

**DESINFECÇÃO DE ÁGUAS PELO PROCESSO  
FOTOCATALÍTICO UTILIZANDO ELETRODOS  
TÉRMICOS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA  
INATIVAÇÃO DE *Escherichia coli* e *Staphylococcus  
aureus***

ANDREIA BETINA KREUSER DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Estadual  
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,  
Câmpus de Rio Claro, para a obtenção  
do título de Mestre em Ciências  
Biológicas (Area de Concentração:  
Microbiologia Aplicada)

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Julho de 2008

**DESINFECÇÃO DE ÁGUAS PELO PROCESSO  
FOTOCATALÍTICO UTILIZANDO ELETRODOS  
TÉRMICOS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA  
INATIVAÇÃO DE *Escherichia coli* e *Staphylococcus  
aureus***

**ANDREIA BETINA KREUSER DOS SANTOS**

**Orientador: Prof. Dr. EDERIO DINO BIDOIA**

**Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Estadual  
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,  
Câmpus de Rio Claro, para a obtenção  
do título de Mestre em Ciências  
Biológicas (Área de Concentração:  
Microbiologia Aplicada)**

**Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Julho de 2008**

*Ofereço este trabalho à minha mãe Carin Ilse Kreuser, meus irmãos Liziara Maria Kreuser dos Santos e Henrique César Kreuser dos Santos, minha sobrinha Sophia Kreuser Shunha e ao meu namorado Ricardo Rossi, que me deram muito apoio e carinho durante a minha caminhada.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à minha mãe Carin, meus irmãos Liziara e Henrique pelo apoio que me deram para que eu chegasse até aqui.

Agradeço ao meu amor Ricardo pelo carinho, paciência e companheirismo durante esse período da minha vida.

Agradeço ao meu orientador Ederio Dino Bidoia por ter me acompanhado durante este percurso, do começo ao fim, orientando, auxiliando e tirando minhas dúvidas.

Agradeço ao professor Pião pelo auxílio nas análises estatísticas e a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica.

Agradeço a Maria Luíza que tanto me ajudou durante a parte experimental do meu trabalho.

Agradeço a todos meus amigos que estiveram comigo durante esta longa caminhada, desde a graduação até a pós-graduação.

Agradeço a UNESP pela oportunidade de poder ter uma formação de qualidade.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho se concretizasse.

## ÍNDICE

	Página
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUÇÃO .....	3
OBJETIVOS .....	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
MATERIAL E MÉTODOS.....	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
CONCLUSÕES .....	34
BIBLIOGRAFIA .....	35
APÊNDICE .....	45

## RESUMO

O tratamento adequado da água nas redes de abastecimento é de grande importância, para que doenças sejam evitadas. O processo tradicional mais utilizado para desinfecção de água é a cloração, porém esta vem causando sérios problemas, já que subprodutos são formados. Entre eles estão os trihalometanos, prejudiciais à saúde humana, por serem cancerígenos e mutagênicos.

Busca-se então, métodos alternativos de desinfecção da água para abastecimento público. Processos Oxidativos Avançados (POAs) são as chamadas “tecnologias limpas” e vêm sendo estudados para este fim, pois consistem na produção de radicais altamente oxidantes, que provocam a morte de microrganismos, sem deixar resíduos na água. Dentre os POAs estão os processos fotocatalíticos, que através de luz UV e um eletrodo semicondutor, produzem radicais hidroxila, capazes de inativar uma série de microrganismos.

No presente trabalho testamos o processo fotocatalítico, utilizando luz UV-A e eletrodos de  $\text{TiO}_2$  para verificar a eficiência da fotocatalise sobre a inativação das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Foi verificado que o processo é eficaz, sendo que sua eficiência pode ser significativamente melhorada quando o eletrodo é dopado com íons prata (aceptor de elétrons), promovendo a desinfecção total da água.

## ABSTRACT

The disinfection of water has great importance because illnesses transmitted by water are prevented by killing of pathogenic microorganisms. The traditional process used for water disinfection is the chlorination. However, the chlorination produces some problems when chlorine reacts with organic matters forming trihalomethanes. They are harmful to the health human and are carcinogenic and mutagenic.

Thus, alternative methods for water disinfection such as: the advanced oxidative processes (AOP), such as the photocatalytic can be considered a “clean technology” because it consists of the highly oxidative substances like the hydroxyl radicals that provoke the death of microorganisms without leaving chemicals residues in the water.

In the present work we tested the photocatalytic process using thermal TiO<sub>2</sub> electrodes that works a semiconductor surface to producing hydroxyl radicals when UV light incises on the surface. The radical are capable to inactivate many kinds of microorganisms. We tested two bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It was verified that the process is efficient to kill bacteria and its efficiency can significantly be improved when the electrode was doped with silver ions (acceptor of electrons) promoting a total disinfection of water.

## 1. INTRODUÇÃO

Todo ser vivo depende de recursos hídricos para sobreviver. Além do uso indispensável pelo homem para beber, a água é também utilizada para higiene pessoal e preparação de alimentos. Ressalta-se que toda a água destinada ao contato direto com o homem, deve apresentar um alto padrão de qualidade sanitária, devido ao risco de transmissão de doenças (MOTA, 1995).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2001), cerca de 2,4 bilhões de pessoas em todo o mundo não vivem em condições aceitáveis de saneamento, enquanto 1,1 bilhões de pessoas não têm sequer acesso a um adequado abastecimento de água. Devido a isto, 80% de todas as doenças que se alastram nos países em desenvolvimento são provenientes de água contaminada. Segundo a OMS, ocorrem no mundo 4 bilhões de casos de diarreia por ano, com 2,2 milhões de mortes, sendo a maioria crianças de até 5 anos de idade.

Doenças severas incluindo diarreia, colite hemorrágica, síndrome da uremia e trombocitopenia trombótica purpúrea são causadas por água contaminada pela bactéria *Escherichia coli*, (ECHEVERRIA et al., 1992; PAROS et al., 1993).

Assim, é de grande importância a aplicação de métodos adequados de desinfecção de água nas redes de abastecimento para que doenças sejam evitadas.

O processo tradicional mais utilizado para desinfecção de águas é a cloração, que consiste em adicionar na água cloro livre ( $\text{Cl}_2$ ), ou substâncias que o liberem, para que esse promova a desinfecção. Mas este método, apesar de econômico e eficaz, pode ter inúmeras desvantagens. A utilização de dióxido de cloro, clorito ou clorato como agentes desinfetantes, apresenta efeitos toxicológicos associados ao sistema hematopoético. Em experimentos com animais, tanto o clorito quanto o clorato, causaram forte estresse oxidativo das células vermelhas do sangue (CONDIE, 1990).

No entanto, a maior problemática da cloração está na formação de produtos resultantes da reação do cloro com compostos orgânicos presentes na água. Várias substâncias cloradas são formadas durante essas reações e algumas delas possuem efeito toxicológico comprovado, como é o caso de cloraminas e trihalometanos (CONDIE, 1990; MATSUNAGA et al., 1992; TOMINAGA e MIDIO, 1999). Tais substâncias possuem efeitos cancerígenos e mutagênico demonstrados em experimentos com cobaias tratadas com água clorada (CONDIE, 1990).

Várias alternativas têm sido propostas para controlar a formação de tais subprodutos, dentre elas o uso de oxidantes e desinfetantes alternativos ao cloro, como a utilização das chamadas “tecnologias limpas”, ou seja, tratamentos que promovam desinfecção sem deixar resíduos na água (PASCHOALATO et al, 2003).

Processos oxidativos avançados (POAs) são importantes métodos de tratamento, nos quais não é necessária a adição de componentes químicos à água, já que sua ação desinfetante ocorre devido à formação de radicais hidroxila (OH) altamente oxidantes (ALFANO et al., 2000; ANDREOZZI et al., 1999). Os radicais hidroxila são altamente reativos, podendo degradar a maioria das moléculas (BIGDA, 1995). Entre os principais processos oxidativos avançados estão a ozonização (podendo estar associada a pH elevado, ao peróxido de hidrogênio ou a luz UV), a fotocatalise oxidativa, e o sistema fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ ).

Fotocatalisadores utilizando dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) se mostraram muito eficientes para desinfecção de água, podendo ser utilizado como uma alternativa ao processo tradicional de tratamento de águas para abastecimento público (MATSUNAGA et al., 1985; BUTTERFIELD et al., 1997; BEMS et al., 1999). Isso porque durante o tratamento fotocatalítico, quando as partículas de dióxido de titânio são iluminadas por luz ultravioleta (UV) de comprimento de onda menor que 390 nm, são formados radicais hidroxila, altamente oxidantes para a célula bacteriana, provocando inativação destes microrganismos, além de transformar compostos tóxicos provenientes da desinfecção em componentes mais facilmente biodegradáveis.

Para tanto, é necessário que este método seja melhor estudado, a fim de se obter uma melhor eficácia durante o processo de desinfecção.

## 2. OBJETIVOS

O presente trabalho possui como principal objetivo maximizar o efeito do tratamento fotocatalítico, utilizando o potencial para drenagem eletrônica e conseqüente redução na recombinação entre lacunas e elétrons, além de testar variações do eletrodo térmico de Ti/TiO<sub>2</sub> utilizado durante o processo, a fim de verificar uma melhor eficiência sobre a inativação de *Escherichia coli* (bactéria Gram-negativa, principal indicadora de coliformes fecais em água) e *Staphylococcus aureus* (bactéria Gram-positiva, causadora de infecções).

Busca-se também um tratamento que além de eficiente seja econômico, já que as lâmpadas aqui utilizadas são de baixa potência e que não apresentam riscos para manipulações, pois são do tipo UV-A, não causando danos celulares. Além disso, não há necessidade de adição de substâncias químicas como co-adjuvantes no processo de desinfecção.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A possibilidade de contrair doenças pela água, foi há muito tempo registrada pelo homem. Medidas objetivando a melhoria da qualidade da água datam de 2000 a.C. Posteriormente, entre os séculos III e IV a.C., há menções efetuadas na antiga Grécia por Hipócrates, nas quais se reporta a importância da correta definição dos mananciais de abastecimento como forma de preservar a saúde da população (BAKER, 1949 apud LEAL, 2001).

A invenção do microscópio, na virada do século XVII, pelo cientista holandês Zacharias Jansen, possibilitou a descoberta de um mundo até então desconhecido dos microrganismos, potencializado pelas descrições das estruturas celulares da matéria viva por Robert Hooke, em 1664. Mas foi o trabalho de Anton Van Leeuwenhoek no ano de 1681 que se constituiu no grande marco da microbiologia. Leeuwenhoek, utilizando um microscópio que ele mesmo construiu, com incrível capacidade de ampliação para a época, de 200 vezes, reportou as primeiras descrições detalhadas de protozoários e bactérias presentes na água. Embora tais descobertas tenham ocorrido quase que simultaneamente, pouco se avançou em termos de compreensão da importância desses microrganismos ao longo dos 200 anos seguintes (MADIGAN et al., 1996).

Somente no século XIX a água foi reconhecida como meio de transmissão de doenças. Em 1849 o médico John Snow estabeleceu ser a água o meio pelo qual a cólera era transmitida ao ser humano (WHITE, 1986). Após os estudos de Snow, sucederam-se a identificação e a classificação de agentes patogênicos causadores de diversas doenças de veiculação hídrica, como a febre tifóide (1880), a cólera (1884), a disenteria (1898) e a febre paratifóide (1900).

A partir de então, a desinfecção tornou-se etapa necessária e obrigatória no tratamento de águas de abastecimento, garantindo à população condições de uso para o consumo sem riscos à saúde.

As técnicas de desinfecção foram desenvolvidas inicialmente nos Estados Unidos, principalmente a partir do século XIX, em que o cloro começou a ser utilizado no tratamento de água para abastecimento público (CHAMBERS, 1956; MACEDO, 2000). Este é o desinfetante mais utilizado mundialmente, pelo fato de apresentar vantagens significativas tais como alta eficiência, baixo custo, além de manter uma boa qualidade da água até o momento do consumo.

Entretanto, em meados de 1970, nos EUA e na Holanda, foram encontrados em águas de abastecimento subprodutos do processo de cloração, chamados de trihalometanos (THMs). Estudos subsequentes sugeriram que estas substâncias poderiam produzir efeitos adversos à saúde. Mais especificamente, estudos têm relacionado os trihalometanos com o aumento dos riscos de câncer de bexiga, cerebral (CANTOR et al., 1998) e colo-retal (HILDESHEIM et al., 1998), podendo resultar também em problemas no sistema reprodutivo (GALLAGHER et al., 1998 apud BORGES e GUIMARÃES, 2002). Ainda, em pesquisa realizada por Windham et al. (2003), foram observadas alterações no ciclo menstrual de mulheres, que podem estar associadas ao consumo de água com trihalometanos (THMs), sendo que tal alteração foi crescente com uma maior exposição aos THMs. Tais resultados sugerem que essa exposição pode afetar a função ovariana, o que deve ser verificado em estudos futuros.

A importância dos THMs em nível mundial prende-se ao fato de que, além de serem considerados carcinogênicos, são também indicadores da possível presença de outros compostos organoclorados (ácido acético clorado, haloacetoneitrilos, cloropicrin, clorofenóis, cloropropanonas), também resultantes do processo de cloração das águas e ainda mais perigosas do que os próprios THMs (GRAY, 1994).

Desde então, tem havido um esforço progressivo no sentido de restringir os limites permissíveis para a concentração de THMs em águas para fins de abastecimento público (BORGES e GUIMARÃES 2000), além de estudos à procura de métodos alternativos de desinfecção eficientes e que não deixem resíduos na água tratada.

