

**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**

MARCELA ALVES RIBEIRO

**Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade Estadual Paulista “Julio de
Mesquita Filho”, Campus 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
Outubro de 2005**

**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**

MARCELA ALVES RIBEIRO

Orientador: Prof. Dr. EDERIO DINO BIDOIA

**Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade Estadual Paulista “Julio de
Mesquita Filho”, Campus 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
Outubro de 2005**

Agradecimentos

- Primeiramente agradeço a Deus, por ter me dado forças e tranqüilidade para o término deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia, pela orientação e amizade. Agradeço também pela oportunidade e pela confiança depositadas em mim;
- Aos meus pais, pelo apoio e incentivo;
- Ao meu irmão Márcio, pelas discussões a respeito do trabalho e pela ajuda em várias etapas;
- Aos amigos: Thelma, Inês, Adriana, Renatha e Beto pela amizade, discussões produtivas e pelos milhares de favores, que muito me ajudaram;
- Às técnicas: Luiza, pela ajuda e dicas e à Fátima, pelo fornecimento das cepas de bactérias;
- Aos técnicos dos Institutos de Geociências (UNESP), Física (USP-São Carlos) e Agronomia (Esalq-Piracicaba), por terem aberto as portas de seus respectivos laboratórios, contribuindo para o desenvolvimento de algumas etapas deste trabalho;
- Às funcionárias da biblioteca, pela ajuda na obtenção de várias informações;
- Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, pela atenção e esclarecimento de várias dúvidas a respeito do curso;
- A todas as pessoas do Departamento de Microbiologia, que de uma forma ou de outra muito colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho, recebendo-me com muita simpatia e tratando-me com muito respeito, sempre dispostos a ajudar.

RESUMO

O tratamento fotocatalítico é uma importante alternativa à desinfecção de águas, uma vez que os métodos tradicionalmente utilizados, como a cloração, levam à produção de compostos tóxicos ao ser humano, como os trihalometanos. Quando um semicondutor é iluminado com luz ultravioleta, ocorre a formação de radicais hidroxila, responsáveis pelo processo de desinfecção. Neste trabalho, utilizamos dióxido de titânio em pó e um eletrodo de dióxido de titânio como semicondutores, testando suas eficiências sobre a inativação de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae*. O dióxido de titânio em pó, com exceção de *Staphylococcus aureus*, apresentou uma maior eficiência que o filme de dióxido de titânio.

ABSTRACT

The photocatalytic treatment is an important alternative to water disinfection, once the traditional methods like chlorination leads to the production of toxic compounds to humans, for example, the trihalomethanes. When a semiconductor is illuminated with ultraviolet irradiation, hydroxyl radicals are generated which are responsible for water disinfection. In this work, we used titanium dioxide powder and a titanium dioxide film as semiconductors and we studied its efficiencies on the killing of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Saccharomyces cerevisiae*. The suspension of titanium dioxide powder showed a better efficiency than titanium dioxide film except for *Staphylococcus aureus*.

ÍNDICE

	Página
1.INTRODUÇÃO	1
2.OBJETIVOS	6
3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1.Mecanismos de ação microbícida	15
3.2.Cuidados com o sistema fotoeletroquímico	18
4.MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1.Preparação do inóculo de bactérias e leveduras	20
4.1.1.Bactérias	20
4.1.2.Leveduras	21
4.2.Tratamento fotocatalítico	21
4.3.Contagem do número de bactérias	23
4.4.Contagem do número de leveduras	23
4.5.Caracterização das partículas de dióxido de titânio e das fontes de irradiação	23
5.RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1.Caracterização das partículas de dióxido de titânio	25
5.2.Caracterização das lâmpadas do tipo luz negra e germicida	28
5.3.Desinfecção fotocatalítica e fotoeletroquímica de <i>Escherichia coli</i>	29
5.4.Desinfecção fotocatalítica de <i>Escherichia coli</i> utilizando lâmpada de 15 W germicida	36
5.5.Desinfecção fotocatalítica e fotoeletroquímica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ..	37
5.6.Efeitos da concentração do sulfato de sódio sobre <i>Bacillus subtilis</i>	39
5.7.Desinfecção fotocatalítica e fotoeletroquímica de <i>Staphylococcus aureus</i>	41
5.8.Comparação dos três microrganismos quanto à sensibilidade aos processos de desinfecção.....	43
5.9.Modelos cinéticos dos processos de desinfecção em <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	46
5.10.Vantagens do processo fotocatalítico	48
6.CONCLUSÕES	50
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1-INTRODUÇÃO

Há uma preocupação crescente em desenvolver novas tecnologias para um melhor tratamento da água, principalmente aquela destinada ao consumo humano. Os métodos tradicionais empregados, como cloração, por exemplo, têm sido contestados. A adição de íons cloro à água pode levar à formação de substâncias tóxicas, prejudiciais ao ser humano. Dentre estas, podemos destacar os trihalometanos, compostos orgânicos mutagênicos. Além disso, a cloração não é eficiente na desativação de alguns patógenos, como por exemplo, *Cryptosporidium* sp. (DUNLOP et al., 2002).

A ozonização é uma alternativa atrativa em substituição à cloração, uma vez que evita a formação de várias substâncias tóxicas, como os trihalometanos, sendo considerado um método economicamente inviável, uma vez que requer uma grande quantidade de energia para ser colocado em prática.

