez (500 NTU e 2000 NTU) de 90 minutos para 60 minutos. A UV-A de  $40 \text{ W/m}^2$  apresentou efeito sinérgico com a temperatura de  $52^\circ\text{C}$ , pois o tempo foi reduzido em 30 minutos em relação ao tempo do experimento sem UV-A.

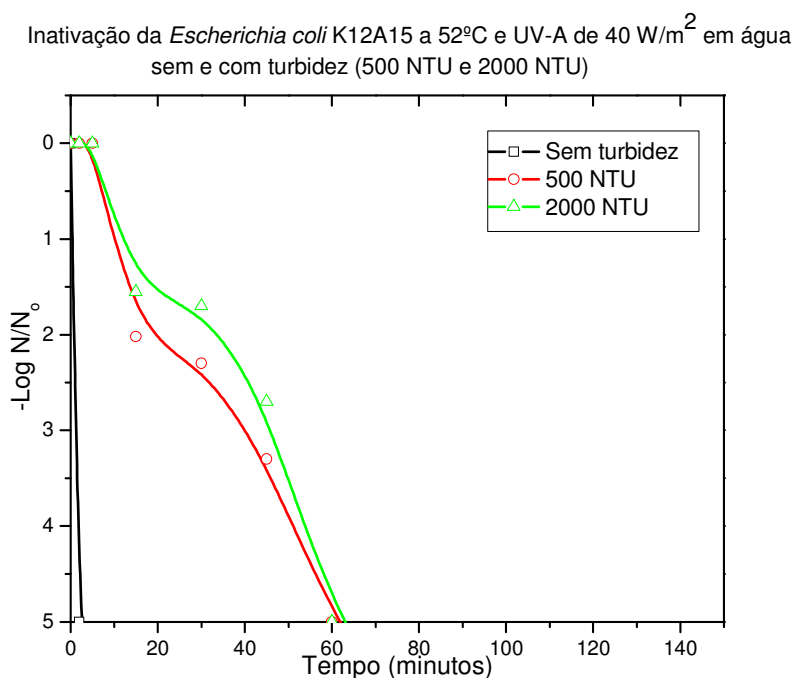


Figura 28: Influência da temperatura (52°C), UV-A (40 W/m<sup>2</sup>) e turbidez (500 NTU e 2000 NTU) na inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15

UBOMBA-JASWA et al, (2009), estudaram o efeito da radiação solar UV-A e a dose de irradiação solar necessárias para a inativação de *Escherichia coli* K-12 com a desinfecção solar, e verificaram que a radiação solar UV incidente deve ser de forma contínua e ininterrupta, o que prejudicou a tentativa de um tratamento de fluxo contínuo em reatores de re-circulação, no qual as bactérias não foram inativadas. Este resultado tem sérias implicações para as tentativas de aumento de escala do processo SODIS.

## 5.2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, UV-A E TURBIDEZ NA INATIVAÇÃO DO COLIFAGO LAMBDA

### 5.2.1 Termorresistência do colifago lambda

As figuras 29, 30, 31 e 32 mostram os resultados dos experimentos com o colifago lambda. Devido à maior resistência do colifago lambda (PAEPE & TADDEI, 2006), as temperaturas testadas foram mais elevadas com relação às temperaturas que as

bactérias foram expostas. Foram testadas as seguintes temperaturas: 53°C, 55°C, 57°C e 60°C.

A figura 29 apresenta os diferentes tempos de inativação para o colifago. Não houve inativação a 53°C, porém, houve uma redução de um pouco mais de 2 log. A inativação ocorreu a partir de 55°C, em 120 minutos, a 57°C em 90 minutos e a 60°C, 60 minutos.

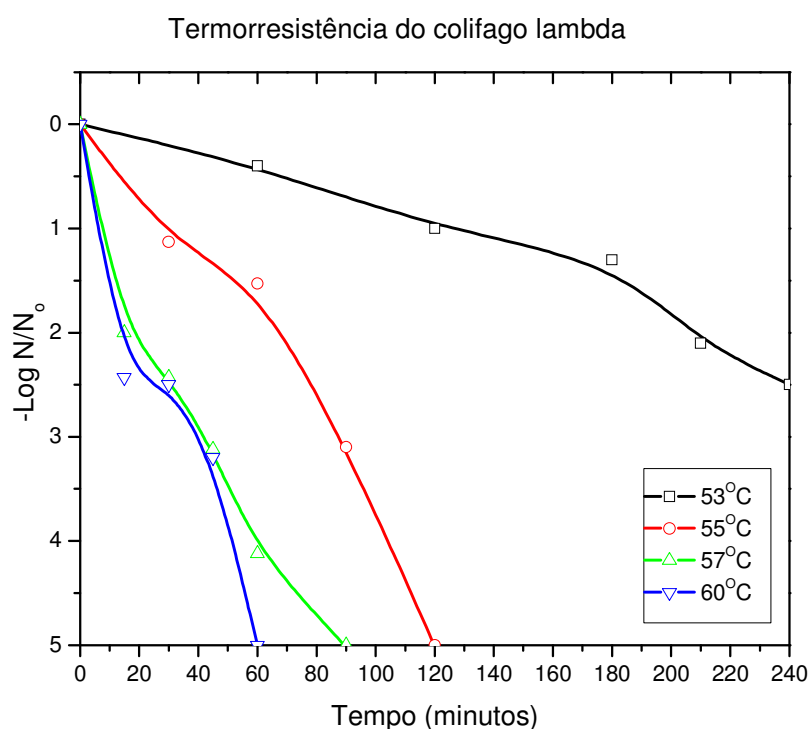


Figura 29: Termorresistência do colifago lambda.

### 5.2.2 Termorresistência do colifago lambda (53°C, 55°C, 57°C e 60°C) e influência da turbidez (500NTU e 2000 NTU)

As figuras 30 e 31 referem-se à influência dos seguintes valores de turbidez: 500 NTU e 2000 NTU respectivamente, nas temperaturas já testadas anteriormente (Figura 29).