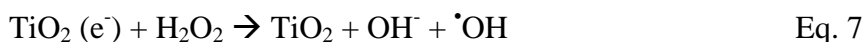
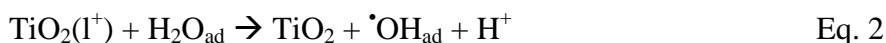
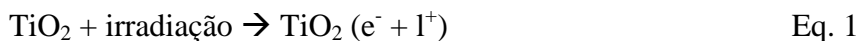
Dentre os novos processos estudados para desinfecção de água, estão os Processos Oxidativos Avançados (POAs), que consistem na geração de radicais hidroxila, os quais atuam como potentes agentes oxidantes sobre microrganismos e poluentes. Devido à sua alta reatividade ( $E^0 = 2,8 \text{ V}$ ), radicais hidroxila podem reagir com uma grande variedade de classes de compostos promovendo sua total mineralização para compostos inócuos como  $\text{CO}_2$  e água. Os POAs dividem-se em sistemas homogêneos e heterogêneos onde os radicais hidroxila são gerados com ou sem irradiação ultravioleta. Entre estes, pode-se citar os processos que envolvem a utilização de ozônio, peróxido de hidrogênio, decomposição catalítica de peróxido de hidrogênio em meio ácido (reação de Fenton ou foto-Fenton) e semicondutores como dióxido de titânio (fotocatálise heterogênea). Os princípios e aplicações destes processos foram detalhadamente revisados por Legrini et al. (1993) e Huang et al. (1993).

Entretanto, a principal desvantagem de processos que utilizam ozônio e peróxido de hidrogênio é o alto custo, inviabilizando formas de tratamento em larga escala, como por exemplo, o tratamento de água para abastecimento público (ESPLUGAS et al., 2002), o que não ocorre no caso da fotocatalise heterogênea.

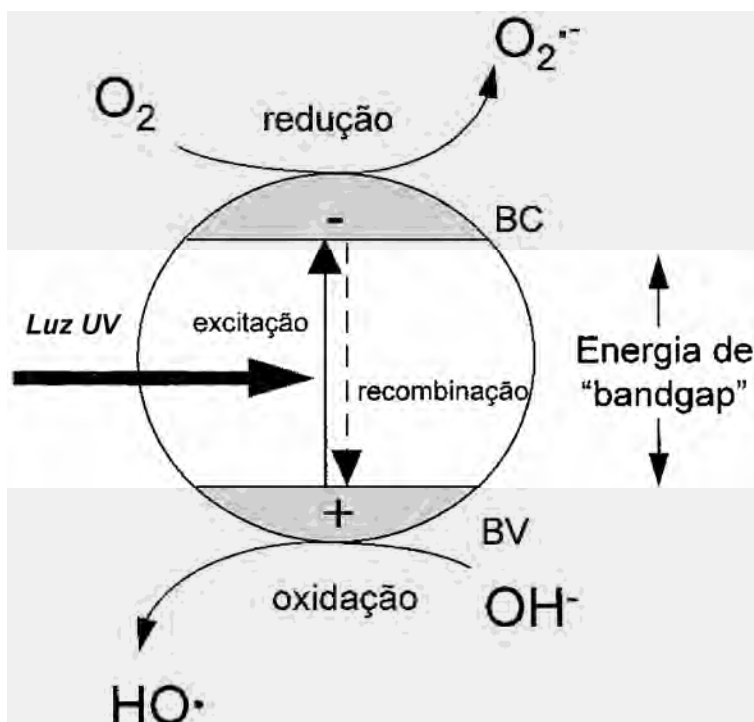
A fotocatalise heterogênea originou-se na década de setenta, quando pesquisas em células fotoeletroquímicas começaram a ser desenvolvidas com o objetivo de produção de combustíveis a partir de materiais baratos, visando a transformação da energia solar em química. Em 1972, um trabalho de Fujishima e Honda descreveu a oxidação da água em suspensão de  $\text{TiO}_2$  irradiado em uma célula fotoeletroquímica, gerando hidrogênio e oxigênio.

A partir desta época, muitas pesquisas foram dedicadas ao entendimento de processos fotocatalíticos envolvendo a oxidação da água e íons inorgânicos. A possibilidade de aplicação da fotocatalise à descontaminação foi explorada pela primeira vez em dois trabalhos de Pruden e Ollis (1983), onde foi demonstrada a total mineralização de clorofórmio e tricloroetileno para íons inorgânicos durante iluminação de suspensão de  $\text{TiO}_2$ . Desde então, a fotocatalise heterogênea vem atraindo grande interesse de diversos grupos de pesquisa de todo o mundo devido à sua potencialidade de aplicação como método de destruição de poluentes.

O princípio da fotocatalise heterogênea baseia-se na formação de radicais altamente oxidantes através de um semicondutor ativado por luz UV. Sob iluminação, os elétrons da superfície do eletrodo de  $\text{TiO}_2$  são excitados e se movem da camada de valência para a camada de condução. Dessa forma, a camada de valência fica carregada positivamente, em função da movimentação do elétron, criando uma lacuna, com carga positiva. Esta lacuna é capaz de provocar a oxidação da água ou íon hidróxido na superfície do semicondutor, levando à formação de radicais hidroxila. Os elétrons, por sua vez, podem ligar-se ao oxigênio e levar à formação de  $\text{O}_2^-$ , também com atividade bactericida. Contudo, a reação do elétron com o oxigênio acontece apenas quando o experimento é realizado sob aeração (BUTTERFIELD et al., 1997). As lacunas carregadas positivamente podem reagir com água ou íons hidróxido para formar os radicais hidroxila, assim como os elétrons reagem com oxigênio, podendo levar à geração indireta de radicais hidroxila, como mostrado na Figura 1 e nas equações de 1 a 7, a seguir (SRINIVASAN et al., 2003). Estes radicais são responsáveis pela oxidação de compostos tóxicos e pela morte de bactérias e outros microrganismos.



Entretanto, segundo Gerischer et al. (1993) e Mills et al. (1997), na ausência de um campo elétrico, ocorre uma rápida recombinação entre grande parte dos pares elétron/lacuna, fazendo com que mais de 95% da energia luminosa seja perdida na forma de calor. Quando isso ocorre, o processo fotocatalítico acaba sendo ineficiente, uma vez que a produção de radicais hidroxila acaba sendo insuficiente para desinfetar a água contaminada. Segundo os autores, o campo elétrico aplicado tem a função de deslocar os elétrons da banda de condução do eletrodo de  $\text{TiO}_2$  para o contra eletrodo.



**Figura 1:** Esquema da produção de agentes oxidantes na superfície do eletrodo de  $\text{TiO}_2$  durante o processo fotocatalítico. Sendo BV = banda de valência e BC = banda de condução.

Os elétrons assim deslocados são impedidos de se recombinarem novamente com as lacunas na superfície do eletrodo, fazendo com que todas as lacunas geradas fiquem disponíveis para reagir com a água, levando a uma maior produção de radicais hidroxila.

Outra alternativa para melhorar a eficiência do processo fotocatalítico seria a adição de íons aceptores de elétrons, como íons prata por exemplo, à superfície das partículas de  $\text{TiO}_2$  (VAMATHEVAN et al., 2002).

Além da ação bactericida, Crittenden et al. (1997) constatou que partículas de dióxido de titânio iluminadas por luz UV ou por luz solar, possuem também a propriedade de oxidar vários compostos orgânicos a  $\text{CO}_2$ .

Com relação aos eletrodos utilizados, Harper et al. (2001) e Christensen et al. (2003) compararam as eficiências de eletrodos térmicos e do tipo sol-gel. Em ambos, foi verificada a melhor eficiência dos eletrodos térmicos sobre a desinfecção de *E. coli*. Isso porque os eletrodos térmicos reagem melhor ao efeito de otimização provocado pelo campo elétrico, que diminui as taxas de recombinação elétron/lacuna. No eletrodo sol-

gel, as partículas são menores e muitas vezes, a aplicação do campo elétrico não é suficiente para diminuir as taxas de recombinação elétron/lacuna.

De acordo com Christensen et al. (2003), a espessura do filme de  $\text{TiO}_2$  sobre a superfície do eletrodo de Ti, exerce forte influência sobre a eficiência do tratamento fotoeletrolítico. Segundo os autores, se o filme sobre a superfície do eletrodo for muito grosso, as lacunas geradas estarão localizadas muito profundamente e dificilmente alcançam a superfície, diminuindo assim a oxidação de íons hidróxido. Por outro lado, se o filme for muito fino, uma quantidade pequena da luz incidente será absorvida, fazendo com que poucos radicais hidroxila sejam formados.

Entretanto, em estudos realizados por SPANHEL e ANDERSON (1990) e HOTCHANDANI e KAMAT (1992), comprovaram que filmes finos de semicondutores gerados de suspensões coloidais exibem propriedades interessantes e têm sido empregados para o desenvolvimento de superfícies fotoeletroquimicamente ativas sobre um suporte estacionário. Isso porque os filmes finos (particulados) possuem a habilidade de conservar as propriedades fotoquímicas das partículas semicondutoras individuais e, assim, reagir fotocataliticamente, com a mesma seletividade e eficiência, como nas partículas de semicondutores em suspensão (ANDERSON et al., 1988; LIU e KAMAT, 1993).

Byrne et al. (1999) utilizaram uma célula fotoeletroquímica para oxidação fotocatalítica de poluentes orgânicos. Uma vez que muitos resíduos gerados contêm metais pesados, estes devem ser recuperados por causarem danos ao ambiente. Utilizando dois compartimentos, um anódico e outro catódico, foi possível recuperar 97% do cobre presente na solução, além de fotooxidar o poluente orgânico. Assim, ele demonstrou a possibilidade de aliar o processo fotocatalítico à recuperação de metais pesados, diminuindo a probabilidade de descarga de resíduos tóxicos no ambiente, após tratamento.

Uma grande variedade de classes de compostos orgânicos tóxicos é passível de degradação por fotocatalise heterogênea. Na maior parte, a fotodegradação leva à total mineralização dos poluentes gerando  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e íons do heteroátomo presente. Algumas classes de compostos passíveis de degradação por fotocatalise são alcanos,

cloroalifáticos, álcoois, ácidos carboxílicos, fenóis, clorofenóis, herbicidas, surfactantes e corantes (HERMANN et al., 1991; PAPP et al., 1994; WANG et al., 1992).

Além de contaminantes orgânicos, compostos inorgânicos como HCN e H<sub>2</sub>S também são passíveis de fotooxidação, sendo destruídos com boa eficiência com relação aos métodos de oxidação convencionais (MIHAYLOV et al., 1993).

Radicais hidroxila gerados durante irradiação de TiO<sub>2</sub>, são capazes também de reagir com a maioria das moléculas biológicas, resultando numa atividade bactericida. O poder bactericida do TiO<sub>2</sub> foi comprovado na inativação de microorganismos tais como *Lactobacillus acidophilus*, *Sacharomyces cerevisiae* e *Escherichia Coli* (MATSUNAGA et al., 1985; IRELAND et al., 1993).

Experimentos realizados por Ibáñez et al. (2003) também comprovaram a influência do tratamento fotocatalítico sobre a inativação de *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhimurium*. Foi demonstrado que o tratamento fotocatalítico pode ser uma importante alternativa para desinfecção de microrganismos.

Muitos semicondutores como TiO<sub>2</sub>, CdS, ZnO, WO<sub>3</sub>, ZnS, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> podem agir como sensibilizadores em processos de oxidação e redução mediados pela luz devido à sua estrutura eletrônica. Entretanto, a combinação de fotoatividade e fotoestabilidade não é muitas vezes satisfeita, inviabilizando sua utilização em processos de descontaminação (WILLIAMS, 1960).

Entre os semicondutores, o TiO<sub>2</sub> é o mais amplamente estudado devido principalmente à sua não toxicidade, fotoestabilidade, estabilidade química em uma ampla faixa de pH, além do baixo custo e da possibilidade de poder ser ativado pela luz solar (NOGUEIRA et al., 1997). O TiO<sub>2</sub> existe em três formas alotrópicas, anatase, rutilo e brookite, sendo as duas primeiras as mais comuns. A forma rutilo é inativa para a fotodegradação de compostos orgânicos sendo que a razão para tal ainda não é totalmente esclarecida. No entanto, a baixa capacidade de adsorção de O<sub>2</sub> em sua superfície é apontada como um dos possíveis fatores (LEWIS e ROSENBLUTH, 1989).

Em aplicações práticas, o TiO<sub>2</sub> pode ser usado em suspensão ou, ainda, fixo sobre um suporte estacionário. Esse último procedimento torna a fotodegradação mais

prática, pois elimina as etapas de filtração, necessária quando o mesmo é utilizado em suspensão (HIDAKA et al., 1996; VINODIGOPAL et al., 1994).

Vários estudos sobre a utilização da fotoxidação catalítica com  $\text{TiO}_2$  foram realizados nas últimas décadas, aplicados ao tratamento de efluentes industriais e domésticos, de chorume e, mais recentemente, de emissões gasosas. A maioria desses estudos está voltada para o tratamento de efluentes industriais, todavia alguns pesquisadores utilizaram o processo para tratamento de esgoto sanitário (WATTS et al., 1995; LI et al., 1996; FREUDENHAMMER et al., 1997; DILLERT et al., 1998; MELIÁN et al., 2000).

Outra importante aplicação da fotocatalise heterogênea é a desinfecção de água de abastecimento, operação importante para o controle de doenças de veiculação hídrica, com a grande vantagem de não gerar subprodutos carcinogênicos tais como THMs, como pode ocorrer após o processo de cloração. Os primeiros estudos neste sentido foram realizados por Ireland et al. (1993), todavia Matthews (1986) já acenava com a possibilidade do uso da fotocatalise heterogênea com  $\text{TiO}_2$  na inativação de microrganismos.