Segundo RAJESHWAR (1995), há basicamente 4 tipos de tratamentos alternativos que podem ser usados para desinfecção de águas, dentre os quais:

-Fotólise homogênea: aplica UV diretamente em soluções contendo oxidantes como H_2O_2 , ozônio;

-Fotólise heterogênea: envolve suspensões de semicondutores, que iluminadas geram OH radical na interface solução/fotocatalisador. Deve ser diferenciada da homogênea, onde o complexo organometálico está dissolvido na solução;

-Radiólise: radiação de alta energia (por exemplo, raios gama), usada para irradiar a água a ser tratada, com geração de radicais;

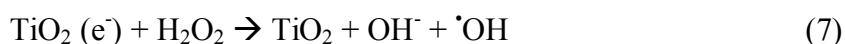
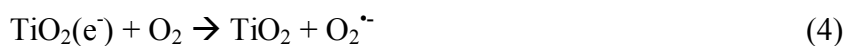
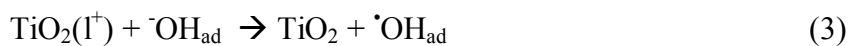
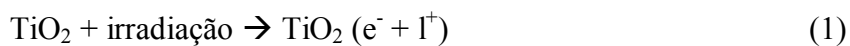
-Eletrólise indireta: radicais OH são gerados no escuro, na interface eletrodo/solução, contendo aditivos como H_2O_2 .

Este projeto apresenta como base a fotólise heterogênea, envolvendo a geração de radicais OH, que juntamente com a fotólise homogênea representa um exemplo de processo oxidativo avançado.

Os Processos Oxidativos Avançados (POA) são tecnologias alternativas que, embora façam uso de diferentes sistemas de reação, envolvem a geração de radicais hidroxila altamente oxidantes. Devido à alta reatividade, esses radicais podem reagir com uma grande variedade de compostos orgânicos (CORDEIRO et al., 2004).

Com base nos problemas mencionados, da geração de trihalometanos na cloração, uma alternativa para o tratamento da água seria a utilização de catalisadores fotoeletroquímicos, capazes de promover sua desintoxicação e desinfecção. Os fotocatalisadores utilizando dióxido de titânio (TiO_2) se mostraram muito eficientes para esse propósito (MATSUNAGA et al., 1985; BUTTERFIELD et al., 1997; BEMS et al., 1999; BYRNE et al., 1999; DUNLOP et al., 2002; VAMATHEVAN et al., 2002).

Quando as partículas de dióxido de titânio são iluminadas por luz ultravioleta (UV) de comprimento de onda menor que 390 nm, é formado um par elétron/lacuna. Sob iluminação, os elétrons 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 a 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, altamente oxidantes. Estes radicais são responsáveis pela oxidação de compostos tóxicos e pela morte de bactérias e outros microrganismos. Os elétrons, por sua vez, podem ligar-se ao oxigênio e levar à formação de O_2^- , também com atividade bactericida (Figura 1). Contudo, a reação do elétron com 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 (equações 1-7) (SRINIVASAN et al., 2003).



Segundo RAJESHWAR (1995), pode ocorrer ainda, principalmente em fotocatalise fase gasosa, o ataque direto do substrato orgânico pela lacuna, sem a presença de intermediários, como radicais hidroxila. Poluentes inorgânicos podem ser reduzidos a sua forma elementar e assim removidos, ou então podem ser convertidos a uma forma que seja menos prejudicial ao meio ambiente, em um diferente estado de oxidação.