De acordo com a figura 30, a 53°C, o colifago não foi inativado, como visto anteriormente (Figura 29). A presença da turbidez de 500 NTU aumentou os tempos

necessários para a inativação. A 55°C a inativação ocorreu em 180 minutos, a 57°C em 120 minutos e a 60°C, 90 minutos.

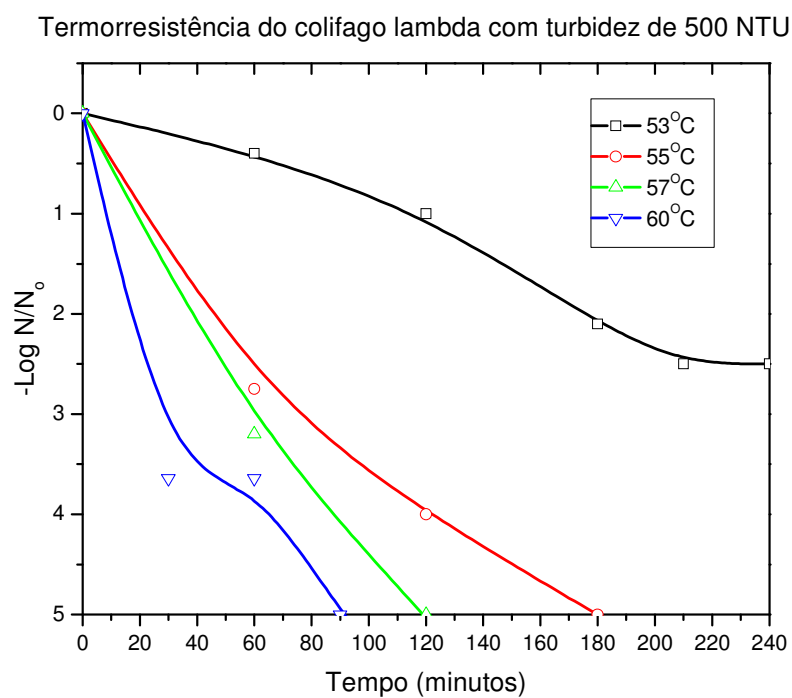


Figura 30: Termorresistência do colifago lambda (53°C, 55°C, 57°C e 60°C) e influência da turbidez (500NTU).

Os tempos necessários para a inativação do colifago lambda na presença da turbidez de 2000 NTU (Figura 31), não apresentaram diferença dos tempos vistos anteriormente para a inativação com turbidez de 500 NTU.



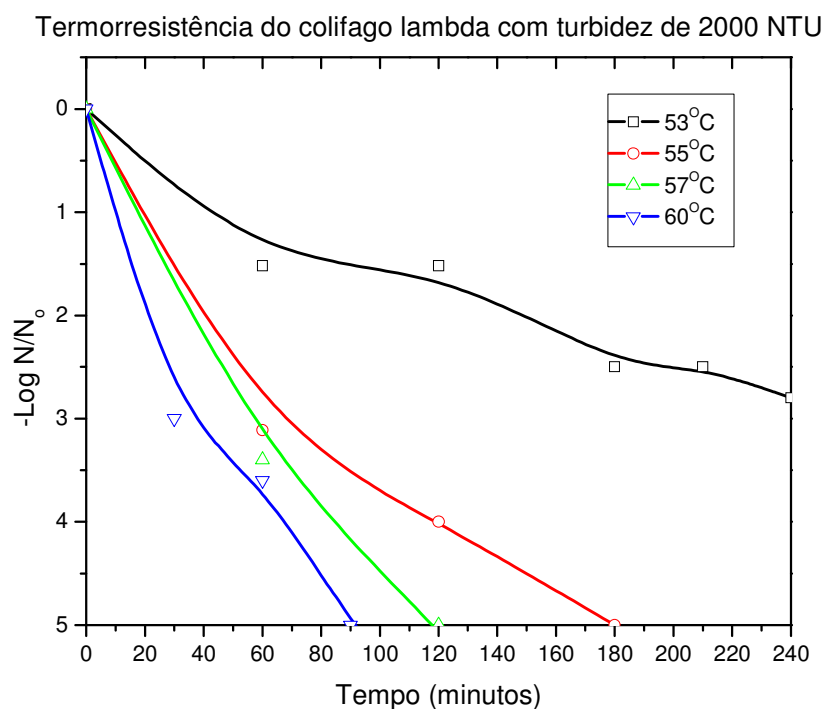


Figura 31: Termorresistência do colifago lambda (53°C, 55°C, 57°C e 60°C) e influência da turbidez (2000 NTU).

### 5.2.3 Influência da temperatura (53°C, 55°C, 57°C) e UV-A (30 W/m<sup>2</sup>) na inativação do colifago lambda

A figura 32 refere-se à termorresistência do colifago lambda com o incremento da UV-A (30 W/m<sup>2</sup>) e ainda assim não houve inativação a 53°C, porém a redução no número de colifagos foi maior do que na ausência da UV-A (Figura 29). A 55°C, o tempo necessário para a inativação foi o mesmo do experimento sem UV-A (120 minutos). Já a 57°C, a inativação ocorreu em 60 minutos. Houve uma redução no tempo de inativação do colifago de 90 minutos do experimento sem UV-A (Figura 29) para 60 minutos no experimento com UV-A (Figura 32), confirmando a sinergia dos efeitos da temperatura e da UV-A.