Ireland et al. (1993) demonstraram a viabilidade de aplicação da fotocatalise com  $\text{TiO}_2$  para desinfecção de água. Na pesquisa foi avaliada a inativação de culturas puras de *Escherichia coli* em amostras de água de torneira previamente descloradas, e de coliformes totais em águas de superfície. Nas amostras com *E. coli*, em que o cloro foi removido por radiação UV, foi verificada inativação de 7 log ( $2 \times 10^9$  para  $2,6 \times 10^2$  UFC/100 mL) após 6 min de exposição ao processo fotocatalítico, e após 9 min de exposição foi detectado menos de 1 UFC/100 mL. Quando a descloração foi realizada com tiosulfato de sódio, pouca ou nenhuma inativação ocorreu, demonstrando que, provavelmente, os radicais hidroxila foram consumidos pelo tiosulfato inorgânico. Quanto aos coliformes totais nas amostras de águas superficiais com quantidade significativa de algas (lagoas) e COT em torno de 20 mg/L, a concentração de bactérias passou de  $1,7 \times 10^2$  para 1 UFC/100 mL após 6 min de exposição. Os pesquisadores ressaltaram o efeito negativo da matéria orgânica que compete com as bactérias pelo radical hidroxila. Também foram realizados experimentos com a adição de peróxido de

hidrogênio como receptor de elétrons, demonstrando a melhora significativa do processo de desinfecção.

Butterfield et al. (1997) utilizando um reator composto de filme de dióxido de titânio, realizaram desinfecção fotoeletroquímica da água, mostrando a possibilidade de eliminar microrganismos como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*. A aplicação de um campo elétrico permitiu maior eficiência na otimização do processo fotoeletroquímico. O reator removeu 100% de *E. coli* e uma boa quantidade de esporos de *C. perfringens*, em apenas 25 min, um tempo relativamente rápido.

Curtis et al. (2002) utilizaram dióxido de titânio imobilizado e uma fonte de potencial, a fim de verificar se esse tratamento era capaz de matar oocistos de *Cryptosporidium*. Foram utilizados dois tipos de eletrodo: o térmico e o sol-gel. O reator com o filme térmico obteve o melhor efeito e foi estatisticamente diferente do eletrodo sol-gel e dos controles. O reator sol-gel mostrou um aumento na permeabilidade do oocisto, mas não foi estatisticamente diferente do controle. O melhor desempenho do eletrodo térmico é devido à melhor conversão das lacunas em radicais hidroxila na superfície do catalisador.

Cordeiro et al. (2004) investigaram a inativação fotocatalítica com  $\text{TiO}_2$  em *E. coli* e *Pseudomonas sp.* O catalisador foi utilizado em suspensão sob irradiação UV. Foram testadas diferentes concentrações de  $\text{TiO}_2$ , intensidades de radiação, tempos de exposição e concentrações iniciais de microrganismos. A bactéria *E. coli* foi mais resistente ao processo do que *Pseudomonas sp.* As taxas de sobrevivência dos microrganismos diminuíram para a menor concentração celular inicial, maior intensidade luminosa, maior tempo de irradiação e maior concentração de  $\text{TiO}_2$ .

A eficiência do tratamento fotocatalítico utilizando  $\text{TiO}_2$  também foi comprovado por Ribeiro (2005), que demonstrou o efeito do processo sobre *E. coli* e *S. aureus*. Foi utilizado  $\text{TiO}_2$  em forma de pó e imobilizado sobre o eletrodo de Ti, sendo que o pó foi mais eficiente, porém foi notada dificuldade para a retirada deste da água após o término do tratamento.

Sunada et al. (1998) verificaram o efeito antibacteriano de um fino filme de  $\text{TiO}_2$ , na degradação fotocatalítica de uma endotoxina, constituinte pirogênico de *E. coli*. Quando as células de *E. coli* eram inativadas pelo catalisador, a endotoxina das

células também era degradada eficientemente. Esse resultado mostra que o catalisador tem atividade bactericida e atividade decompositora da endotoxina. Através do teste Limulus, foi verificado que o lipídeo A era decomposto pelo fotocatalisador. A degradação do lipídeo A mostrou que a endotoxina também era inativada.

De acordo com Blake et al. (1999), a morte de bactérias durante o processo fotoeletroquímico deve-se à produção de radicais hidroxila, que ao atacarem a membrana celular, ocasionam danos ao sítio da respiração celular aí localizado. Dessa maneira, o processo de respiração celular fica prejudicado. A combinação do dano da membrana celular, aliado ao posterior ataque oxidativo dos componentes celulares internos acabam provocando a morte das bactérias.

Maness et al. (1999) apresentaram a primeira evidência de que a reação de peroxidação lipídica era o mecanismo de morte das células de *E. coli*. A fotocatalise promoveu a peroxidação de componentes fosfolipídicos poliinsaturados da membrana lipídica, induzindo uma desordem celular. Posteriormente, funções essenciais que dependiam da membrana celular intacta, como a atividade respiratória, foram perdidas e por conseqüência, ocorreu morte celular.

Uma vez iniciada a peroxidação lipídica, a reação é propagada gerando um radical peróxi intermediário que, por si só, passa por peroxidação com outra molécula lipídica insaturada. As reações em seqüência levam à destruição da fase lipídica, constituinte da membrana celular. A alteração causada na arquitetura da membrana leva as mudanças conformacionais em muitas proteínas ligadas a ela, causando alterações em sua permeabilidade, permitindo que seus componentes internos também sejam atacados pelos radicais hidroxila. Tal fato foi comprovado por Huang et al. (2000), que demonstrou que as células continuam a perder sua viabilidade, mesmo depois da luz UV ter sido desligada.

Huang et al. (2000) desenvolveram um método sensível usando o-nitrofenol  $\beta$ -D-galactopiranosídeo como sonda e a *E. coli* como célula modelo. O tratamento de *E. coli* com  $\text{TiO}_2$  e luz UV resultou em aumento imediato na permeabilidade a pequenas moléculas como o-nitrofenol  $\beta$ -D-galactopiranosídeo e fuga de grandes moléculas como  $\beta$ -D-galactosidase, após 20 min. O dano da parede celular ocorreu em menos de 20 min, seguido por um dano progressivo da membrana citoplasmática e componentes

intracelulares. O dano da parede celular, seguido por dano da membrana citoplasmática, levaram a um ataque intracelular direto, sendo que as partículas menores de  $\text{TiO}_2$  causaram dano intracelular mais rapidamente. A bactéria *E. coli* foi induzida à produção de  $\beta$ -D-galactosidase, composto detectado pela sonda o-nitrofenol  $\beta$ -D-galactopiranosídio (ONPG). Sob condições normais, o ONPG tem pouca acessibilidade a  $\beta$ -D-galactosidase intracelular. O substrato ONPG difunde-se através da membrana externa e é transportado através da membrana citoplasmática, antes de reagir com  $\beta$ -D-galactosidase intracelular. Tanto o aumento na permeabilidade da membrana à ONPG quanto a perda de  $\beta$ -D-galactosidase para o exterior, podem demonstrar indícios de que está ocorrendo alterações na parede celular ou na membrana citoplasmática. Assim, quando a integridade do envelope celular fica comprometida, componentes intracelulares começam a sair da célula e partículas livres de  $\text{TiO}_2$  podem difundir na célula danificada e atacar diretamente os alvos secundários. Uma vez dentro da célula, os alvos do ataque fotocatalítico podem incluir enzimas e DNA.

Neste trabalho de Huang et al. (2000), foi demonstrado que células tratadas com  $\text{TiO}_2$  continuam a perder sua viabilidade, mesmo depois da luz UV ser desligada. Isso porque, provavelmente, certas reações letais continuam a se propagar mesmo depois de cessada a luz UV, pois elas continuam a ocorrer via peroxidação de lipídeos por cadeias de radicais livres.

Matsunaga et al. (1985) também atribui a inativação de microrganismos à inibição da respiração celular. Segundo o autor e seus colaboradores, ocorre oxidação da coenzima A pelas lacunas carregadas positivamente, levando à formação de CoA dimérico, detectado nas análises. Assim, a oxidação da CoA provocaria uma inibição da respiração celular, queda na atividade metabólica e conseqüente inativação das células.

Kühn et al. (2003) investigando a desinfecção de superfícies pelo processo  $\text{TiO}_2/\text{UV-A}$ , também concluíram que o ataque inicial do radical hidroxila aos microrganismos ocorre na parede celular.

Segundo Vieira (2002), esta técnica pode ter diferentes aplicações, especialmente em combinação com a energia solar, no tratamento de efluentes domésticos e industriais e ainda, na eliminação de bactérias presentes em águas destinadas ao consumo humano. Desta forma, a fotocatalise heterogênea com  $\text{TiO}_2$  é considerada uma tecnologia de

ponta, a qual só nas duas últimas décadas vem sendo estudada como aplicação na remediação ambiental, o que torna o tema com grandes possibilidades de ser explorado.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

##### Bactérias

Foram utilizadas bactérias *Escherichia coli* CCT1457 e *Staphylococcus aureus* ATCCE538, obtidas no Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP – Campus Rio Claro.

##### Meio de cultura

Os meios de cultura foram preparados de acordo com o DIFCO Manual (1984) da seguinte maneira:

Meio de cultura agar nutriente (AN) para *E. coli*:

- Extrato de carne 3,0 g;
- Peptona 10,0 g;
- Cloreto de sódio 1,5 g;
- Agar 15,0 g;
- Água destilada 1.000 mL

(Para o meio líquido não foi adicionado agar)

Meio de cultura brain heart infusion (BHI) para *S. aureus*:

- Preparado de BHI 37,0 g;
- Agar 15,0 g;
- Água destilada 1.000 mL

### Inóculo

Para a preparação do inóculo a ser utilizado no experimento, foram colocados 4 mL do estoque da bactéria em 36 mL de meio líquido (proporção 1 mL do estoque / 9 mL de meio líquido), sendo que este foi mantido por um período de 20 horas em estufa a 35°C sob agitação. Foram feitos dois inóculos consecutivos desta mesma forma. Posteriormente, foram centrifugados 5 mL do inóculo por 10 min a uma rotação de 80 rpm, com a finalidade de decantar as bactérias. Tal suspensão foi centrifugada e lavada por mais duas vezes com 5 mL de solução contendo Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,08 M. Para a realização do experimento, foram adicionados à uma célula fotoeletroquímica 0,4 mL da suspensão de bactérias juntamente com 250 mL da solução Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,08 M.

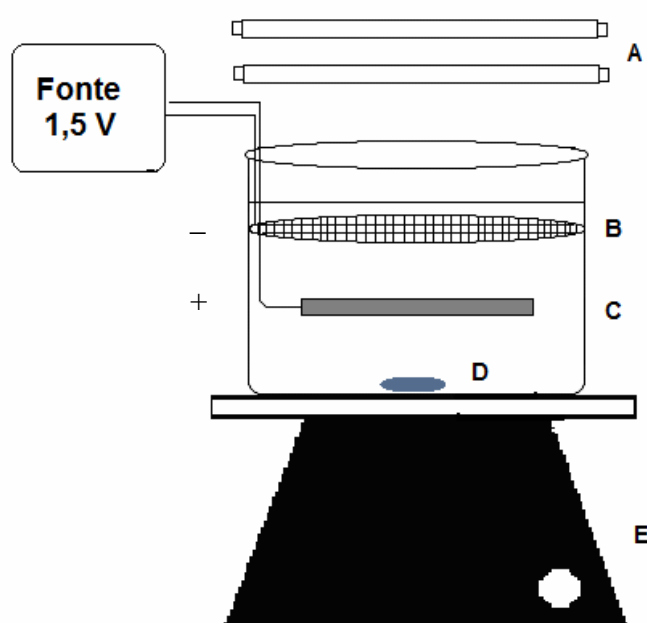
Este volume do inoculo (0,4 mL), foi obtido através de testes preliminares, com a finalidade de ser obtida uma contagem final de colônias dentro do intervalo de 30 a 300 UFC por placa, a partir do controle de cada experimento.

### Célula Fotoeletroquímica

O experimento foi realizado em uma célula fotoeletroquímica, sob agitação, por um período de 60 minutos.

A célula fotoeletroquímica foi composta por um eletrodo de trabalho que correspondeu a uma placa de titânio de 5 cm x 5 cm e por um contra eletrodo que por sua vez, correspondeu a uma rede também de titânio, com 8,5 cm de diâmetro. Para iluminação, foram utilizadas 2 lâmpadas UV-A (8 W cada uma), conforme mostrado na Figura 2.

Quanto à disposição dos eletrodos dentro da célula fotoeletroquímica, estes devem estar posicionados paralelamente à fonte luminosa, de forma que esta seja aproveitada da melhor forma possível. Para uma melhor absorção de luz pelo eletrodo de Ti/TiO<sub>2</sub>, a célula foi envolvida por papel alumínio, para que a face inferior do eletrodo também auxiliasse na produção de radicais hidroxila durante o processo fotocatalítico.