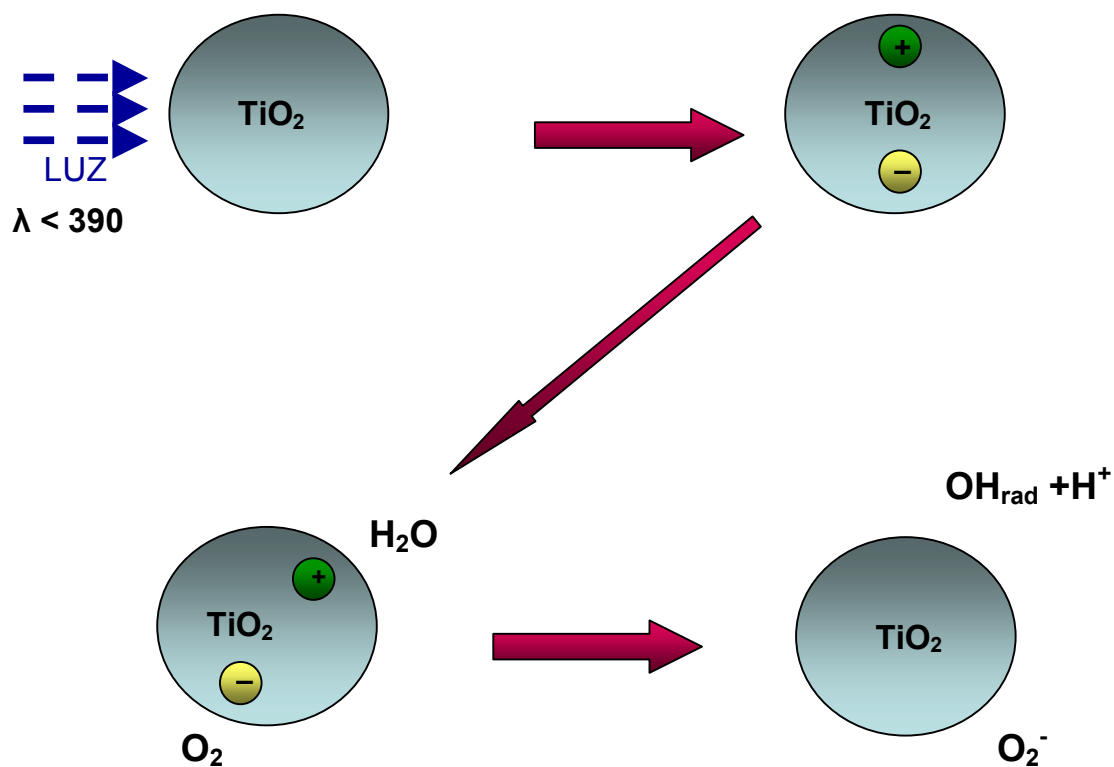


Figura 1: Esquema da formação elétron/lacuna e dos componentes ativos (OH_{rad} e O_2^-) no TiO_2 .

As partículas de dióxido de titânio são capazes de oxidar compostos orgânicos a CO_2 , água e ácidos minerais, quando iluminadas por luz UV ou luz solar. Dentre esses compostos, destacam-se: alcanos e alquenos clorados, fenóis, aromáticos, aldeídos, ácidos orgânicos e aminas (CRITTENDEN et al., 1997).

Na ausência de um campo elétrico, a maioria dos pares elétron/lacuna voltam a se combinar, fazendo com que mais de 95% da energia luminosa seja perdida na forma de calor (GERISCHER et al, 1993). Segundo MILLS et al. (1997), o processo de recombinação elétron/lacuna ocorre muito rapidamente, na ordem de menos de 10 ns, no caso de TiO_2 .

Quando isto acontece, o processo fotoeletroquímico acaba sendo ineficiente, uma vez que são produzidos poucos radicais hidroxila, responsáveis pela desinfecção da água.

A fim de diminuir as taxas de recombinação entre o par elétron/lacuna, uma série de alternativas podem ser empregadas. VAMATHEVAN et al. (2002) modificaram a superfície das partículas de dióxido de titânio com depósitos de íons prata. BUTTERFIELD et al. (1997) aplicaram um campo elétrico ao filme de dióxido de titânio. São alternativas para aumentar a produção de radicais hidroxila, aplicadas em dióxido de titânio sob diferentes condições (TiO_2 em suspensão no primeiro caso e TiO_2 como filme no segundo caso).

O uso mais antigo de TiO_2 foi na forma de pó, adicionado à água contaminada. A grande vantagem desse método é o ótimo transporte de massa. Contudo, se as partículas empregadas são muito finas, fica muito difícil removê-las da água purificada. A fim de minimizar esse problema, MATSUNAGA et al. (1988) imobilizaram o pó de TiO_2 em um substrato adequado, uma membrana de acetilcelulose. Essa metodologia permitiu maior eficiência, embora houvesse uma série de irregularidades na superfície do substrato. Além disso, a imobilização de TiO_2 diminuiu o transporte de massa.

BUTTERFIELD et al. (1997) desenvolveram um novo modelo, baseado em um filme de TiO_2 . Com esse novo método, os problemas de irregularidades no substrato e

de transporte de massa foram minimizados. Atualmente, é um modelo que se mostra eficiente e será empregado neste projeto.

Embora eficiente, o filme também apresenta alguns problemas. Se o filme é muito grosso, as lacunas geradas estão localizadas muito profundamente e dificilmente alcançam a superfície, diminuindo assim a oxidação de íons hidróxido. Por outro lado, se o filme é muito fino, uma quantidade pequena da luz incidente será absorvida (HARRISON et al., em <http://www.staff.ncl.ac.uk/p.a.christensen/bug1.htm>). Além disso, os semicondutores usados nas reações devem ser: fotoativos; capazes de utilizar luz visível e/ou UV; biologicamente e quimicamente inertes; fotoestáveis e de baixo custo (MILLS et al., 1997).

Em vista dos problemas já mencionados de recombinação do par elétron/lacuna, será utilizado um campo elétrico, a fim de aumentar a eficiência do processo fotocatalítico. A presença de um campo elétrico facilita a separação de cargas, criando um número crescente de pares elétron/lacuna, aumentando a produção de radicais hidroxila.

2- OBJETIVOS

Neste projeto, será utilizado dióxido de titânio, em presença de luz UV de baixa potência (16 W), para verificar a taxa de mortalidade de microrganismos em suspensão. Será aplicado um pequeno campo elétrico a fim de otimizar o processo fotocatalítico, através da drenagem eletrônica do semicondutor. O objetivo é verificar a mortalidade das bactérias *Staphylococcus aureus* (Gram-positivo), *Escherichia coli* (Gram-negativo) e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (eucarioto), ao longo do tempo, utilizando TiO_2 em suspensão como referência e eletrodos de TiO_2 num sistema fotoeletroquímico. A escolha destes microrganismos se deu devido às diferentes composições de suas paredes celulares, para que pudesse ser feita uma comparação de suas respostas frente ao tratamento.

Inicialmente, foi ainda verificada a resposta do microrganismo *Bacillus subtilis* frente a diferentes concentrações de Na_2SO_4 .

O processo fotoeletroquímico que será empregado pode ser uma importante alternativa para a desinfecção de águas de abastecimento.

O uso de lâmpadas de baixa potência permitirá menor gasto energético e diminuição no risco da manipulação do sistema fotoeletroquímico. O gasto energético corresponde a 30% dos custos dos sistemas usuais e neste trabalho o uso de luz de baixa potência permitirá reduzir consideravelmente o gasto de energia elétrica.