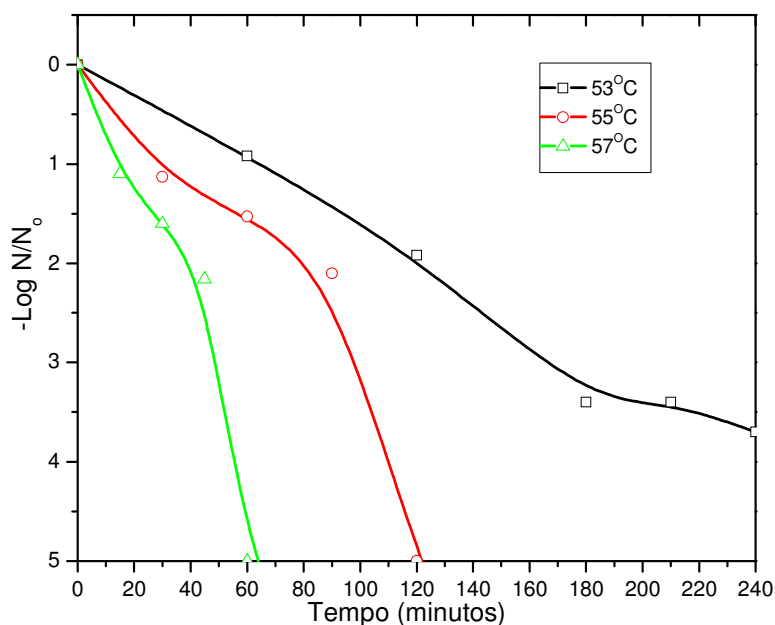
Colifago lambda exposto a UV-A de  $30 \text{ W/m}^2$  e a diferentes temperaturas

Figura 32: Influência da temperatura (53°C, 55°C e 57°C) e UV-A ( $30 \text{ W/m}^2$ ) na inativação do colifago lambda.

PASCOAL et al (2007), afirmam que de acordo com a sua pesquisa, os valores das doses de radiação UV para a inativação dos micro-organismos é na maioria dos casos maior para os colifagos do que para as bactérias.

### 5.3 SIMULAÇÃO DO SODIS

A simulação do SODIS foi realizada no dia 1 de dezembro de 2009, com céu aberto. Porém havia bastante vento e algumas nuvens apareceram durante o dia, o que ocasionou uma redução na temperatura. Segundo o Instituto Nacional de Meteorologia, na Estação do Galeão, a temperatura do dia atingiu máxima de  $34^\circ\text{C}$  e mínima de  $26^\circ\text{C}$ , e temperatura média de  $29^\circ\text{C}$  (INMET, 2010).

A figura 33 apresenta as temperaturas da água atingidas em cada garrafa durante o experimento de simulação do SODIS, a garrafa de 2L com a metade pintada de preto foi a que atingiu as maiores temperaturas, e as outras três garrafas, semi-pintada de 5L,

transparente de 2L e pintada totalmente de preto, apresentaram temperaturas similares entre si.

Segundo o EAWAG & SANDEC (2003), utilizando uma garrafa PET pintada de preto longitudinalmente até a metade, a água pode atingir uma temperatura de 42,5°C às 14:00 horas sem o concentrador solar. Já utilizando o concentrador solar, a temperatura pode atingir 66,5°C no mesmo horário.

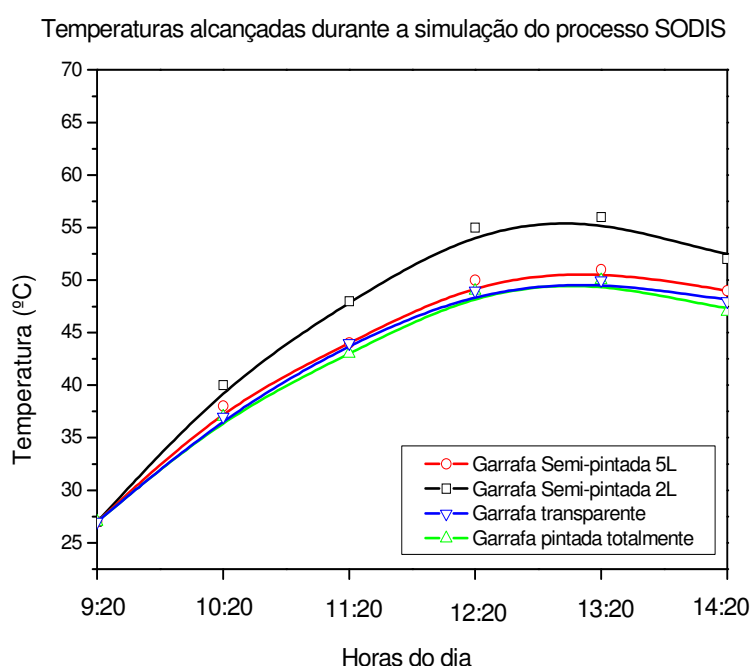


Figura 33: Temperaturas da água durante o experimento de simulação do SODIS de acordo com cada garrafa: semi-pintada de 5L, semi-pintada de 2L, transparente de 2L e pintada totalmente de preto.

A figura 34 refere-se aos valores de radiação UV-A ao longo do dia da simulação do SODIS. Os maiores valores de radiação UV-A foram entre os horários de 11h20min e 12h20min. Durante este intervalo, praticamente toda a concentração da bactéria *E. coli* K12A15 contida nas garrafas (exceto a garrafa completamente pintada de preto) expostas a radiação solar que receberam as doses de UV-A foi completamente inativada (Figuras 35). Já o colifago lambda não foi inativado completamente, porém houve redução de cerca de 3 log (Figura 36).

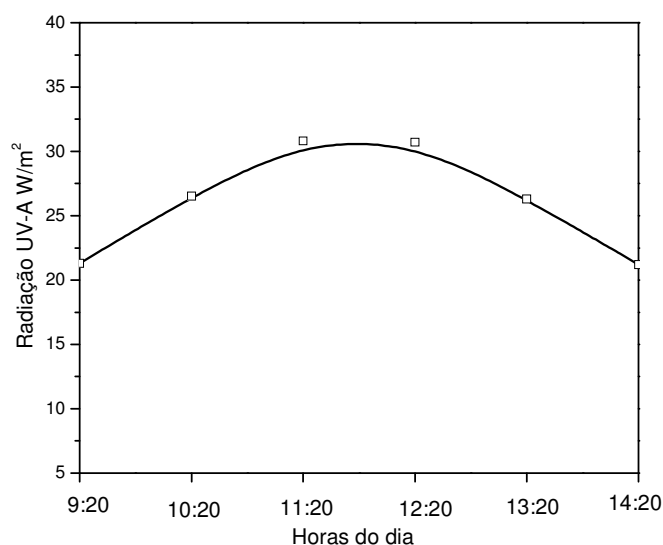


Figura 34: Valores de UV-A alcançados durante a simulação do SODIS.