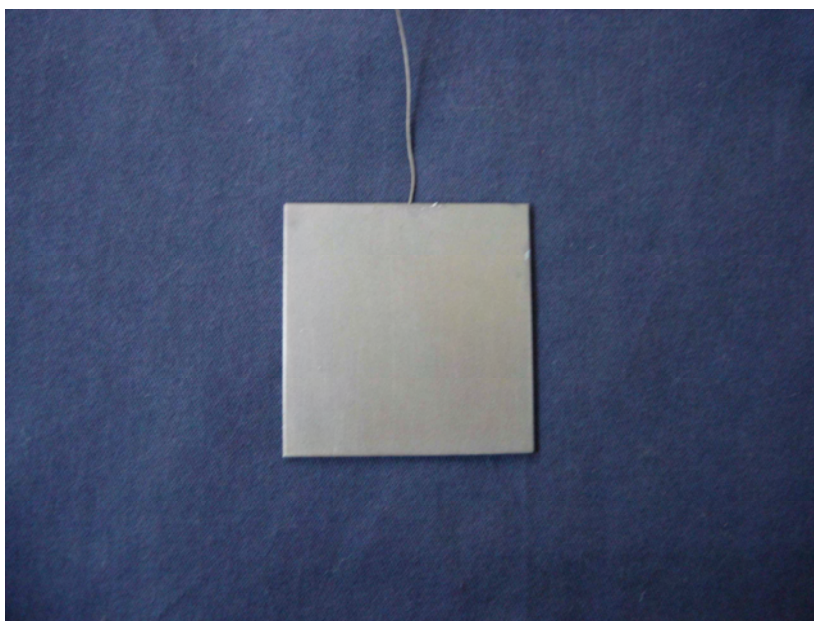
**Figura 2:** Célula fotoeletroquímica, formada por 2 lâmpadas do tipo UV-A (A), uma fonte de 1,5 V ligada ao contra-eletrodo de titânio (B) e ao eletrodo de trabalho formado por uma placa de Ti/TiO<sub>2</sub> (C). Barra magnética (D) e agitador magnético (E).

### Eletrodos

A preparação do eletrodo de trabalho envolveu o aquecimento em mufla da placa de titânio a uma temperatura de 750°C, para que o TiO<sub>2</sub> fosse formado em toda sua superfície (Figura 3).

Foram preparados 4 eletrodos, a fim de verificar a eficiência de cada um durante o processo fotocatalítico:

- Eletrodo 1: aquecimento por 10 min;
- Eletrodo 2: aquecimento por 05 min;
- Eletrodo 3: aquecimento por 15 min;
- Eletrodo 4: dopado com AgNO<sub>3</sub> e aquecido por 10 min.



**Figura 3:** Eletrodo 1 de Ti (5cm x 5cm) recoberto com óxido térmico de titânio (TiO<sub>2</sub>).

A preparação do eletrodo 4 ocorreu posteriormente aos testes utilizando os 3 primeiros, com a finalidade de saber qual era mais eficiente (no caso, o eletrodo de maior eficiência foi o 1), por essa razão, o eletrodo 4 foi aquecido por 10 min.

A dopagem do eletrodo de trabalho foi realizada em solução de AgNO<sub>3</sub> a 1,7%. O eletrodo foi inicialmente mergulhado na solução por aproximadamente 5 min e posteriormente levado à mufla à 750°C por 10 min. Em seguida, o eletrodo foi novamente mergulhado na mesma solução ainda quente. A Figura 4 mostra o eletrodo dopado com prata.

Para um melhor desempenho do processo fotocatalítico, foi aplicada uma voltagem de 1,5 V entre o eletrodo de trabalho (pólo positivo), que atuou como ânodo e o contra-eletrodo (pólo negativo), que atuou como catodo. Com o potencial positivo aplicado a placa de titânio (eletrodo de trabalho) os elétrons são retirados, reduzindo assim a recombinação das lacunas com os elétrons. A diminuição da recombinação aumenta a eficiência do eletrodo, pois as lacunas formam uma maior quantidade de radicais hidroxila, que irão atuar na inativação celular.



**Figura 4:** Eletrodo de Ti (5cm x 5cm) recoberto com TiO<sub>2</sub> e dopado com prata.

### Lâmpadas

Foram utilizadas duas lâmpadas luz negra do tipo UV-A, com potência 8W cada uma e comprimento de onda ( $\lambda$ ) entre 300 e 400 nm, com um pico em 380 nm.

### Processo Fotocatalítico

O experimento envolveu 4 etapas:

- 1ª etapa: controle sobre a sobrevivência das bactérias, em que nenhum tratamento foi aplicado, no decorrer de 60 min;
- 2ª etapa: aplicada apenas luz UV-A sobre as bactérias, para verificar se apenas a ação desta resultava em algum efeito sobre as colônias;
- 3ª etapa: aplicado apenas o potencial de 1,5 v sobre as bactérias, para verificar se apenas a ação deste causava algum efeito sobre as bactérias;
- 4ª etapa: foi aplicado o processo fotocatalítico sobre as bactérias, ou seja, luz UV e potencial ao mesmo tempo.

Para a verificação da ação do processo fotocatalítico sobre a morte das bactérias, foram coletadas amostras nos tempos 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min, as quais foram

diluídas em solução salina 0,85 m/v, nos fatores de diluição  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  e plaqueadas (pelo método Pour Plate) 1 mL das suspensões com diluição  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ , em meio AN para a *E. coli*. e  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  em meio BHI para *S. aureus*. As placas permaneceram em estufa a 35°C por um período de 24 h e só posteriormente as UFC foram contabilizadas. Cada experimento de plaqueamento foi realizado em triplicatas. Os valores das unidades formadoras de colônia (UFC) foram obtidos a partir da média aritmética destas triplicatas.

A contagem bacteriana baseou-se apenas na diluição  $10^{-4}$  para *E. coli* e  $10^{-5}$  para *S. aureus*. As outras diluições foram utilizadas apenas como parâmetro. A divergência da diluição utilizada para cada microrganismo deve-se ao fato da divisão celular de *S. aureus* ser mais rápida do que de *E. coli*, fazendo com que no mesmo volume em um mesmo período de tempo, seja encontrado um número bem maior de *S. aureus* do que de *E. coli*.

Para análise dos resultados, foram utilizadas as médias das triplicatas e a partir destas, foram calculadas as taxas de sobrevivência ( $n^{\circ}$  final /  $n^{\circ}$  inicial de colônias). Em seguida, foram realizadas análises de sobrevivência, através do método Log-Rank-Test (BioEstat).

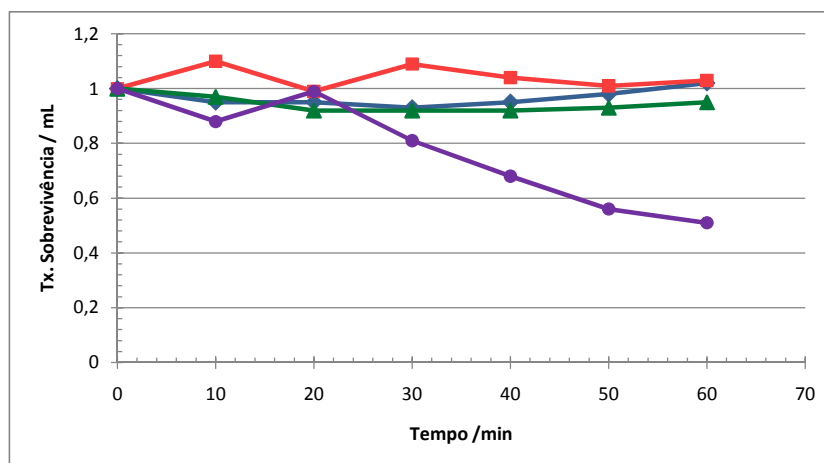
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificado que apenas a utilização de luz UV não inviabilizou as bactérias, pois mantiveram as taxas de sobrevivência semelhantes a do controle, em que nenhum tratamento foi aplicado. Isso se deve ao fato de que as lâmpadas utilizadas no experimento são do tipo UV-A, de baixa potência (8W) e com irradiação de baixa energia, não causando assim danos às células. Somente a aplicação do campo elétrico sobre os eletrodos também não ocasionou morte de células bacterianas, pela baixa voltagem e pequena corrente que foram aplicadas (1,5 V e 300  $\mu$ A). Entretanto, quando foram aplicados conjuntamente luz UV e o potencial de 1,5 V sobre os eletrodos (fotoeletrólise com eletrodo 1), verificou-se a queda significativa de cerca de 50% no número de colônias de *E. coli* com o passar de 60 min (Figura 5).

Para *S. aureus*, este mesmo tratamento fotocatalítico não obteve efeito, já que não houve redução significativa do número de colônias viáveis (Figura 6).

Tais resultados são devidos, provavelmente, à constituição e espessura da parede celular dos microrganismos testados. As bactérias Gram-positivas, como é o caso de *S. aureus*, apresentam sua membrana plasmática circundada por uma parede celular de 250 Å, composta de peptidoglicanos e ácidos teicóicos. As bactérias Gram-negativas, no caso de *E. coli*, embora apresentem uma estrutura mais complexa, onde a membrana plasmática é circundada por uma parede celular de peptidoglicano, seguida por uma membrana externa de proteínas, lipídeos e lipopolissacarídeos, essa estrutura é mais fina (Pelczar et al., 1997). No caso das Gram-negativas, a parede celular apresenta 30 Å de espessura e a membrana externa 80 Å, tornando-as, portanto, mais susceptíveis ao ataque

pelos radicais hidroxila, que acredita-se, ataquem primeiramente a parte mais externa das células, para depois destruírem componentes mais internos.

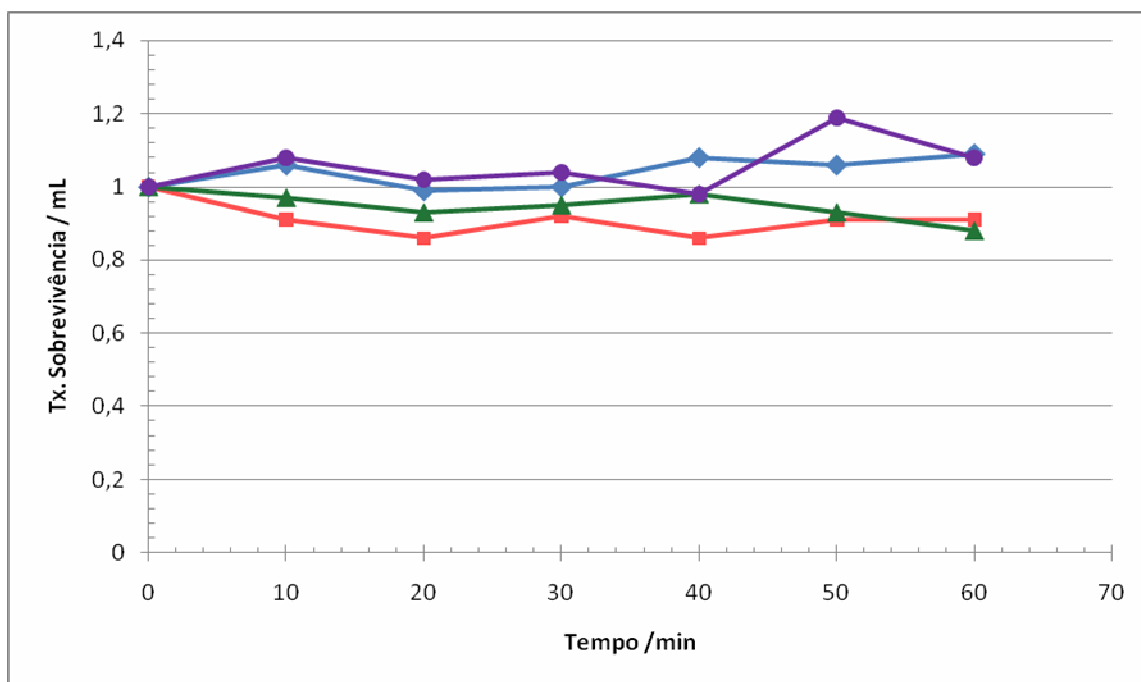


**Figura 5:** Fotocatálise com o eletrodo 1 de Ti/TiO<sub>2</sub>, aplicada à *E. coli*. (◆) Controle do processo fotocatalítico, (■) aplicação somente de luz UV, (▲) aplicação somente do potencial de 1,5 V e (●) processo fotocatalítico com aplicação conjunta de UV e potencial.

Os resultados vão ao encontro de Kim et al. (2003), que verificaram a fotocatalise sobre *Salmonella choleraesuis* e *Listeria monocytogenes*. Considerando-se que *S. choleraesuis* é um microrganismo Gram-negativo e *L. monocytogenes* é Gram-positiva, dá para fazer uma comparação com os resultados desse projeto, que verificou a fotocatalise sobre *E. coli* (Gram-negativa) e *S. aureus* (Gram-positivo). Nos experimentos de Kim et al., *L.monocytogenes* mostrou-se menos sensível à desinfecção do que *S. choleraesuis*, a exemplo dos resultados aqui obtidos, onde *S. aureus* mostrou-se menos sensível à fotocatalise do que *E. coli*.

Kühn et al. (2003) também obtiveram resultados semelhantes. Comparando a eficiência do tratamento fotocatalítico sobre uma superfície contaminada com vários microrganismos, verificaram que *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* mostraram-se mais sensíveis ao tratamento do que *S. aureus*, *Enterococcus faecium* e *Candida albicans* nessa seqüência. Isso porque *E. coli* e *P. aeruginosa*, por serem Gram-negativas,

apresentam uma parede celular menos espessa do que *S. aureus*, *E. faecium* (Gram-positivas) e *C. albicans* (eucarioto).



**Figura 6:** Fotocatálise com eletrodo 1, aplicada à *S. aureus*. (◆) Controle sem aplicação do processo fotocatalítico, (■) aplicação somente de luz UV, (▲) aplicação somente do potencial de 1,5 V e (●) processo fotocatalítico com aplicação conjunta de luz UV e potencial de 1,5 V.