3-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Apesar do uso relativamente recente de dióxido de titânio em processos fotoeletroquímicos, a metodologia mostrou-se eficiente no processo de desinfecção de água. É possível, através desse modelo, oxidar compostos orgânicos e inviabilizar microrganismos, graças à geração de radical hidroxila altamente oxidante.

Segundo MILLS et al. (1997), foi durante a década de 60, que a maior parte da teoria fotoeletroquímica de semicondutores foi desenvolvida.

A primeira célula fotoeletroquímica para a quebra da água foi descrita por FUJISHIMA e HONDA em 1972, utilizando um fotoânodo de TiO_2 (rutilo) e um contra-eletrodo de platina. Esse trabalho foi desenvolvido em uma época onde havia grande interesse em desenvolver sistemas artificiais capazes de converter a energia solar em energia química ou elétrica. Esse trabalho teve grande destaque em 1973, com a crise do petróleo (MILLS et al., 1997).

Embora outros semicondutores (SnO_2 , WO_3 , ZnO , CdS , ZnS , SrTiO_3 e Fe_2O_3) tenham sido usados como fotoânodos para a fotoeletrólise da água, a disposição inapropriada das bandas de valência e condução e/ou um “bandgap” muito alto, tornam esses materiais pouco eficientes nas células fotoeletrolíticas. Além disso, esses semicondutores podem deixar algum tipo de resíduo na água, o que torna o TiO_2 mais apropriado para aplicação, tanto do ponto de vista de desempenho quanto da diminuição de riscos relacionados à contaminação.

Para que o sistema fotoeletroquímico seja eficiente, os elétrons foto-gerados devem se mover através de um circuito elétrico para o contra eletrodo, ali reduzindo a espécie aderida ao eletrodo.

A primeira utilização efetiva de semicondutores para mineralização oxidativa de poluentes orgânicos veio em 1983 com o trabalho de OLLIS e colaboradores, os quais realizaram a fotomineralização de hidrocarbonetos halogenados, incluindo tricloroetilenos, diclorometanos, clorofórmio e tetracloreto de carbono, sensibilizados por TiO_2 (MILLS et al., 1997).

MATSUNAGA et al. (1985) foram pioneiros na utilização de TiO_2 para aplicação em processos de desinfecção. Os pesquisadores utilizaram TiO_2 juntamente com platina, na proporção 10:1. O pó foi ressuspensionado em 40 mL de tampão fosfato, juntamente com células de *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* e *Escherichia coli*, separadamente. As suspensões foram iluminadas com uma lâmpada de mercúrio de 400 W e em cerca de 60 min (*Lactobacillus acidophilus* e *Escherichia coli*) ou 120 min (*S. cerevisiae*), as células foram completamente eliminadas. Os autores atribuíram a inativação dos microrganismos à oxidação da coenzima A pelas lacunas carregadas positivamente, levando à formação de CoA dimérico, detectado nas análises voltamétricas. Essa oxidação provocaria uma inibição da respiração celular, queda na atividade metabólica e conseqüente inativação das células.

Em razão dos problemas causados pela eliminação do pó após o tratamento, MATSUNAGA et al. (1988) construíram um sistema contínuo de esterilização, constituído por um reator contendo uma membrana de acetilcelulose com TiO_2 imobilizado. Além disso, os pesquisadores realizaram o experimento utilizando pó de dióxido de titânio, a fim de estabelecer uma comparação entre os dois processos. Os dois sistemas foram iluminados com uma lâmpada de mercúrio e o número de células de *E. coli* inviabilizadas foi determinado. Em 60 min, as células de *E. coli* foram completamente inviabilizadas, utilizando o fotocatalisador sob a forma de pó. Essa esterilização foi completa quando utilizado um número entre 10^2 - 10^3 células. Em concentrações acima de 10^4 células por mL, o sistema apresentou uma queda em sua eficiência, demonstrando que a utilização de partículas do fotosemicondutor é eficiente em amostras com baixa concentração de bactérias. A utilização de TiO_2 imobilizado em membrana apresentou resultados parecidos com os experimentos conduzidos com o pó.

Em amostras com concentração acima de 10^4 células/mL, também houve uma queda na eficiência, como ocorreu com o TiO_2 sob a forma de pó. No entanto, essa queda foi bem menor, o que demonstra que o reator construído com TiO_2 imobilizado mostrou-se mais eficiente na desinfecção, comparado com o TiO_2 sob a forma de pó. Isso ocorreu provavelmente devido à baixa penetração de luz na suspensão quando da utilização do pó, fazendo com que apenas as partículas localizadas na superfície apresentassem atividade fotocatalisadora, resultando em menor taxa de morte. O TiO_2 imobilizado em membrana, por outro lado, foi disposto de tal forma a aproveitar ao máximo a incidência luminosa, apresentando um efeito fotocatalítico maior.