### 5.3.1 Inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15 durante a simulação do SODIS

A figura 35 apresenta a inativação da *E. coli* K12A15 em relação ao tempo de exposição ao sol. A inativação ocorreu mais rapidamente nas garrafas semi-pintadas, de 2 L e de 5 L (3 horas expostas ao sol), seguidas pela garrafa transparente (quase 4 horas exposta ao sol), pois estas alcançaram em um menor tempo, temperaturas um pouco maiores que as demais.

Apesar de o método SODIS ser indicado somente em garrafas de 2 litros e com exposição de 6 horas, este experimento mostrou que o tempo para inativação pode ser menor, e a inativação de *E. coli* K12A15 em garrafões de 5 litros contendo 4 litros de água a ser tratada, também é possível.

Nas garrafas semi-pintadas (2 L e 5 L) expostas ao sol, a *E. coli* K12A15 foi completamente inativada após receber dose de UV-A de  $109 \text{ W}\cdot\text{h}/\text{m}^2$ . A garrafa transparente de 2 litros necessitou de uma dose de  $136 \text{ W}\cdot\text{h}/\text{m}^2$  portanto, requerendo uma hora a mais de ensaio em virtude da temperatura da água alcançada por esta garrafa

ter sido ligeiramente inferior.

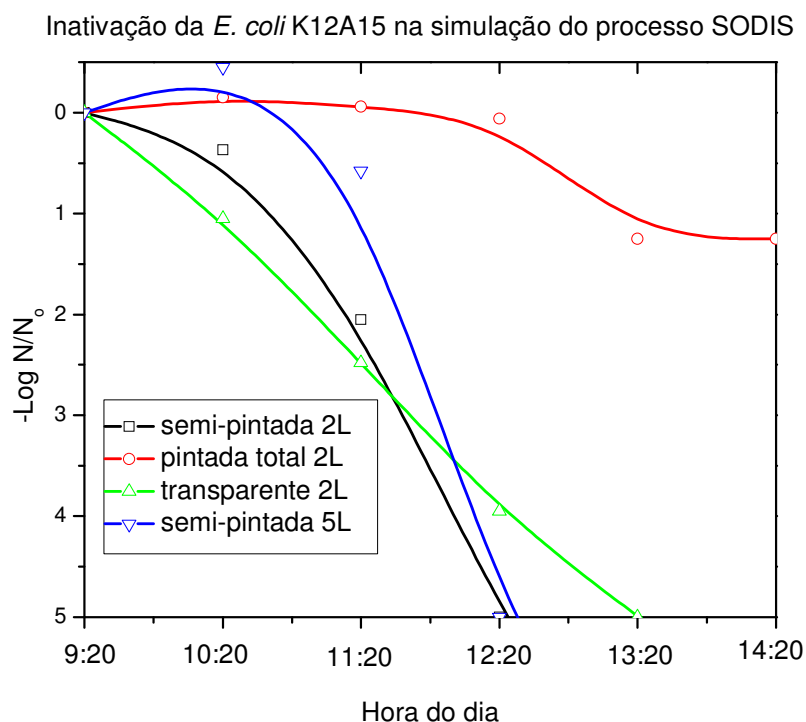


Figura 35: Inativação da bactéria *Escherichia coli* K12A15 durante a simulação do SODIS.

Apesar das temperaturas atingidas na simulação do SODIS, com o uso da garrafa pintada totalmente de preto, não foi verificada a inativação da bactéria *E. coli* K12A15. Houve uma ligeira queda no número de bactérias durante o período que apresentou as temperaturas mais altas (entre 12h20min e 14h20min). Neste gráfico, ficou clara a importância da ação da UV e seu efeito sinérgico com a temperatura na prática da desinfecção solar.

JOYCE et al (1996), relatam em seus estudos que a desinfecção completa de 2,0 L de água contendo *E. coli*, usando uma garrafa plástica transparente, foi alcançada com 12 h com a temperatura final de, aproximadamente, 55 °C.

Resultados semelhantes estão relatados no trabalho de BRANDÃO et al (2000), em que a desinfecção completa de 6,0 L, de água com quantidades significativas de *E.*

*coli* ( $10^5$  NMP/ 100mL), em lâmina de água de 5,0 cm, foi alcançada após 3 horas de exposição ao Sol.

BATISTA (2008) relata em trabalho que nos ensaios de desinfecção utilizando o efeito fototérmico, a completa desinfecção de *E. coli* foi alcançada após 150 minutos de exposição à radiação solar e não apresentou recrescimento bacteriano após 48h.

### 5.3.2 Inativação do colifago lambda durante a simulação do SODIS

A figura 36 refere-se à inativação do colifago lambda em relação ao tempo de exposição solar na simulação do SODIS. Nota-se que a inativação completa do colifago não ocorreu, pois a temperatura não alcançou os valores necessários, suficientemente elevados, para a inativação do colifago devido à sua maior resistência. Assim como no gráfico anterior, a garrafa completamente pintada de preto foi a que apresentou as menores taxas de inativação. As outras três garrafas apresentaram uma redução similar no número de colifagos, e nessas garrafas, apesar da inativação não ser completa, o número de colifagos caiu consideravelmente (3 log).

A dose de UV-A não foi suficiente para inativar completamente este indicador de vírus entéricos assim como a temperatura atingida, confirmando os resultados de laboratório que sugerem temperaturas maiores para inativação de vírus.