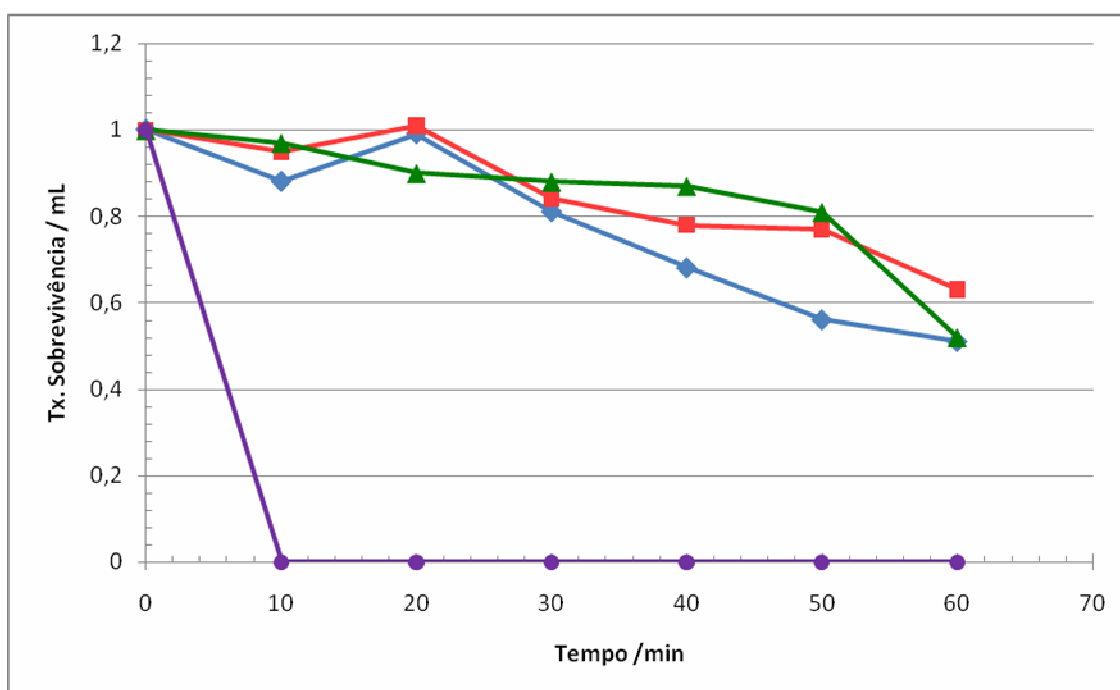
Rincón e Pulgarin (2004), trabalhando com um consórcio de bactérias normalmente presentes em águas naturais, verificaram a eficiência da fotocatalise, quando as bactérias estão em conjunto. Neste experimento foi observado que as bactérias *E. coli* foram mais sensíveis à fotocatalise, quando comparadas a outros microrganismos Gram-negativos, corroborando com os dados obtidos no trabalho aqui presente.

Além do fato dos microrganismos Gram-positivos apresentarem uma parede celular de estrutura diferente da parede dos Gram-negativos, outros fatores ainda podem influenciar. A cápsula de certas bactérias é muito viscosa e funciona como proteção à parede celular. Essa estrutura externa pode ser formada em resposta a estímulos ambientais, exercendo grande influência sobre sua sobrevivência durante o tratamento fotocatalítico. Este recurso adicional pode ter sido um outro fator responsável por uma

maior resistência do microrganismo Gram-positivo em relação ao Gram-negativo (Rincón e Pulgarin, 2004).

Fica claramente exposto que as bactérias Gram-negativas, por apresentarem uma parede celular menos espessa, foram mortas rapidamente, mostrando-se mais sensíveis ao tratamento.

Seguem resultados de comparação entre a eficiência dos 4 eletrodos preparados de  $\text{TiO}_2$ , utilizados durante o processo fotocatalítico aplicado a *E. coli*, conforme exposto na Figura 7.



**Figura 7:** Comparação entre os processos fotocatalíticos, aplicados à *E. coli*, utilizando os 4 tipos de eletrodos de  $\text{Ti/TiO}_2$ . (◆) Fotocatálise com eletrodo 1, (■) fotocatalálise com eletrodo 2, (▲) fotocatalálise com eletrodo 3 e (●) fotocatalálise com eletrodo 4.

Durante os experimentos com *E. coli*, foram testados inicialmente 3 eletrodos (eletrodos 1, 2 e 3) de  $\text{Ti/TiO}_2$ , preparados diferentemente quanto ao tempo de exposição à temperatura de  $750^\circ\text{C}$  (respectivamente, 10 min, 05 min e 15 min). Os resultados obtidos ao final dos 60 min mostram que para os 3 primeiros eletrodos a taxa de sobrevivência ( $n^\circ$  final/ $n^\circ$  inicial de colônias) semelhantes ( $0,51 \times 10^6$  ;  $0,63 \times 10^6$  e

0,52 x 10<sup>6</sup>, respectivamente) após o tratamento fotocatalítico. Mesmo não havendo diferença estatística entre os 3 eletrodos, foi observado que o menos eficiente foi o eletrodo 2, provavelmente pelo pouco tempo de exposição ao calor, fazendo com que a camada de óxido formada sobre o eletrodo fosse insuficiente para uma boa absorção da luz, prejudicando assim a formação dos radicais oxidantes, o que demonstra que a espessura do óxido formado sobre o eletrodo pode exercer uma pequena influencia na eficiência do processo fotocatalítico.

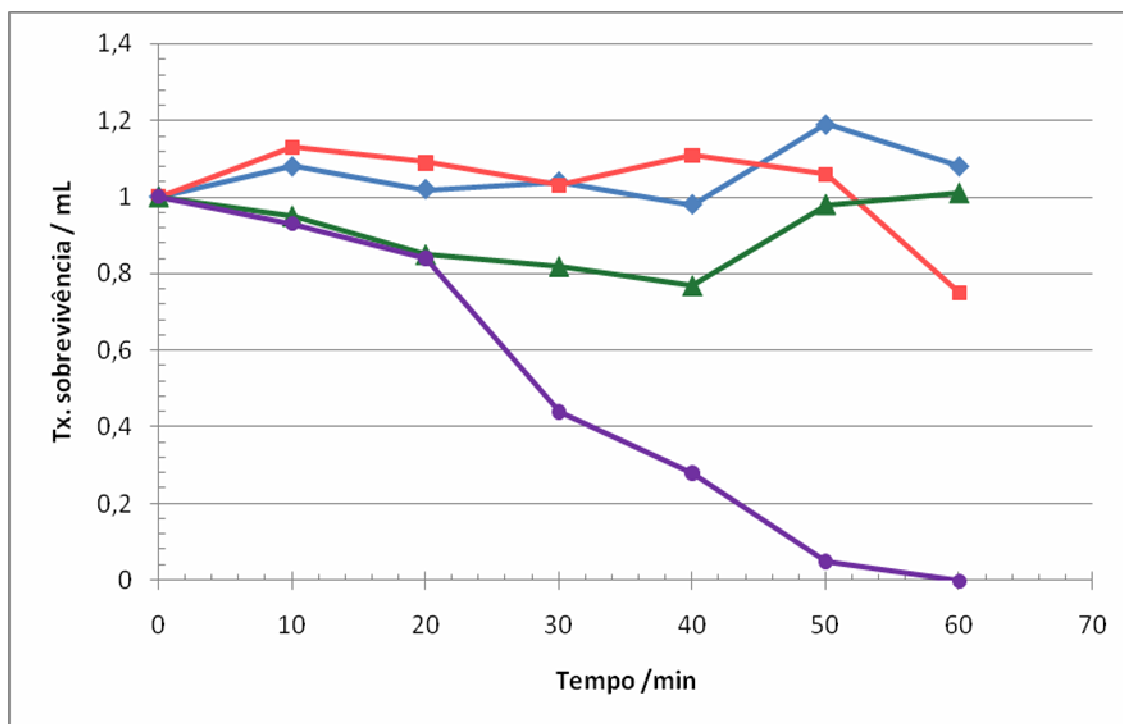
O eletrodo 4 foi preparado de acordo com o tempo de preparação do eletrodo de maior eficiência (eletrodo 1), ou seja, foi dopado com prata e aquecido por 10 min. Isso porque a prata é um íon acceptor de elétrons, o que segundo Vamathevan et al. (2002), dificulta a recombinação entre o par elétron/lacuna, fazendo com que a produção de radicais hidroxila seja otimizada. A dopagem do eletrodo de TiO<sub>2</sub> com prata provou ser determinante no processo fotoeletrolítico para a desinfecção da água, já que em apenas 10 min de experimento foram eliminadas 100% de colônias da bactéria *E. coli*.

Assim como demonstrado neste trabalho, alternativas para melhorar o desempenho do eletrodo durante o processo fotocatalítico também foram propostas por Ireland et al. (1993), que ao adicionar peróxido de hidrogênio sobre a desinfecção, constatou que este age como um acceptor de elétrons de forma irreversível, reduzindo a recombinação elétron/lacuna, produzindo uma maior quantidade de radicais hidroxila, aumentando a eficiência e rapidez do processo de desinfecção. Sugeriu que, outros íons aceptores de elétrons, como por exemplo Ag<sup>+</sup>, Cu<sup>+</sup>, entre outros, provavelmente, poderiam atuar da mesma maneira, impedindo a recombinação elétron/lacuna.

A utilização de íons cobre sobre filmes de TiO<sub>2</sub> foi estudada por Sunada et al. (2003), que assim como nos trabalhos acima citados, aumentou a inativação das bactérias. Foi observado que sob irradiação de baixa intensidade os radicais hidroxila gerados a partir das partículas de dióxido de titânio reagiriam com a parede celular e membrana plasmática de *E. coli*, levando a uma desestruturação e conseqüente queda na seletividade da membrana.

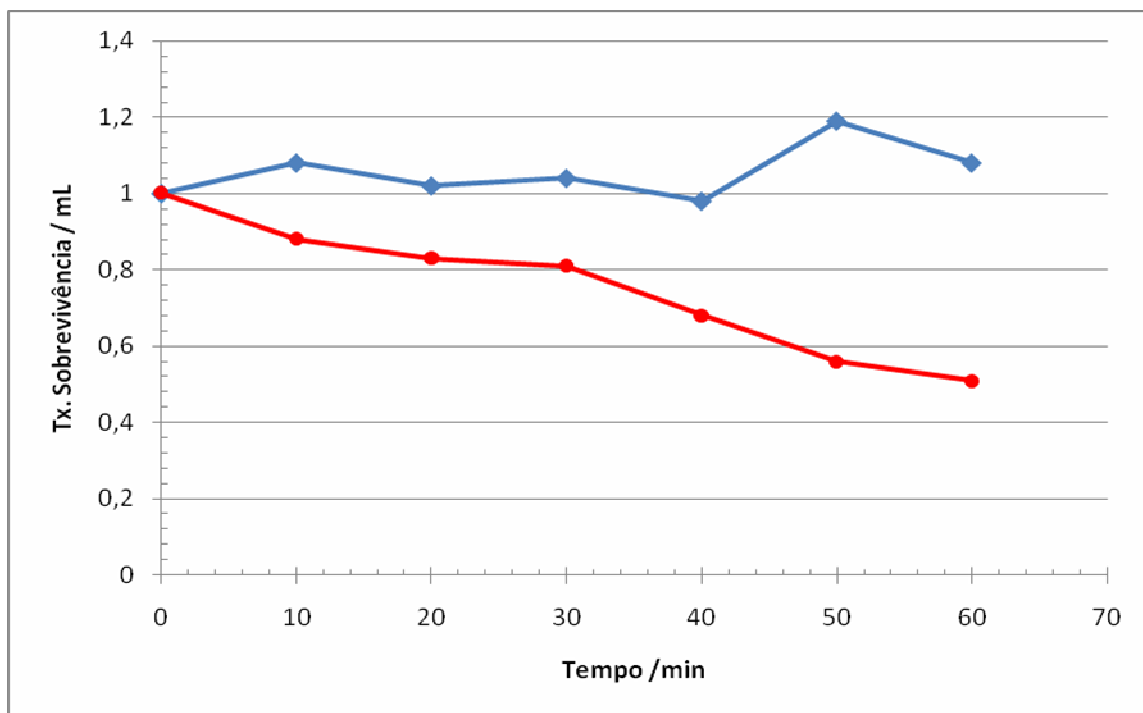
Nos experimentos realizados com *S. aureus* (Figura 8), apenas a fotocátalise utilizando o eletrodo 4 (dopado com AgNO<sub>3</sub>) foi significativamente eficiente, eliminando totalmente as colônias ao final de 60 min. Nos demais tratamentos com os

outros eletrodos, houve pouca redução de UFC/mL, sendo que esta não foi significativa. Este resultado reforça a idéia de que a utilização de eletrodos dopados com íons aceptores de elétrons contribui de forma decisiva para a eficiência do processo fotocatalítico até mesmo quando aplicados para eliminação de microrganismos mais resistentes.