FUJISHIMA et al. (1993) verificaram a eficiência do efeito fotocatalítico sob a morte de células cancerígenas *in vivo* e *in vitro*. Quando aplicaram um potencial de 0,5 V no eletrodo de dióxido de titânio, as células foram completamente inativadas quando iluminadas por luz UV. A redução da viabilidade celular foi proporcional ao aumento da fotocorrente anódica, sugerindo que as lacunas fotogeradas é que estavam envolvidas na morte celular. A fim de aplicar a metodologia para tratamento de tumores em seres humanos, foi verificada a eficiência do pó de TiO_2 , que não apresentou citotoxicidade, podendo portanto ser empregado. Células HeLa cultivadas *in vitro* foram injetadas subcutaneamente em um camundongo. Quando os tumores se tornaram mensuráveis, os animais receberam injeção de TiO_2 em tampão fosfato. Três dias após a injeção de TiO_2 , a pele cobrindo os tumores foi retirada cirurgicamente e os mesmos foram irradiados diretamente com lâmpadas de mercúrio por 1 h. A pele foi colocada novamente e os tumores foram medidos a intervalos de 2 ou 3 dias, apresentando significativa redução em seu tamanho.

Uma célula cancerígena irá morrer se sua membrana celular for danificada ou se um dos componentes necessários para produção de ATP for atacado, como redução de glutatona, redução de NADH, destruição de CoA ou FADH ocorrerem. Os semicondutores levam à fotogeração de radicais hidroxila e radicais O_2^- , assim como peróxido de hidrogênio, espécies que reagem com componentes fundamentais da célula, levando a morte das células cancerígenas (MILLS et al., 1997).

Embora a luz usada nesse experimento não fosse capaz de penetrar o corpo humano profundamente, essa modalidade pode ser usada, futuramente, para o tratamento de tumores superficiais em órgãos apropriados para exposição à luz, como

pele, cavidade oral da traquéia e trato urinário. No caso de ser utilizada uma fibra de laser como fonte de luz, esta pode ser inserida nos tecidos subcutâneos, sem necessidade de abertura cirúrgica da pele. Assim, o tratamento fotocatalítico com a utilização de TiO_2 sob a forma de pó, iluminado por UV, mostrou ser uma importante arma no tratamento de câncer.

SUNADA et al. (1998) verificaram o efeito antibacteriano de um fino filme de 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. Foi verificado que o lipídeo A era decomposto pelo fotocatalisador, levando também a inativação da endotoxina.

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*. Utilizando a produção de malondialdeído como indicador para verificar danos na membrana celular por peroxidação lipídica, foi observado um aumento exponencial na produção de malondialdeído e que a cinética desse processo acompanhou a morte celular. Sob essas condições foram detectadas perdas concomitantes de 77-93% na atividade respiratória, medidas pelas quantidades de oxigênio e redução de 2,3,5-trifeniltetrazoliumcloreto (a partir de succinato como doador de elétrons).

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.

VAMATHEVAN et al. (2002) verificaram a oxidação fotocatalítica de compostos orgânicos, utilizando partículas de dióxido de titânio puras e modificadas com íons prata. Ficou demonstrado que as partículas modificadas tiveram um maior

desempenho. Isso porque a presença dos íons prata diminuiu as taxas de recombinação entre o par elétron/ lacuna, aumentando a eficiência do processo fotocatalítico.

DUNLOP et al. (2002) verificaram a remoção de bactérias *Escherichia coli* usando o processo fotocatalítico. Os eletrodos TiO₂ foram preparados pela imobilização eletroforética do pó TiO₂. Foram comparadas as taxas de desinfecção utilizando dois tipos de eletrodos diferentes: o P25 e o Aldrich. Sob circuito aberto, o P25 apresentou uma taxa de desinfecção mais rápida do que o Aldrich. Com a aplicação de um campo elétrico, ambos tiveram desempenho similar. O potencial aplicado teve efeito mais pronunciado com uma maior quantidade inicial de bactérias e com uma maior intensidade luminosa.

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.

IBÁÑEZ et al. (2003) verificaram 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 resistentes a radiações UV-A, como é o caso de *Enterobacter cloacae*. Apesar de resistentes a esse tipo de irradiação, quando aliado o processo de fotólise às partículas de dióxido de titânio, obteve-se uma boa inativação desses microrganismos, graças a geração de radicais hidroxila.

RINCÓN et al. (2004), trabalhando com um consórcio de bactérias normalmente presente em águas naturais, verificou a eficiência da fotocatalise, quando bactérias estão em conjunto. Foi observado que as bactérias *Escherichia coli* foram mais sensíveis à fotocatalise, seguidas por outros microrganismo Gram-negativos, outros coliformes e finalmente *Enterococcus* sp.

DIJKSTRA et al. (2001) compararam três reatores fotocatalíticos para degradação de ácido fórmico: um sistema com TiO₂ em suspensão, um sistema com TiO₂ imobilizado em placa e um sistema com TiO₂ imobilizado em várias microesferas.

As limitações quanto ao transporte de massa ocorreram apenas no sistema com TiO_2 imobilizado em placa. Porém, a adição de ar diretamente nesse reator, aumentou sua eficiência por diminuição nas limitações de transporte de massa, devido à turbulência criada com a adição de oxigênio. O sistema em suspensão apresentou a maior eficiência. Porém, os sistemas imobilizados são mais interessantes, pois não requerem o passo de separação. A utilização de TiO_2 imobilizado em microesferas também não cria limitações quanto ao transporte de massa.