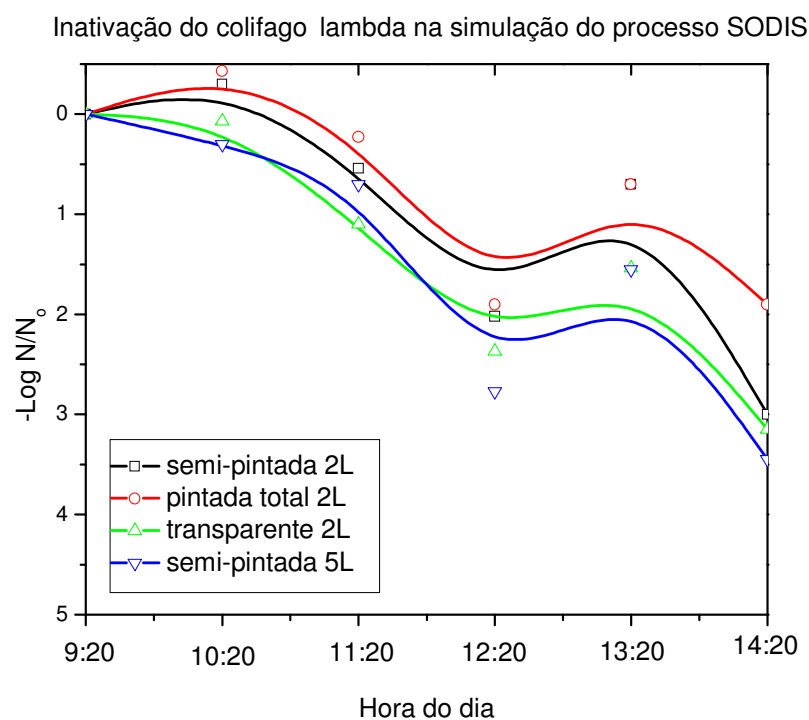


Figura 36: Inativação do colifago lambda durante a simulação do SODIS.

Nos experimentos com o colifago lambda como micro-organismo indicador, observou-se que esses organismos foram muito mais resistentes à ação desinfetante da radiação solar que as bactérias *E. coli*, sendo o mesmo encontrado por ARANTES et al (2000).

## 6 CONCLUSÕES

A bactéria *Escherichia coli* K12A15 e o colifago lambda foram escolhidos como micro-organismos indicadores de coliformes e vírus entéricos, respectivamente, para os experimentos aqui descritos que buscaram verificar a influência da temperatura e da turbidez na desinfecção solar. Também foi verificada a termorresistência da *Escherichia coli* ATCC 11229, *Serratia marcescens* e *Salmonella typhimurium* TA102. Os resultados obtidos mostraram as seguintes conclusões:

- Todas as bactérias analisadas foram inativadas a partir de 47°C. A *Serratia marcescens* foi a única bactéria inativada a 45°C.
- A turbidez influenciou na termorresistência das bactérias avaliadas, retardando o limiar da temperatura para inativação ou aumentando o tempo necessário para alcançar o mesmo resultado. A 50°C e sem turbidez ocorre completa inativação das bactérias, enquanto com alta turbidez esta inativação só ocorreu a 52°C.
- A radiação artificial UV-A de 40 W/m<sup>2</sup> apresentou efeito sinérgico com a temperatura de 52°C, pois o tempo foi reduzido em 30 minutos em relação ao tempo do experimento sem UV-A. Entretanto, a UV-A exclusivamente não foi suficiente para inativar as bactérias, mesmo quando a dose aplicada era equivalente à de um dia completamente ensolarado, cerca de 150 W\*h/m<sup>2</sup>.
- O colifago lambda é mais resistente à temperatura do que as bactérias testadas e sua inativação somente foi alcançada a partir de 55°C. A turbidez também influenciou na termorresistência do colifago, pois aumentou os tempos necessários para a inativação. O incremento da radiação artificial UV-A demonstrou sinergia com o efeito da temperatura, pois houve uma redução de 30 minutos no tempo de inativação do colifago a 57°C.
- Apesar do uso da UV-A apresentar sinergia com a temperatura nos testes de laboratório, a temperatura mostrou-se como efeito principal na inativação dos micro-organismos testados.



- Apesar de concebido para recipientes com volume máximo de 2 litros, o método SODIS nas condições de insolação da cidade do Rio de Janeiro em dia de céu aberto, pode inativar bactérias mesmo para recipientes contendo volume de 4 litros, principalmente para recipiente com metade da face pintada de preto.
- O teste de simulação do método SODIS foi eficiente na inativação da bactéria *E. coli* K12A15 (exceto na garrafa completamente pintada de preto). Porém, não houve completa inativação do colifago lambda, apesar da redução de cerca de 3 log.
- Durante a exposição ao sol da garrafa pintada completamente de preto, a temperatura alcançada flutuou ao redor da necessária para a inativação da *E. coli* K12A15. Entretanto, esta inativação não foi obtida. Esse fato deixou clara a importância da componente ultravioleta e visível da radiação solar e sua ação germicida na prática da desinfecção solar da água.