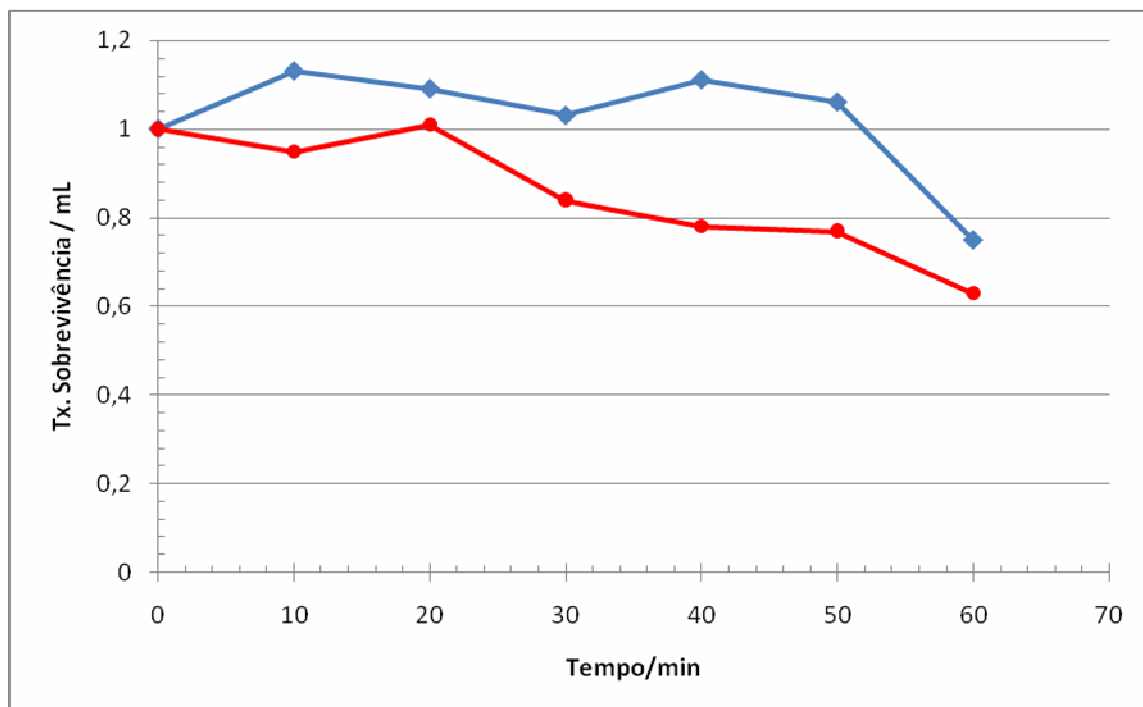


**Figura 8:** Comparação entre os processos fotocatalíticos, aplicados a *S. aureus*, utilizando os 4 tipos de eletrodo de Ti/TiO<sub>2</sub>. (◆) Fotocatálise com eletrodo 1, (■) fotocatalálise com eletrodo 2, (▲) fotocatalálise com eletrodo 3 e (●) fotocatalálise com eletrodo 4.

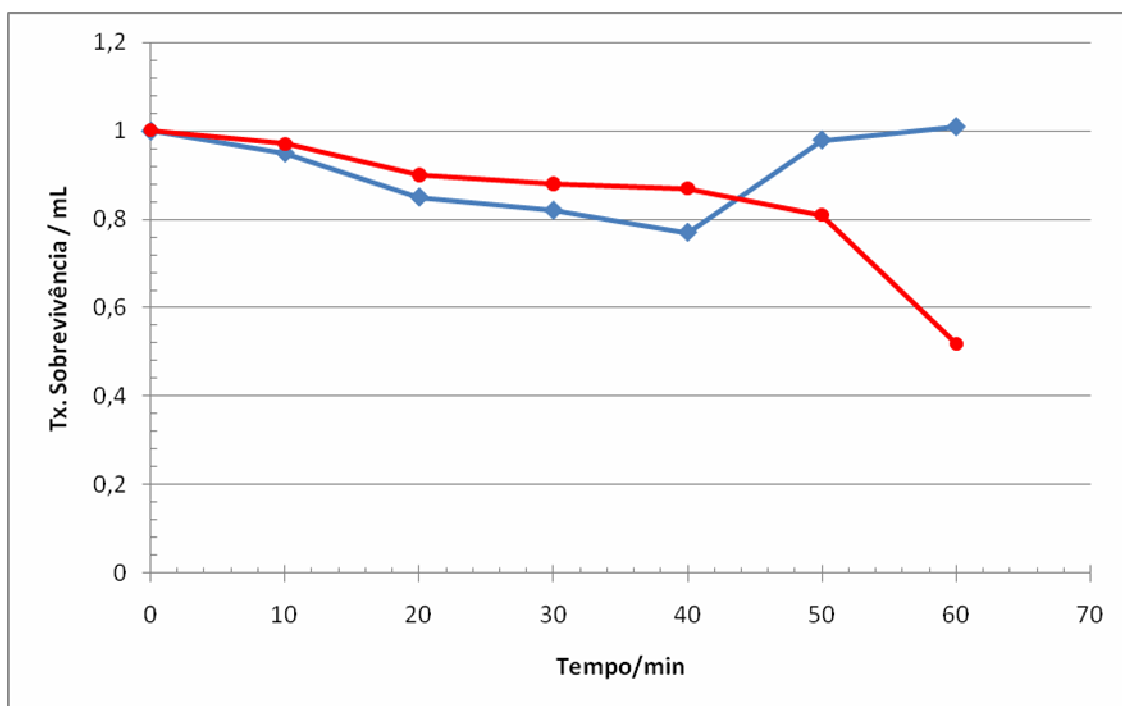
As Figura 9, 10, 11 e 12 mostram a comparação entre as taxas de sobrevivência de *E. coli* e *S. aureus*, de acordo com cada tratamento fotocatalítico aplicado. Em todas as situações estudadas, a bactéria *E. coli* mostrou-se mais sensível à fotocatalálise do que *S. aureus*. Este fato comprova que a sensibilidade ao processo fotocatalítico está diretamente relacionado com a espessura da parede celular das bactérias, como discutido anteriormente.



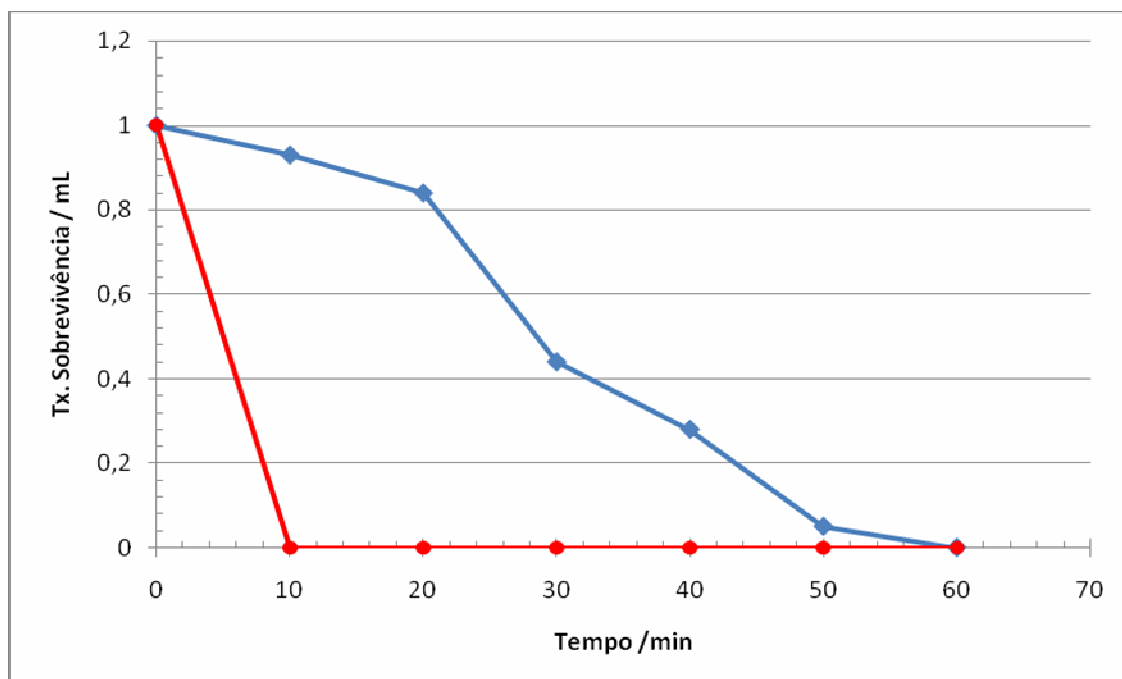
**Figura 9:** Fotocatálise com eletrodo 1 de Ti/TiO<sub>2</sub>, aplicada a (●) *E. coli* e (◆) *S. aureus*.



**Figura 10:** Fotocatálise com eletrodo 2 de Ti/TiO<sub>2</sub> aplicada a (●) *E. coli* e (◆) *S. aureus*.



**Figura 11:** Fotocatálise com eletrodo 3 de Ti/TiO<sub>2</sub>, aplicada a (●) *E. coli* e (◆) *S. aureus*.



**Figura 12:** Fotocatálise com eletrodo 4 de Ti/TiO<sub>2</sub> (dopado com AgNO<sub>3</sub>), aplicado a (●) *E. coli* e (◆) *S. aureus*.

Nota-se que a maior queda da taxa de sobrevivência, para os dois microrganismos, ocorreu após a fotocatalise em que o eletrodo dopado com prata foi utilizado, pois inviabilizou 100% de *E. coli* e *S. aureus*, promovendo total desinfecção da água. Possivelmente este resultado tenha ocorrido devido a uma maior produção de radicais hidroxila em decorrência de uma menor quantidade de recombinações entre o par elétron/lacuna. Entretanto, também é possível que a inviabilização dos microrganismos tenha ocorrido pela presença de íons  $\text{Ag}^+$  na água, já que estes possuem efeito bactericida.

Quanto ao custo financeiro do processo fotocatalítico aqui estudado, foi realizada uma simulação de viabilidade, em termos de aplicações práticas para a desinfecção de águas de abastecimento. Sabendo-se que foram utilizadas:

- Duas lâmpadas de 8W (16W no total)
- Fonte elétrica de  $V = 1,5 \text{ v}$  e  $i = 300\mu\text{A} \rightarrow P = V \times i = 4,5 \times 10^{-4} \text{ W}$  (desprezível).

Desta forma, a energia gasta será praticamente aquela utilizada pelas lâmpadas (potência elétrica foi de 16 W).

Se em 60 min de tratamento com eletrodo dopado com prata foi o tempo necessário para inviabilizar 100% de *S. aureus* (bactéria que demorou mais que *E. coli*), então:

$$\text{Energia Elétrica} = P \times t$$

$$\text{Energia Elétrica} = 16 \text{ W} \times 1 \text{ h}$$

$$\text{Energia Elétrica} = 16 \text{ Wh}$$

Assim se:

$$16 \text{ Wh} \text{ ----- } 0,250 \text{ L (volume utilizado para o tratamento)}$$

$$X \text{ ----- } 1000 \text{ L (=1 m}^3\text{)}$$

$$X = 64.000 \text{ Wh} = 64 \text{ kWh/m}^3$$

Se:

$$1 \text{ kWh} \text{ ----- } 29 \text{ centavos (ELEKTRO)}$$

$$64 \text{ kWh} \text{ ----- } Y$$

$$Y = 1.856 \text{ centavos} = 18,60 \text{ reais por m}^3 \text{ de tratamento}$$

Em geral, se compararmos o preço gasto com os tratamentos físico-químicos de água de abastecimento, que custam em torno de 0,1 centavo por litro (GUSMÃO, 2006), com o custo do processo fotocatalítico aqui estimado, este último acaba saindo mais caro. Porém, este custo pode ser reduzido, já que o tamanho do eletrodo utilizado (5 cm) não correspondeu ao tamanho da fonte luminosa (em torno de 30 cm de comprimento). Dessa forma, poderiam ser utilizados até 6 eletrodos para uma mesma fonte luminosa, o que possivelmente diminuiria o tempo de tratamento necessário para inviabilizar as bactérias, ou seja, 1/6 do custo calculado acima, que seria R\$ 3,10 o m<sup>3</sup> tratado. Ressalta-se que se fosse levado em conta apenas o tempo gasto para inviabilizar somente *E. coli*, (10 minutos para o melhor tratamento), o valor seria de R\$ 2,90 o m<sup>3</sup>. Assim, dentre os POAs, o processo fotocatalítico demonstra ser viável para o tratamento de águas nas redes de abastecimento, principalmente se utilizado em conjunto com o processo de cloração, como forma de eliminar a matéria orgânica presente na água, eliminando o problema dos subprodutos tóxicos, além de auxiliar na desinfecção da água.

Enfim, o processo fotocatalítico demonstrou ser eficiente sobre a desinfecção de água contaminada por vários gêneros de microrganismos, podendo ser facilmente aplicado para tal finalidade, já que se trata de um processo de fácil implantação, e de fácil manuseio, já que não oferece riscos à saúde humana. Ainda, talvez o principal benefício, é que tal processo não gera resíduos, contribuindo muito para a preservação do meio ambiente.

Entretanto, existe a necessidade de novos estudos com relação à reativação das bactérias após o tratamento fotocatalítico, já que alguns trabalhos como o de Wist et al. (2002) demonstraram que após a desinfecção fotoeletroquímica de água contaminada com bactérias, ocorreram novas proliferações após um período de 24 horas. Possivelmente este fato ocorreu devido à presença de bactérias resistentes que recuperaram seu crescimento quando em condições mais favoráveis ou devido às possíveis novas fontes de nutrientes obtidas a partir da modificação da matéria orgânica presente na água. Este trabalho sugere a falta de efeito residual das partículas de TiO<sub>2</sub> após cessada a irradiação. Tais resultados demonstram a necessidade de maiores estudos no período de pós-tratamento fotocatalítico neste sentido.

## 6. CONCLUSÕES

- O tratamento fotocatalítico mostrou-se eficiente para desinfecção de água contaminada por *E. coli* e *S. aureus*.
- O eletrodo que demonstrou maior eficiência para o processo de fotocatalise foi o eletrodo de Ti/TiO<sub>2</sub> dopado com prata, já que inviabilizou 100% das colônias de *E. coli* em 10 min de experimento, e 100% das colônias de *S. aureus* após 60 min.
- As colônias de *S. aureus* foram mais resistentes à fotocatalise do que *E. coli*. Sugere-se que tal fato ocorre devido à espessura da parede celular. Bactérias Gram-negativas apresentam sua parede celular com menor espessura, apesar de sua maior complexidade, quando comparada com a parede celular de bactérias Gram-positivas.
- Somente o processo fotocatalítico utilizando o eletrodo de Ti/TiO<sub>2</sub> dopado com prata foi capaz de inviabilizar colônias de *S. aureus*.
- O processo fotocatalítico aqui apresentado é de grande importância, já que é uma tecnologia limpa, pois não é necessária a adição de produtos químicos para auxiliar no processo de desinfecção.
- Trata-se de um processo que não causa riscos durante o manuseio, não gera resíduos tóxicos e é de fácil implantação e manutenção, podendo ser utilizado em conjunto com outros métodos de desinfecção de água.
- É necessário que novos estudos sejam realizados a fim de verificar os efeitos de reativação de microrganismos posteriormente ao tratamento.