RINCÓN et al. (2001) verificaram a influência da adição de produtos resultantes de desinfecção sobre a cinética de morte de bactérias *E. coli* por tratamento fotocatalítico. Os compostos adicionados foram: hidroquinona, resorcinol e catecol. A adição desses compostos resultaram em uma queda na atividade germicida da luz solar. O resorcinol foi o composto que mais inibiu a fotodegradabilidade. Esses compostos são introduzidos no ambiente através de fontes naturais (produtos de degradação de ácidos húmicos) ou industriais. A lâmpada utilizada emitia 0,5% de fótons em comprimentos de onda menores que 300 nm, 7% entre comprimentos de 300 a 400 nm e o restante, 0,25%, entre 400 a 800 nm, correspondentes ao perfil do espectro solar. A inativação bacteriana ocorreu pela luz solar, na presença ou ausência de TiO_2 , sendo melhor na presença do fotocatalisador. A presença de hidroquinona, catecol e resorcinol inibiram o crescimento bacteriano no escuro, enquanto sob irradiação aumentaram o crescimento bacteriano. O mesmo efeito foi observado com a adição de TiO_2 . Esses compostos protegiam a bactéria da inativação solar, da degradação fotocatalítica e da adsorção de TiO_2 . Os compostos concorriam com as bactérias pela luz, pela ação fotocatalítica e pelo fotocatalisador, diminuindo a ação bactericida dos mesmos. Foi verificada ainda a influência da adição de H_2O_2 . A degradação fotoquímica melhorou após a introdução desse composto, que pode ser uma alternativa à desinfecção por cloração. Assim, a desinfecção fotocatalítica demonstrou ser uma importante alternativa para tratamento de águas, uma vez que inativa microrganismos, além de reduzir compostos provenientes da desinfecção, como hidroquinona, resorcinol e catecol, o que é interessante antes da aplicação da cloração propriamente dita.

LUO et al. (2001) demonstraram que um corante da indústria têxtil, o naftol azul preto, um importante poluente, poderia ser efetivamente decomposto fotoeletrocataliticamente, utilizando um eletrodo de WO_3 . Os filmes de WO_3 foram

eletrodepositados em um substrato de platina. A degradação fotoeletroquímica do corante foi mais rápida do que a degradação fotocatalítica não eletroquímica, devido aos efeitos da aplicação de potencial. A maior taxa de degradação ocorreu em meio ácido contendo íons Cl^- . Estes mesmos autores demonstraram que a utilização de eletrodos de outros materiais, além de TiO_2 , pode ser eficiente.

PARRA et al. (2002) realizaram fotodegradação de isoproturano, um dos herbicidas mais comumente usados na Europa, utilizando TiO_2 aderido em anéis de vidro, em um reator coaxial. Após 60 min de fototratamento, o isoproturano foi completamente eliminado e aproximadamente 80% do carbono orgânico dissolvido permaneceu na solução. Assim, para a mineralização completa de uma solução de isoproturano, foi utilizada uma combinação de um reator fotoquímico e outro biológico, operando em modo semi-contínuo. Esse sistema acoplado empregou TiO_2 aderido a anéis de vidro no reator fotocatalítico, e bactérias aderidas ao biolito no reator biológico. Nesse sistema acoplado, 100% da concentração de isoproturano foi eliminada e 95% do carbono orgânico dissolvido foi removido. O isoproturano foi removido no tratamento fotoquímico, gerando carbono orgânico dissolvido como intermediário, degradado no tratamento biológico.

BYRNE et al. (2002) utilizaram eletrodos de TiO_2 nanocristalinos, preparados pela imobilização eletroforética em óxidos dopados de índio muito finos, que mostraram grande eficiência na degradação de ácido fórmico, em células fotoeletroquímicas de um ou dois compartimentos. A aplicação de 1 V ao eletrodo de TiO_2 resultou em aumento significativo da taxa de degradação do ácido fórmico. Em células fotoeletroquímicas de dois compartimentos, o ácido fórmico foi fotocataliticamente degradado no ânodo, enquanto o Cu^{+2} foi reduzido a Cu^0 no cátodo, quando o ânodo de TiO_2 foi circuitado a um cátodo de cobre.

BERTAZZOLI et al. (2002) verificaram a descoloração e degradação de poluentes orgânicos em soluções aquosas através do processo fotoeletroquímico. Foram tratados efluentes da indústria papelreira, efluente simulado da indústria têxtil e efluente de aterros sanitários (chorume de lixo doméstico). O sistema era composto por uma lâmpada, em torno da qual estavam localizados os eletrodos, dispostos de forma concêntrica. O ânodo foi de titânio revestido com óxido e o cátodo, uma tela de titânio expandida. Foi utilizada uma lâmpada de vapor de mercúrio de 400 W. Nos efluentes

da indústria de papel e celulose, houve oxidação dos compostos responsáveis pela forte coloração e redução no teor de matéria orgânica. Assim, o tratamento fotoeletroquímico pode ser usado como tratamento único ou pré-tratamento que antecede a degradação biológica. Quanto ao efluente simulado da indústria têxtil, num período de 40 min já havia uma degradação da cor do corante. No chorume, houve desaparecimento da cor e odor desagradável, após a realização do tratamento.

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* sp. 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.

O objetivo do trabalho de KIM et al. (2003) foi desenvolver um novo fotobiorreator para aplicação na esterilização de bactérias patogênicas presentes em alimentos, como *Salmonella choleraesuis*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Listeria monocytogenes*. O aumento da concentração de TiO_2 aumentou a eficiência até 1 mg/mL. Comportamentos similares foram obtidos para *S. choleraesuis* e *V. parahaemolyticus*, que tiveram morte completa após três horas de iluminação. *L. monocytogenes* foi mais resistente, e sua taxa de inativação foi de 87% nesse mesmo período de iluminação.