## REFERÊNCIAS

- ADRIAENS, P.; GOOVAERTS, P.; SKERLOS, S.; EDWARDS, E.; EGLI, T. *Intelligent infrastructure for sustainable potable water: a roundtable for emerging transnational research and technology development needs*. Biotechnology Advances, 22, p. 119-134, 2003.
- AGUIAR, A. M. S.; BRITO, L. L. A.; LIBÂNIO, M.; MACHADO, P. M. R.; NETO, M. L. F.; REIS, A. A.; SOARES, A. F. S.; VIEIRA, M. B. C. M. *Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção da águas com turbidez e cor moderadas*. Engenharia sanitária e ambiental. Vol. 7, Nº 1 - jan/mar 2002 e Nº 2 - abr/jun 2002.
- ALBUQUERQUE, W. F.; CASTRO, H. M.; FONTELES-FILHO, A. A.; HOFER, E.; VIEIRA, R. H. S. *Effect of sunlight on the survival of *Escherichia coli**. Arquivos de Ciências do Mar, 39, p. 29-33, Fortaleza, 2006.
- AMARAL, L. A.; JÚNIOR, O. D. R.; FILHO, A. N.; ALEXANDRE, A. V. *Avaliação da qualidade higiênico-sanitária da água de poços rasos localizados em uma área urbana: utilização de colifagos em comparação com indicadores bacterianos de poluição fecal*. Revista Saúde Pública, 28, p. 345-348, 1994.
- AMARAL, L. A.; NUNES, A. P.; CASTANIA, J.; LORENZON, C. S.; BARROS, L. S. S.; NADER FILHO, A.; *Uso da radiação solar na desinfecção da água de poços raros*. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, Vol. 73, Nº 1, p. 45-50, jan./mar., 2006.
- ANGELIS, D. F.; NAVARRETE, A. A.; PIÃO, A. C. S. *Solarização de água contaminada por leveduras: *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, Vol. 75, Nº1, p. 85-89, jan./mar., 2008.
- BARER, M. R.; KEHOE, S. C.; MCGUIGAN, K. G.; SMITH, R. J. *Effects of simulated solar disinfection of water on infectivity of *Salmonella typhimurium**. Letters in Applied Microbiology, 31, p. 284-288, 2000.
- BATISTA, C. H. *Estudo do processo de desinfecção de água via energia solar utilizando um reator experimental*. Dissertação de mestrado. Universidade Tiradentes, Aracaju, SE – Brasil. 2008.
- BAUMANN, S.; CHRISTOFFELS, E.; EXNER, M.; FRANKE, C.; KISTEMANN, T.; RECHENBURG, A.; WILLKOMM, M. *The emission potential of different land use patterns for the occurrence of coliphages in surface water*. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 212, p. 338-345, 2009.
- BERNARDES, R. S.; BRANDÃO, C. C. S.; MONTEIRO, P. C. G.; SOUZA, M. A. A.

*Desinfecção solar: proposta de metodologia de estudo de viabilidade e determinação dos parâmetros básicos. In: 20º Congresso brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999.*

BERNEY, M.; WEILENMANN, H. U.; SIMONETTI, A.; EGLI, T. *Efficacy of solar disinfection of **Escherichia coli**, **Shigella flexneri**, **Salmonella typhimurium** and **Vibrio cholerae***. Journal of Applied Microbiology, 101, p. 828-836, 2006a.

BERNEY, M.; WEILENMANN, H. U.; EGLI, T. *Flow-cytometric study of vital cellular functions in **Escherichia coli** during solar disinfection (SODIS)*. Microbiology, 152, p. 1719-1729, 2006b.

BETANCOURT, W. Q.; ROSE, J. B. *Drinking water treatment processes for removal of **Cryptosporidium** and **Giardia***. Veterinaty Parasitology, Vol. 9, p. 219-234, 2004.

BOSCH, A. *Human enteric viruses in the water environment: a minireview*. International Microbiology, Vol. 1, p.191-196, 1998.

BOSCH, A.; GUIX, S.; SANO, D.; PINTÓ, R. M. *New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water*. Current Opinion in Biotechnology, 19, p. 295-301, 2008.

BOSSHARD, F.; BERNEY, M.; SCHEIFELE, M.; WEILENMANN, H. U.; EGLI, T. *Solar disinfection (SODIS) and subsequent dark storage of **Salmonella typhimurium** and **Shigella flexneri** monitored by flow cytometry*. Microbiology, 155, p. 1310-1317, 2009.

BOTTO, M. P.; MOURA, N. C. B.; PEQUENO, L. R. B.; SENA, A. V. *Estudo da viabilidade técnica e social de tecnologias alternativas de saneamento em comunidades no estado de Ceará. In: 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2002.*

BOTTO, M. P. *Avaliação do processo de desinfecção solar (sodis) e de sua viabilidade social no estado do Ceará*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza-CE – Brasil. 2006.

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. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre, Brasil, 3 a 8 de dezembro, 2000.*

BRASIL. Ministério da Saúde. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. Disponível em: [http://www.agrolab.com.br/portaria%20518\\_04.pdf](http://www.agrolab.com.br/portaria%20518_04.pdf). Acesso em: 3 de outubro de 2009.

BURCH, J. D.; THOMAS, K. E. *Water disinfection for developing countries and potential for solar thermal pasteurization*. Solar Energy, Vol. 64, N° 1-3, p. 87-97, 1998.

CONROY, R. M.; ELMORE-MEEGAN, M.; JOYCE, T.; MCGUIGAN, K. G.; BARNES, J. *Solar disinfection of drinking water and diarrhea in Maasai children: a controlled field trial*. The Lancet, Vol. 348, p. 1695-1697, 1996.

DESINFECCIÓN SOLAR. Capítulo 2. Disponível em: [www.cepis.ops-oms.org/bvsac/fulltext/desinfeccion/capitulo2.pdf](http://www.cepis.ops-oms.org/bvsac/fulltext/desinfeccion/capitulo2.pdf). Acesso em 15/9/2008.

DÍAZ, L. G.; INFANTE, D. G.; SERA, A. S. *Desinfección del agua con luz ultravioleta y energía solar fotovoltaica*. Ingeniería hidráulica y ambiental. VOL. XXII, N° 4, 2001.

DOMÍNGUEZ, A. M.; GASCA, C. A. E.; GONZÁLEZ, E. R. B.; HERRERA, A. G.; SÁNCHEZ, J. V. *Estudio de un colector solar de paredes planas para desinfectar a agua*. In: XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México, 27 a 31 de outubro, 2002.

DUFF, S. W.; HODGSON, D. A. *A simple high efficiency solar water purification system*. Solar Energy, 79, p. 25-32, 2005.

EAWAG (Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology) & SANDEC (EAWAG's Department of Water and Sanitation in Developing Countries). *Desinfección Solar del Agua (SODIS) - Guía de Aplicación*. Cochabamba, Bolívia, 2005. Disponível em: [www.fundacionsodis.org](http://www.fundacionsodis.org). Acesso em 15/9/2008.

EAWAG (Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology) & SANDEC (EAWAG's Department of Water and Sanitation in Developing Countries). *SODIS Technical notes*. Dübendorf, Switzerland, 2003. Disponível em: [www.fundacionsodis.org](http://www.fundacionsodis.org). Acesso em 15/9/2008.