## 7. BIBLIOGRAFIA

ALFANO, O.M.; BAHNEMANN, D.; CASSANO, A.E.; DOLLERT, R.; GOSLICH, R. Photocatalysis in water environments using artificial and solar light, **Catalysis Today**, v. 58, p. 199-230, 2000.

ANDERSON, M. A.; XU, Q.; GIESELMANN, M. J. Titania and alumina ceramic membranes. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v.39, n.3, p.243-258, dec.1988.

ANDREOZZI, R., CAPRIO, V., INSOLA, A., MARROTTA, R. Advanced oxidation process (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, v. 53, p. 51-59, 1999.

BAKER, M.N. (1949). The quest for pure water. In: LEAL, F.C.T. Contribuição ao estudo de remoção da cor natural no tratamento das águas de abastecimento. 155p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia – Universidade Federal de Minas Gerais, 2001.

BEMS, B.; JENTOFT, F.C.; SCHLÖGL, R. Photoinduced decomposition of nitrate in drinking water in the presence of titania and humic acids. **Applied Catalysis B: Environmental**, Berlin, v.20, n.2, p.155-163, 1999.

BIGDA, R. Consider Fenton's chemistry for wastewater treatment. **Chem. Eng. Prog.**, p. 62-66, 1995.

BLAKE, D.M.; MANESS, P.C.; HUANG, Z.; WOLFRUM, E.J.; HUANG, J.; JACOBY, W.A. Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and the killing of cancer cells. **Separation and Purification Methods**, Nova York, v.28, n.2, p. 1-50, 1999.

BLANCO-GÁLVEZ, J.; MALATO-RODRIGUEZ, S.; ESTRADA-GASCA, C.A.; BANDALA E.R.; GELOVER, S.; LEAL, T. In: Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogênea. Capítulo 3. Purificación de águas por fotocatalisis heterogênea: Estado del Arte, 2001.

BORGES, J.T.; GUIMARÃES, J.R. A cloração e o residual de cloro na água – uma abordagem polêmica. **Seminário Nacional de Microbiologia Aplicada ao Saneamento**. Vitória ES. Junho de 2000.

BUTTERFIELD, I.M.; CHRISTENSEN, P.A.; HAMNETT, A.; HOWARTH, A.; SHAW, K.E.; WALKER, G.M.; WALKER, S.A. Applied studies on immobilized titanium dioxide films as catalysts for the photoelectrochemical detoxification of water. **Journal of Applied Electrochemistry**, Londres, v.27, n.4, p. 385-395, 1997.

BYRNE, J.A.; EGGINS, B.R.; BYERS, W.; BROWN, N.M.D. Photoelectrochemical cell for the combined photocatalytic oxidation of organic pollutants and the recovery of metals from waste waters. **Applied Catalysis B: Environmental**, Amsterdam, v.20, n.2, p. L85-L89, 1999.

CANTOR, K.P.; LYNCH, C.F.; HILDESHEIM, M.E.; DOSEMECI, M.; LUBIN, J.; ALAVANJA, M.; CRAUN, G. Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. **Epidemiology**, v.9, p. 21-28, 1998.

CHAMBERS, C.W. A procedure for evaluating the efficiency of bactericidal agents. **J. Milk Food Technol.**, v.19, n.17, p. 183-187, 1956.

CHRISTENSEN, P.A.; CURTIS, T.P.; EGERTON, T.A.; KOSA, S.A.M., TINLIN, J.R. Photoelectrocatalytic and photocatalytic disinfection of *E.coli* suspensions by titanium dioxide. **Applied Catalysis B: Environmental**, Amsterdam, v.41, n.4, p. 1-16, 2003.

CONDIE, L. W. Toxicological effects associated with drinking water disinfectants and their byproducts. Em Joley, R. L.; Condie, I. W.; Johnson, J. D.; Kats, S; Minear, R. A.; Jacobs, V. A. Water Chlorination Chemistry, **Environmental Impact and Health Effects**, v.6, p. 281-291, 1990.

CORDEIRO, A.C.S.; LEITE, S.G.F.; DEZOTTI, M. Inativação por oxidação fotocatalítica de *Escherichia coli* e *Pseudomonas sp.* **Química Nova**, v. 27, nº 5, p. 689-94, 2004.

CRITTENDEN, J.C.; LIU, J.B.; HAND, D.W.; PERRAM, D.L. Photocatalytic oxidation of chlorinated hydrocarbons in water. **Water Research, Oxford**, v.31, n.3, p. 429-438, 1997.

CURTIS, T.P.; WALKER, G.; DOWLING, B.M.; CHRISTENSE, P.A. Fate of *Cryptosporidium* oocysts in na immobilised titanium dioxider reactor with electric field enhancement. **Water Research**, Oxford, v.31, n.1-3, p. 2410-2413, 2002.

DIFCO MANUAL. **Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology**. 10<sup>a</sup> ed., Difco Laboratories: Detroit, 1984.

DILLERT, R.; SIEMON, U.; BAHNEMANN, D. Photocatalytic Disinfection of Municipal Wastewater. **Chemical Engineering & Technology**, v.21, n.4, p.356-58, Apr. 1998.

ECHEVERRIA, P.; SETHABUTR, O.; SERICHANTALERGS, O.; LEXOMBOON, U.; TAMURA, K. *Shigella* and enterovasive *Escherichia coli* infections in households of children with dysentery in Bangkok. **J Infect. Dis**, v. 165, p. 144-7, 1992.

ESPLUGAS, S.; GIMENEZ, J.; CONTRERAS, S.; PASCUAL, E.; RODRIGUEZ, M. Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. **Water research**, v. 36, p. 1034-1042, 2002.

FREUDENHAMMER, H. Detoxification and recycling of wastewater by solar-catalytic treatment. **Water Science and Technology**, v.35, n.4, p. 149-56, 1997.

FUJISHIMA, A.; HONDA, K.. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. **Nature**, v. 238, p. 37-38, 1972.

GERISCHER, H. Photoelectrochemical catalysis of the oxidation of organic-molecules by oxygen on small semiconductor particles with TiO<sub>2</sub> as an example. **Electrochimica Acta**, Oxford, v. 38, n.1, p.3-9, 1993.

GRAY, N.F. Calidad del agua potable. **Zaragoza**: Acribia, 365p., 1994.

GUSMÃO, I.C.C.P.G. Uso de reator tipo camada delgada para desinfecção de águas de abastecimento contendo *E. coli*, *S. aureus* e *S. cerevisiae*. Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2006, 53 p., dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada).

HARPER, J.C.; CHRISTENSEN, P.A.; EGERTON, T.A.; CURTIS, T.P.; GUNLAZUARDI, J. Effect of catalyst type on the kinetics of the photoelectrochemical disinfection of water inoculated with *E.coli*. **Journal of Applied Electrochemistry**, Dordbrecht, v.31, n.6, p. 623-628, 2001.

HERRMANN, J. M.; MU, W.; PICHAT, P. Heterog. Catal. **Fine Chem.**, v. 2, 405 p., 1991.

HIDAKA, H.; NAGAOKA, H.; NOHARA, K.; SHIMURA, T.; HORIKOSHI, S.; ZHAO, J.; SERPONE, N. A mechanistic study of the photoelectrochemical oxidation of organic compounds on a TiO<sub>2</sub>/TCO particulate film electrode assembly. **Journal of Photochemistry and Photobiology A Chemistry**, Lausanne, v.98, n.1-2, p.73-78, 1996.

HILDESHEIM, M.E.; CANTOR, K.P.; LYNCH, C.F.; DOSEMECI, M.; LUBIN, J.; ALAVANJA, M.; CRAUN, G. Drinking water source and chlorination byproducts. II. Risk of colon and rectal cancers. **Epidemiology**, v.9, p. 29-35, 1998.

HOTCHANDANI, S.; KAMAT, P. V. Charge transfer processes in coupled semiconductor systems - photochemistry and photoelectrochemistry of the colloidal CDS-ZNO system. **Journal of Physical Chemistry**, Ithaca, v.96, n.16, p. 6834-6839, aug. 1992.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z.; Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Manag**, v. 13, p. 5-7, 1993.

HUANG, Z; MANESS, P.C; BLAKE, D.M; WOLFRUM, E.J; SMOLINKI, S.L; JACOBY, W.A. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v. 130, n. 2-3, p. 163-170, 2000.

IBÁÑEZ, J.A.; LITTER, M.I.; PIZARRO, R.A. – Photocatalytic bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> on *Enterobacter cloacae* Comparative study with other Gram (-) bacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v. 157, p. 81-85, 2003.

IRELAND, J.C.; KLOSTERMANN, P.; RICE, E.U.; CLARK, R.M. Inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 5, p. 1668-1670, 1993.

KIM, B.; KIM, D.; CHO, D.; CHO, S. Bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria. **Chemosphere**, Oxford, v.52, n.1, p. 277-281, 2003.

KÜHN, K.P.; CHABERNY, I.F.; MASSHOLDER, K.; STICHILER, M.; BENZ, V.W.; SONNTAG, H.G.; ERDINGER, L. Desinfection of surfaces by fotocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. **Chemosphere**, v. 53, p. 71-77, 2003.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A.M. Photochemical processes for water treatment. **Chem. Rev.**, v. 93, p. 671-698, 1993.

LEWIS, N.S.; ROSENBLUTH, M.L. In Photocatalysis: Fundamentals and Applications. New York, 45 p., 1989.

LI, X.Z.; ZHANG, M.; CHUA, H. Disinfection of municipal wastewater by sensitized photooxidation. **Water Science and Technology**, v.33, n.3, p. 111-18, 1996.

LIU, D.; KAMAT, P.V. Electrochemical rectification in CDSE + TiO<sub>2</sub> coupled semiconductor-films. **Journal of Electroanalytical Chemistr**, v. 347, n. 1-2, p. 451-456, 1993.

MACEDO, J.A.B. Águas & Águas. Belo Horizonte: **Ortfofarma**, 505p., 2000.

MADIGAN, M.T.; MARTNKO, J.M.; PARKER, J. Biology of microorganisms. 8. Ed. **Upper Saddle River**, Prentice – Hall Inc 875 p., 1996.

MANESS, P.C.; SMOLINSKI, S.; BLAKE, D.M. HUANG. Z.; WOLFRUM, E.J.; JACOBY, W.A. Bactericidal activity of photocatalytic TiO<sub>2</sub> reaction: toward an understanding of its killing mechanism. **Applied and Environmental Micorbiology**, Washington, v.65, n.9, p. 4094-4098, 1999.

MATSUNAGA, T.; NAKANOMO, S.; TAKAMUKU, T.; BURGESS, J. G.; NAKAMURA, N.; SODE, K. Disinfection of drinking water by using a novel electrochemical reactor employing carbon – cloth electrodes. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 58, n.2, p. 686-9, 1992.

MATSUNAGA, T.; TOMODA, R.; NAKAJIMA, T.; WAKE, H. Photoelectrochemical sterilization of microbial-cells by semiconductor powders. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 29, n. 1-2, p. 211-214, 1985.

MATTHEWS, R. W. Photo-oxidation of organic material in aqueous suspensions of titanium dioxide. **Water Research**, v.20, n.5, p. 569-78, 1986.

MELIÁN, J.A.H. et al. The photocatalytic disinfection of urban waste waters. **Chemosphere**, v.41, p. 323-27, 2000.

MIHAYLOV, B. V.; HENDRIX, J.; NELSON, J. H.; J. *Comparative catalytic activity of selected metal oxides and sulfides for the photooxidation of cyanide*, **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 72, p. 173-177, 1993.

MILLS, A.; LE HUNTE, S. An overview of semiconductor photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v.108, n.1, p. 1-35, 1997.

MOTA, S. *Preservação e Conservação de Recursos Hídricos*. 2ª Ed. Rio de Janeiro: ABES, 200p, 1995.

NOGUEIRA, R. F. P.; ALBERICI, R. M.; JARDIM, W. F. Heterogeneous photocatalysis: An emerging technology for remediation of VOC contaminated environments. *Ciência e Cultura* **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v.49, n.1-2, p. 14-24, Jan./Apr. 1997.

OMS, 2001. Monitoring Programme Global water supply and sanitation assessment report. Acessado em maio de 2008. Disponível em [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/Globassessment/GlobalTOC.htm](http://www.who.int/water_sanitation_health/Globassessment/GlobalTOC.htm)

PAPP, J.; SOLED, S.; DWIGHT, K.; WOLD, A. Surface acidify and photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub>, W<sub>03</sub>/TiO<sub>2</sub>, and MoO<sub>3</sub>/TiO<sub>2</sub> phatocatalysts. **Chem. Mater.**, v. 6, p. 496-500, 1994.

PAROS, M; TARR, P. I.; KIM, H; BESSER, T. E.; HANCOCK, D. D. A comparison of human and bovine *Escherichia coli* 0157:h7 isolates by toxin genotype, plasmid profile, and bacteriophage – restrinction fragment length polymorfism profile. **J infect Dis.**, v. 168, p. 1300-3, 1993.

PASCHOALATO, C.F.P.R.; BERNARDO, L.D.; FERREIRA, J.F. Demanda do cloro e permanganate de potassio para oxidação de substâncias húmicas e avaliação da formação de trihalometanos em água. In: **ABES – 22º Congresso Bras. De Eng. Sanitaria e Ambiental**. Joinville, 2003.

PELCZAR Jr, M.; CHAN E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia – Conceitos e aplicações**, v. 1, 1997.

PRUDEN, A. L.; OLLIS, D. F. Photoassisted heterogeneous catalysis: the degradation of trichloroethylene in water. **Environ. Sci. Technol.**, v.82, p. 404-417, 1983.