KONDO et al. (2003) imobilizaram TiO_2 na superfície interna de um fotorreator cilíndrico de vidro. Uma lâmpada de luz negra fluorescente de 30 W de potência foi introduzida no centro do reator. O fotorreator anular foi conectado à saída de um aparelho de ar condicionado. Em presença apenas do catalisador, sem luz, 46% e 26% das bactérias e fungos foram inativados, respectivamente. Estes percentuais de remoção são consequência de um processo de adsorção dos microrganismos no TiO_2 imobilizado na superfície do vidro. Quando o ar contaminado foi forçado a passar pelo reator fotocatalítico, verificou-se a completa inativação dos microrganismos. Os níveis de destruição, nestas condições, foram de 98% para bactérias e 99% para fungos. Os resultados apresentados demonstram a possibilidade de se utilizar o presente sistema

TiO₂/UV na destruição de microrganismos presentes no ar de ambientes fechados. Sendo o TiO₂ um catalisador, o reator requer manutenção mínima.

SIMMONS (1991) verificou que *Cryptosporidium parvum* foi inviabilizado por radicais hidroxila. No entanto, ele não utilizou o tratamento fotoeletroquímico nesse processo. A fotocatalise também seria provavelmente eficiente em provocar a morte desses microrganismos, uma vez que leva à produção de radicais hidroxila.

Os radicais hidroxila são eficientes em provocar a morte desses protozoários, uma vez que o ataque oxidativo da membrana celular leva a peroxidação lipídica. Na membrana celular bacteriana é que se encontra o sítio para a respiração celular e, quando esta é danificada, o processo de respiração fica prejudicado. A combinação do dano da membrana celular, aliado ao posterior ataque oxidativo dos componentes celulares internos, provocam a morte celular (BLAKE et al., 1999).

Assim, fica comprovado que o tratamento fotoeletroquímico mostra-se como uma importante alternativa para a desinfecção de água, a partir da oxidação de compostos orgânicos poluentes e da morte de microrganismos patogênicos.

3.1- Mecanismos de ação microbicida

Várias hipóteses foram propostas com o intuito de explicar como o tratamento fotocatalítico ou fotoeletroquímico inviabilizam microrganismos.

Segundo MATSUNAGA et al. (1985), a morte dos microrganismos é devido à oxidação da coenzima A pelas lacunas carregadas positivamente, levando à formação de CoA dimérico, detectado nas análises. A oxidação da CoA provocaria uma inibição da respiração celular, queda na atividade metabólica e conseqüente inativação das células. Estes autores não observaram a destruição da parede celular por microscopia óptica ou eletrônica.

SAITO et al. (1992) observaram a destruição da parede celular e desordem da membrana celular de estreptococos mutantes, seguido por rápida perda de íons potássio e vagarosa diminuição de proteínas e RNA, que causariam a inativação das células.

BEKBÖLET et al. (1996) concluíram que haveria a necessidade de um tempo maior de exposição ou uma irradiação mais efetiva para destruir as bactérias Gram-negativas pois a parede celular dessas bactérias apresentam uma estrutura mais

complexa (membrana plasmática revestida por uma parede de peptidoglicano, por sua vez revestida por uma membrana externa composta de proteínas, lipídeos e polissacarídeos) do que a parede das Gram-positivas.

KÜHN et al. (2003) realizaram tratamento de superfície revestida com TiO_2 e este mostrou-se eficiente contra os microrganismos *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecium*. Em *Candida albicans* também houve redução no número de células, embora menor. As análises em microscopia eletrônica sugeriram que a destruição se deu devido ao dano direto provocado na parede celular pelos radicais hidroxila. Houve grande redução no número de bactérias em apenas 60 min. As bactérias que morreram mais rapidamente foram *E. coli*, seguida por *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecium* e *C. albicans*. *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* apresentam a parede celular mais fina por serem Gram-negativas, daí morrerem primeiro. *S. aureus* e *E. faecium* são Gram-positivos e apresentam uma parede celular mais espessa, daí morrerem depois. Por fim, *C. albicans* apresentou a maior resistência, pois possui uma grossa parede celular, típica dos eucariotos. SUNADA et al. (1998) demonstraram que um substrato revestido por TiO_2 iluminado foi capaz de matar *E. coli* e destruir os compostos tóxicos resultantes dela. A degradação da endotoxina demonstra que o fotocatalisador não apenas inativa a bactéria, mas a destrói, eliminando a membrana externa dos microrganismos.

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 desordem na membrana celular. Subsequentemente, funções essenciais que dependiam da membrana celular intacta, como atividade respiratória, foram perdidas e, por consequência, ocorreu a morte celular.

O início da peroxidação lipídica requer alguma forma de ataque radical. Contudo, uma vez iniciada, a reação se propaga, gerando um radical peróxi intermediário que, por si só, passa por peroxidação com outra molécula lipídica insaturada. As reações em sequência levam à destruição da fase lipídica, que é a própria membrana celular.

A alteração na arquitetura da membrana causada pela peroxidação lipídica leva a mudanças conformacionais em muitas proteínas ligadas a ela, causando alterações em

sua semipermeabilidade. Assim, componentes internos da célula, por consequência, também podem ser atacados pelos radicais hidroxila.

SUNADA et al. (2003) verificaram a influência da deposição de cobre sobre filmes de TiO₂. A adição de cobre à superfície do eletrodo 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, permitindo que mais íons cobre adentrassem a célula, aumentando a inativação dessas bactérias.