ELKARMI, A.; ABU-ELTEEN, K.; AL-KARMI, A. *Disinfecting contaminated water with natural solar radiation utilizing a disinfection solar reactor in a semi-arid region*. Jordan Journal of Biological Sciences, Vol. 1, N° 5, p. 47-53, 2008.

EPA - Environmental Protection Agency. *Guidance manual for compliance with the filtration and disinfection requirements for public water systems using surface water sources*. Washington, D.C., EUA, 1991.

FAPERJ. Boletim da FAPERJ,15/03/2007. Disponível em:[www.ien.gov.br/noticias/midia\\_arquivo/boletin\\_faperj\\_15mar2007.pdf](http://www.ien.gov.br/noticias/midia_arquivo/boletin_faperj_15mar2007.pdf). Acesso em 15/9/2008.

GELOVER, S. S.; GOMES, L. A.; LEAL, M. T. A.; REYES, K. O. *Inactivación de huevos de helmintos mediante fotocatalisis solar com TiO<sub>2</sub>*. In: XXX Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Punta del Este, Uruguay. 26 a 30 de novembro de 2006.

GILL, L. W.; GERNJAK, W.; IBÁÑEZ, P. F.; MCLOUGHLIN, O. A.; RODRÍGUEZ, S. M. *Photocatalytic disinfection of water using low cost compound parabolic collectors*. Solar Energy, 77, p. 625-633, 2004.

GOMES, A. I.; VILAR, V. J. P.; BOAVENTURA, R. A. R. *Synthetic and natural waters disinfection using natural solar radiation in a pilot plant with CPCs*. Catalysis Today, doi:10.1016/j.cattod.2008.12.023, 2009.

GOSWAMI, D. Y.; VIJAYARAGHAVAN, S.; LU, S.; TAMM, G.; *New and emerging developments in solar energy*. Solar Energy, 76, p. 33-43, 2004.

HEASELGRAVE, W.; KEHOE, S. C.; KILVINGTON, S.; MCGUIGAN, K. G.; PATEL, N. *Solar disinfection of poliovirus and Acanthamoeba polyphaga cysts in water – a laboratory study using simulated sunlight*. Letters in Applied Microbiology, 46, p. 125-130, 2006.

HIJNEN, W. A.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. *Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo) cysts in water: a review*. Water Research, 40, p. 3-22, 2006.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/html/observacoes.php>. Acesso em: 11/01/2010.

JOYCE, T. M.; MCGUIGAN, K. G.; ELMORE-MEEGAN, M.; CONROY, R. M. *Inactivation of fecal bacteria in drinking water by solar heating*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62, p. 399-402, 1996.

JUHNA, T.; BIRZNIECE, D.; LARSSON, S.; ZULENKOV, D.; SHARIPO, A.; AZEVEDO, N. F.; ; MÉNARD-SZCZEBARA, F.; CASTAGNET, S.; FÉLIERS, C.; KEEVIL, C. W. *Detection of Escherichia coli biofilms from pipe samples and coupons in drinking water distribution networks*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 73, Nº 22, p. 7456-7464, 2007.

KEHOE, S. C.; BARER, M. R.; DEVLIM, L. O.; MCGUIGAN, K. G. *Batch process solar disinfection is an efficient means of disinfecting drinking water contaminated with Shigella dysenteriae type I*. Letters in Applied Microbiology, 38, p. 410-414, 2004.

KELLER, R.; PASSAMANI, F.; VAZ, L.; CASSINI, S. T.; GONÇALVES, R. F. *Cinética de decaimento de Salmonella spp em efluentes de uma ETE associando reatores UASB e biofiltros aerados submersos submetido à desinfecção pela radiação ultravioleta*. VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária Ambiental, 2002.

LEY, V.; HIGGINS, J.; FAYER, R. *Bovine enteroviruses as indicators of fecal contamination*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 68, Nº 7, p. 3455-3461, 2002.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*. São

Paulo: Prentice Hall, 10ª Edição, 2004.

MARTÍN-DOMÍNGUEZ, A.; ALARCÓN-HERRERA, M. T.; MARTÍN-DOMÍNGUEZ, I. R.; GONZÁLEZ-HERRERA, A. E. *Efficiency in the disinfection of water for human consumption in rural communities using solar radiation*. Solar Energy, Vol. 78, p. 31-40, 2005.

MCGUIGAN, K. G.; JOYCE, T. M.; CONROY, R. M.; GILLESPIE, J. B.; ELMORE-MEEGAN, M. *Solar Disinfection of drinking water contained in plastic bottles: characterizing the bacterial inactivation process*. Journal of Applied Microbiology; Vol. 84, Nº 6, p. 1138–1148, 1998.

MCGUIGAN, K. G.; MÉNDEZ-HERMIDA, F.; CASTRO-HERMIDA, J. A.; ARES-MAZÁS, E.; KEHOE, S. C.; BOYLE, M.; SICHEL, C.; FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P.; MEYER, B. P.; RAMALINGHAM, S.; MEYER, E. A. *Batch solar disinfection inactivates oocysts of *Cryptosporidium parvum* and cysts of *Giardia muris* in drinking water*. Journal of Applied Microbiology, 101, p. 453-463, 2006.

MCLOUGHLIN, O. A.; KEHOE, S. C.; MCGUIGAN, K. G.; DUFFY, E. F.; TOUATI, F. A.; GERNJAK, W.; ALBEROLA, I. O.; RODRÍGUEZ, S. M.; GILL, L. W. *Solar disinfection of contaminated water: a comparison of three small-scale reactors*. Solar Energy, 77, p. 657-664, 2004.

MIAGOSTOVICH, M. P.; FERREIRA, F. F.; GUIMARÃES, F. R.; FUMIAN, T. M.; DINIZ-MENDES, L.; M.; LUZ, S. L. B.; SILVA, L. S.; LEITE, J. P. *Molecular Detection and characterization of gastroenteritis virus occurring naturally in the stream waters of Manaus, Central Amazônia, Brazil*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 74, Nº 2, p. 375-382, 2008.