RIBEIRO, M.A. Avaliação da atividade fotocatalítica sobre a inativação de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae* utilizando dióxido de titânio, para aplicação em desinfecção de águas. Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2005, 52 p., dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada).

RINCÓN, A.; PULGARIN, C. Bactericidal action of illuminated TiO<sub>2</sub> on pure *Escherichia coli* and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and

assessment of the effective disinfection time. **Applied Catalysis B: Environmental**, Berlin, v.49, p. 99-112, 2004

SPANHEL, L.; ANDERSON, M. J. Synthesis of porous quantum-size CDS membranes - photoluminescence phase-shift and demodulation measurements. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v.112, n.6, p.2278-2284, mar. 1990.

SRINIVASAN, C.; SOMASUNDARM, N. – Bactericidal and detoxification effects of irradiation semiconductor catalyst, TiO<sub>2</sub>. **Current Science**, v. 85, n.10, p.1431-1438, 2003.

SUNADA, K.; KIKUCHI, Y.; HASHIMOTO, K.; FUJISHIMA, A. Bactericidal and detoxification effects of TiO<sub>2</sub> thin film photocatalysis. **Environmental Science and Technology**, Washington, v.32, n. 5, p. 726-728, 1998.

SUNADA, K.; WATANABE, T.; HASHIMOTO, K. – Bactericidal activity of copper-deposited TiO<sub>2</sub> thin film under weak UV light illumination. **Environmental Science and Technology**, Washington, v.37, p. 4785-4789, 2003.

TOMINAGA, M. Y.; MIDIO, A. F. Exposição humana a trihalometanos presentes em águas tratadas. **Revista Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 413-421, 1999.

VAMATHEVAN, V.; AMAL, R.; BEYDOUN, D.; LOW, G.; MCEVOY, S. Photocatalytic oxidation of organics in water using pure and silver-modified titanium dioxide particles. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v.148, n.1-3, p. 233-245, 2002.

VIEIRA, F.F. Análise teórica da transferência de massa em um reator fotocatalítico de película: solução via transformada integral. Tese de Doutorado, UFPB, João Pessoa. 2002.

VINODGOPAL, K.; STANFORD, U.; GRAY, K. A; KAMAT, P. V. Electrochemically assisted photocatalysis .2. The role of oxygen and reaction intermediates in the degradation of 4-chlorophenol on immobilized TiO<sub>2</sub> particulate films. **Journal of Physical Chemistry**, Ithaca, v.98, n.27, p.6797- 6803, jul. 1994.

WANG, C. M.; HELLER, A.; GERISCHER, H. Palladium catalysis of O<sub>2</sub> reduction by electrons accumulated on TiO<sub>2</sub> particles during photoassisted oxidation of organic compounds. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 114, p. 5230-5234, 1992.

WATTS, R. J. et al. Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent. **Water Research**, v.29, n.1, p. 95-100, Jan. 1995.

WINDHAM, G.C.; WALLER, K.; ANDERSON, M.; FENSTER, L.; MENDOLA, P.; SWAN, S. Chlorination by-products in drinking water and menstrual cycle function. **Environ Health Perspect**, p. 5922, 2003.

WHITE, G.C. Handbook of chlorination. Nova York, **Van Nostrand Reinhold Company**. Inc. 965p., 1986.

WILLIAMS, R. Process for the oxidation of materials in water at supercritical temperatures utilizing reaction rate enhancers. **J Phys. Chem.**, v.32, p. 1505-1510, 1960.

WIST, J.; SANABRIA, J.; DIEROLF, C.; TORRES, W.; PULGARIN, C. Evaluation of photocatalytic disinfection of crude water for drinking-water production. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v.147, n.3, p. 241-246, 2002.

## APÊNDICE

**Tabela 1:** Controle *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição  $10^{-4}$  de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência =  $n^{\circ}$  final de UFC/mL  $\div$   $n^{\circ}$  inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL ( $10^6$ )	Tx. Sobrev.
0	239	269	257	255	2,55	1
10	245	251	231	242	2,42	0,95
20	244	247	240	243	2,43	0,95
30	245	228	240	238	2,38	0,93
40	250	242	240	244	2,43	0,95
50	247	239	264	250	2,50	0,98
60	276	252	252	260	2,60	1,02

**Tabela 2:** Aplicação apenas de luz UV em *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição  $10^{-4}$  de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência =  $n^{\circ}$  final de UFC/mL  $\div$   $n^{\circ}$  inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL ( $10^6$ )	Tx. Sobrev.
0	168	199	179	182	1,82	1
10	212	189	201	201	2,01	1,10
20	178	178	186	181	1,81	0,99
30	206	177	215	199	1,99	1,09
40	188	167	212	189	1,89	1,04
50	185	182	186	184	1,84	1,01
60	172	196	194	187	1,87	1,03

**Tabela 3:** Aplicação apenas do potencial em *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição  $10^{-4}$  de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL ( $10^6$ )	Tx. Sobrev.
0	199	219	189	202	2,02	1
10	200	192	193	195	1,95	0,97
20	188	185	182	185	1,85	0,92
30	177	200	182	186	1,86	0,92
40	188	189	180	186	1,86	0,92
50	189	187	190	189	1,89	0,93
60	182	186	208	192	1,92	0,95

**Tabela 4:** Fotocatálise utilizando o eletrodo 1 de Ti/TiO<sub>2</sub> aplicada a *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição  $10^{-4}$  de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL ( $10^6$ )	Tx. Sobrev.
0	287	285	292	288	2,88	1
10	260	243	256	253	2,53	0,88
20	282	271	302	285	2,85	0,99
30	252	228	223	234	2,34	0,81
40	189	209	187	195	1,95	0,68
50	147	161	177	162	1,62	0,56
60	161	131	142	147	1,47	0,51

**Tabela 5:** Aplicação do processo fotocatalítico utilizando o eletrodo 2 de Ti/TiO<sub>2</sub> sobre *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-4</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>6</sup> )	Tx. Sobrev.
0	373	346	330	350	3,50	1
10	353	336	313	334	3,34	0,95
20	346	362	354	354	3,54	1,01
30	301	293	284	293	2,93	0,84
40	273	273	-	273	2,73	0,78
50	286	255	270	270	2,70	0,77
60	224	227	213	221	2,21	0,63

**Tabela 6:** Aplicação do processo fotocatalítico utilizando o eletrodo 3 de Ti/TiO<sub>2</sub> sobre *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-4</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>6</sup> )	Tx. Sobrev.
0	189	196	220	202	2,02	1
10	203	204	183	197	1,97	0,97
20	189	177	176	181	1,81	0,90
30	183	177	171	177	1,77	0,88
40	175	177	178	177	1,77	0,87
50	170	176	147	164	1,64	0,81
60	111	101	107	106	1,06	0,52

**Tabela 7:** Aplicação do processo fotocatalítico utilizando o eletrodo 4 de Ti/TiO<sub>2</sub> sobre *E. coli*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-4</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>6</sup> )	Tx. Sobrev.
0	110	118	137	122	1,22	1
10	1	0	0	0	0	0
20	1	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0

**Tabela 8:** Controle de *S. aureus*, sem aplicação do processo fotocatalítico. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-5</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tx. Sobrev.
0	180	167	152	166	1,66	1
10	176	173	179	176	1,76	1,06
20	155	175	165	165	1,65	0,99
30	162	181	156	166	1,66	1
40	179	174	185	179	1,79	1,08
50	156	194	178	176	1,76	1,06
60	163	194	189	182	1,82	1,09

**Tabela 9:** Aplicação apenas de luz UV sobre *S. aureus*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição  $10^{-5}$  de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL ( $10^7$ )	Tx. Sobrev.
0	243	246	247	245	2,45	1
10	221	227	225	224	2,24	0,91
20	204	208	220	211	2,11	0,86
30	205	225	251	227	2,27	0,92
40	213	213	204	210	2,10	0,86
50	228	-	220	224	2,24	0,91
60	226	219	221	222	2,22	0,91

**Tabela 10:** Aplicação apenas do potencial a *S. aureus*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição  $10^{-5}$  de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL ( $10^7$ )	Tx. Sobrev.
0	138	152	158	149	1,49	1
10	142	145	147	145	1,45	0,97
20	132	153	128	138	1,38	0,93
30	122	150	150	141	1,41	0,95
40	143	148	148	146	1,46	0,98
50	131	143	140	138	1,38	0,93
60	134	130	128	131	1,31	0,88

**Tabela 11:** Fotocatalise aplicada a *S. aureus* utilizando o eletrodo 1 de Ti/TiO<sub>2</sub>. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-5</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tx. Sobrev.
0	195	200	187	194	1,94	1
10	219	203	206	209	2,09	1,08
20	187	223	183	198	1,98	1,02
30	198	204	202	201	2,01	1,04
40	200	188	183	190	1,90	0,98
50	211	221	217	216	2,16	1,11
60	228	214	189	210	2,10	1,08

**Tabela 12:** Aplicação do processo fotocatalítico utilizando o eletrodo 2 de Ti/TiO<sub>2</sub> sobre *S. aureus*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-5</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tx. Sobrev.
0	141	142	130	138	1,38	1
10	164	147	158	156	1,56	1,13
20	144	173	136	151	1,51	1,09
30	147	133	145	142	1,42	1,03
40	135	171	156	154	1,54	1,11
50	121	194	123	146	1,46	1,06
60	103	112	93	103	1,03	0,75

**Tabela 13:** Aplicação do processo fotocatalítico utilizando o eletrodo 3 de Ti/TiO<sub>2</sub> sobre *S. aureus*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-5</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tx. Sobrev.
0	189	174	145	169	1,69	1
10	172	144	166	161	1,61	0,95
20	142	155	134	144	1,41	0,85
30	145	136	137	139	1,39	0,82
40	140	130	121	130	1,30	0,77
50	-	174	160	167	1,67	0,98
60	155	181	176	171	1,71	1,01

**Tabela 14:** Aplicação do processo fotocatalítico utilizando o eletrodo 4 de Ti/TiO<sub>2</sub> sobre *S. aureus*. Sendo P1, P2 e P3 o plaqueamento em triplicata da diluição 10<sup>-5</sup> de cada período de tempo e MP a média dos plaqueamentos. Taxa de sobrevivência = n° final de UFC/mL ÷ n° inicial de UFC/mL.

Tempo (min)	P 1 (UFC)	P 2 (UFC)	P 3 (UFC)	M P (UFC)	UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tx. Sobrev.
0	136	146	144	142	1,42	1
10	139	124	-	132	1,32	0,93
20	124	133	103	120	1,20	0,84
30	64	77	48	63	0,63	0,44
40	40	55	24	40	0,40	0,28
50	4	12	7	7	0,07	0,05
60	0	0	0	0	0	0

**Tabela 15:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *E. coli*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si.

Tratamentos	Controle x Luz UV	Controle x Potencial	Controle x Fotocatálise 1
<b>P</b>	0,8356	0,9716	0,0006
<b>Resultado</b>	Não diferem	Não diferem	Diferem

**Tabela 16:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *E. coli*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si.

Tratam.	Controle x Fotocatálise 2	Controle x Fotocatálise 3	Controle x Fotocatálise 4
<b>P</b>	0,0286	0,0057	0,0001
<b>Resultado</b>	Diferem	Diferem	Diferem

**Tabela 17:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *E. coli*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si. Sendo fotocatalise com eletrodo 1 (F1), fotocatalise com eletrodo 2 (F2), fotocatalise com eletrodo 3 (F3) e fotocatalise com eletrodo 4 (F4).

Tratam.	F1 x F2	F1 x F3	F1 x F4	F2 x F3	F2 x F4	F3 x F4
<b>P</b>	0,2035	0,4153	0,0001	0,6292	0,0001	0,0001
<b>Resultado</b>	Não diferem	Não diferem	Diferem	Não diferem	Diferem	Diferem

**Tabela 18:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *S. aureus*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si.

Tratamentos	Controle x Luz UV	Controle x Potencial	Controle x Fotocatálise 1
<b>P</b>	0,6288	0,6123	0,9457
<b>Resultado</b>	Não diferem	Não diferem	Não diferem

**Tabela 19:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *S. aureus*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si.

Tratam.	Controle x Fotocatálise 2	Controle x Fotocatálise 3	Controle x Fotocatálise 4
<b>P</b>	0,1873	0,1777	0,0001
<b>Resultado</b>	Não diferem	Não diferem	Diferem

**Tabela 20:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *S. aureus*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si. Sendo fotocatalise com eletrodo 1 (F1), fotocatalise com eletrodo 2 (F2), fotocatalise com eletrodo 3 (F3) e fotocatalise com eletrodo 4 (F4).

Tratam.	F1 x F2	F1 x F3	F1 x F4	F2 x F3	F2 x F4	F3 x F4
<b>P</b>	0,2247	0,2105	0,001	0,9348	0,0001	0,0001
<b>Resultado</b>	Não diferem	Não diferem	Diferem	Não diferem	Diferem	Diferem

**Tabela 21:** Análise de sobrevivência – Log-Rank-Test (BioEstat) aplicada sobre *E. coli* e *S. aureus*. Se  $P < 0,05$  = tratamentos diferem estatisticamente entre si; se  $P > 0,05$  = tratamentos não diferem estatisticamente entre si. Sendo fotocatalise com eletrodo 1 (F1), fotocatalise com eletrodo 2 (F2), fotocatalise com eletrodo 3 (F3) e fotocatalise com eletrodo 4 (F4). Comparação entre *E. coli* e *S. aureus* em cada tratamento.

Tratam.	F1	F2	F3	F4
<b>P</b>	0,0003	0,2317	0,1251	0,0001
<b>Resultado</b>	Diferem	Não diferem	Não diferem	Diferem