MOREIRA, M. J.; PATERNIANI, J. E. S. *Desinfecção de efluentes com tratamento terciário utilizando energia solar (SODIS): avaliação do uso do dispositivo para concentração dos raios solares*. Engenharia Sanitária e Ambiental, Vol.10, Nº1, p. 9-13, 2005a.

MOREIRA, M. J.; PATERNIANI, J. E. S. *Uso de garrafas PET e energia solar na desinfecção de águas em comunidades rurais*. Engenharia ambiental, Espírito Santo do Pinhal, Vol. 2, Nº 1, p. 60-69, 2005b.

MTAPURI-ZINYOWERA, S.; MIDZI, N.; MUCHANETA-KUBARA, C. E.; SIMBINI, T.; MDULUZA, T. *Impact of solar radiation in disinfecting drinking water contaminated with *Giardia duodenalis* and *Entamoeba histolytica/dispar* at a point-of-use water treatment*. Journal of Applied Microbiology, 106, p. 847-852, 2009.

MUÑOZ, J. E. C.; VILLANUEVA, S. V. *Inactivación y recrecimiento de enterobacterias en agua de consumo humano tratada con radiación solar*. In: XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México, 27 a 31 de outubro, 2002.

NAVARRO, L. *Determinación de la eficiencia del método SODIS en la inactivación de Escherichia coli y colifagos*. Tesis, Universidad Mayor de San Simón. Centro de Aguas y Saneamiento Ambiental, Cochabamba, Bolívia, 2004.

OATES, P. M.; SHANAHAN, P.; POLZ, M. F. *Solar disinfection (SODIS): simulation of solar radiation for global assessment and application for point-of-use water treatment in Haiti*. Water Research, 37, p. 47-54, 2003.

OKUNO, E.; VILELA, M. A. C. *Radiação ultravioleta: características e efeitos*. Temas Atuais de Física. 1ª ed. – São Paulo: Editora Livraria da Física: Sociedade Brasileira de Física, 2005.

PAEPE, M.; TADDEI, F. *Viruses' life history: towards a mechanistic basis of a Trade-Off between survival and reproduction among phages*. PLoS Biology, Vol. 4, Nº 7, p. 193, 2006.

PASCOAL, S. A.; LIMA, C. A. P.; SOUSA, J. T.; LIMA, G. G. C.; VIEIRA, F. F. *Aplicação de radiação UV artificial e solar no tratamento fotocatalítico de efluentes de curtume*. Química Nova, Vol. 30, Nº 5, p. 1082-1087, 2007.

RODRIGUES, C. P.; ZIOLLI, R. L.; GUIMARÃES, J. R.; FIGUEIREDO, R. F. *Descontaminação bacteriológica de água de abastecimento por meio de fotocatalise heterogênea utilizando luz solar*. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001.

RUTJES, S. A.; ITALIAANDER, R.; BERG, H. H.; LODDER, W. J.; HUSMAN, A. M.; *Isolation and detection of enterovirus RNA from large-volume water samples by using the Nuclisens miniMAG System and real-time nucleic acid sequence-based amplification*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 71, Nº 7, p. 3734-3740, 2005.

SAITOH, T. S.; EL-GHETANY, H. H. *A Pilot Solar water disinfecting system: performance analysis and testing*. Solar Energy, Vol. 72, Nº 3, p. 261-269, 2002.

SANTOS, J. G.; GARRIDO, M. M.; CORRÊA, R. A. *Desinfecção solar da água: a influência da temperatura da água para a segurança no tratamento domiciliar*. In: 7º Simpósio da ABCMAC – Associação Brasileira de Captação e Manejo de Água de Chuva. Caruaru, Pernambuco. 28 de setembro a 01 de outubro de 2009.

SCHMID, P.; KOHLER, M.; MEIERHOFER, R.; LUZI, S.; WEGELIN, M. *Does the reuse of PET bottles during solar water disinfection pose a health risk due to the migration of plasticisers and other chemicals into the water?* Water Research, V. 42, Nº20, p. 5054-5060, 2008.

SODIS. *Manual de treinamento para divulgação do SODIS*. Suíça, 2006. Disponível em: [www.sodis.ch/files/TrainingManual\\_Port\\_sm.pdf](http://www.sodis.ch/files/TrainingManual_Port_sm.pdf). Acesso em 15/9/2008.

SOUZA, J. B.; SARTORI, L.; DANIEL, L. A. *Influência da cor e turbidez na desinfecção de abastecimento utilizando-se cloro e radiação ultravioleta*. In: XXVII

Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre, Brasil, 3 a 8 de dezembro, 2000.

TAVARES, T. M.; CARDOSO, D. D.; BRITO, W. M. *Vírus entéricos veiculados por água: aspectos microbiológicos e de controle de qualidade da água*. Revista de Patologia Tropical, Vol. 43, p. 85-104, 2005.

UBOMBA-JASWA, E.; NAVNTOFT, C.; POLO-LÓPEZ, M. I.; FERNANDEZ-IBÁÑEZ, P.; MCGUIGAN, K. G. *Solar disinfection of drinking water (SODIS): an investigation of the effect of UV-A dose on inactivation efficiency*. Photochemical & Photobiological Sciences, V. 8, Nº 5, p. 587-595, 2009.

UNICEF. *Handbook on Water Quality. United Nations Children's Fund (UNICEF)*, New York, 2008. Disponível em: <http://www.unicef.org/wes>. Acesso em: 7/10/2008.

WEGELIN, M; CANONICA, S.; MECHSNER, K.; FLEISCHMANN, T.; PESARO, F.; METZLER, A. *Solar water disinfection: scope of the process and analysis of radiation experiments*. Journal of Water Supply: Research and Technology – Aqua, V.43, Nº 3, p.154-169, 1994.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION/UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND/WHO/UNICEF. *Global Water Supply and Sanitation Assessment 2000 Report*. Geneva, Suíça. Disponível em: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/monitoring/](http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/) Acesso em: 3 de outubro de 2009.

YATES, M. V.; GERBA, C. P.; KELLEY, L. M. *Virus persistence in groundwater*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 49, Nº 4, p. 778-781, 1985.