HUANG et al. (2000) desenvolveram um método sensível usando o-nitrofenol β-D-galactopiranosídio como sonda e a *E. coli* como célula modelo. O tratamento de *E. coli* com TiO₂ e luz UV resultou em aumento imediato na permeabilidade a pequenas moléculas como o-nitrofenol β-D-galactopiranosídio e fuga de grandes moléculas como β-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 TiO₂ causaram dano intracelular mais rapidamente. A bactéria *E. coli* foi induzida à produção de β-D-galactosidase, composto detectado pela sonda o-nitrofenol β-D-galactopiranosídio (ONPG).

Sob condições normais, o ONPG tem pouca acessibilidade a β-D-galactosidase intracelular. O substrato ONPG tem que se difundir através da membrana externa e ser transportado através da membrana citoplasmática, antes de reagir com β-D-galactosidase intracelular. Tanto o aumento na permeabilidade da membrana à ONPG quanto a perda de β-D-galactosidase para o exterior, podem demonstrar indícios de que está ocorrendo alterações na parede celular ou na membrana citoplasmática.

Quando a integridade do envelope celular fica comprometida, componentes intracelulares começam a sair da célula e partículas livres de TiO₂ 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 TiO₂ 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.

3.2-Cuidados com o sistema fotoeletroquímico

WIST et al. (2002) realizaram a desinfecção fotoeletroquímica com *E. coli* em água destilada e em água proveniente do rio Cauca (Cali, Colômbia). Após a desinfecção em água destilada, a solução foi deixada no escuro por cerca de 24 h e nesse período não houve nova proliferação de bactérias. Contudo, os experimentos conduzidos com água natural, após serem deixados no escuro por 24 h, apresentaram uma nova proliferação de bactérias, em números maiores que o número inicial. Esse fato demonstra a falta de efeito residual das partículas de TiO₂ após cessada a irradiação.

Alguns mecanismos foram propostos para tentar explicar porque na água natural, após cessada a irradiação, o número de bactérias ficou maior que o número inicial. Dentre eles, temos: a) algumas bactérias danificadas durante o tratamento foram capazes de crescer novamente, em detrimento das células mortas; b) algumas bactérias que estavam em estado latente durante a iluminação, recuperaram sua capacidade de recolonização em condições de menor estresse; c) algumas bactérias que estavam em estado latente antes da iluminação, se multiplicaram em condições que seriam de estresse para outras bactérias, contribuindo para a população final, após cessada a iluminação.

Assim, as condições de estresse poderiam ativar outros mecanismos metabólicos das bactérias. Além disso, o tratamento fotocatalítico poderia fornecer novas fontes de nutrientes para os microrganismos, devido às ações na biomassa e nos compostos orgânicos.

Esses resultados demonstram a necessidade de maiores estudos no período de pós-tratamento, principalmente em água natural, pois a água destilada não reproduz as condições que ocorrem na realidade. Esse estudo é importante, uma vez que a água natural, após o tratamento, apresentou um número de microrganismos maior do que nas condições iniciais, anteriores ao tratamento, possivelmente 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 (WIST et al. 2002).

Segundo MILLS et al. (1997), apesar das inúmeras vantagens do tratamento fotoeletroquímico sobre os métodos convencionais, este método também apresenta algumas desvantagens, dentre as quais, a falta de capacidade de desinfecção residual e a lenta cinética de desativação das células. Sem contar a possibilidade dessa metodologia gerar intermediários estáveis, mais tóxicos que os substratos orgânicos iniciais. Finalmente, a destruição de muitos substratos orgânicos pode gerar produtos que desativem o fotocatalisador.

4-MATERIAIS E MÉTODOS

4.1-Preparação do inóculo de bactérias e leveduras

4.1.1-Bactérias

As cepas utilizadas foram: *Escherichia coli* CCT 1457 e *Bacillus subtilis* CCT 2576, ambas obtidas no Departamento de Bioquímica da UNESP (Rio Claro). A cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 foi obtida a partir de doação do Instituto Biológico (São Paulo).

As culturas de *S. aureus* e de *E. coli* foram obtidas a partir de dois repiques consecutivos. O primeiro em meio sólido de ágar nutriente, incubado a 28°C por 24 h. O segundo em 10 mL de meio de cultura líquido de caldo nutriente, incubado a 28-30°C por 24 h, sob agitação. Os componentes do meio de caldo nutriente foram peptona (5g) e extrato de carne (3g), dissolvidos em 1 L de água destilada. Para a preparação do ágar nutriente, foram adicionados 17g de ágar ao caldo nutriente.

As culturas de *Bacillus subtilis* inicialmente utilizadas foram repicadas da mesma forma que as culturas de *E. coli*.

Desses 10 mL, 2 mL foram centrifugados por aproximadamente 10 min utilizando rotação de 4000 g, a fim de decantar as bactérias. Em seguida, a suspensão foi lavada duas vezes em Na₂SO₄ 200 mg/L. Foi utilizado 1mL da suspensão para verificar a eficiência do efeito fotoeletroquímico.

4.1.2-*Saccharomyces cerevisiae* (leveduras)

Foram diluídos 5 g de fermento, de uso comercial, em 150 mL de água destilada. Essa suspensão foi centrifugada e ressuspensa em 500 mL de sulfato de sódio 200 mg/L. Desses 500 mL, 250 mL foram utilizados no reator fotocatalítico.

4.2-Tratamento fotocatalítico

Inicialmente, o dióxido de titânio foi utilizado sob a forma de pó. Foram diluídas 0,5 gramas de TiO₂ marca Vetec em 250 mL de solução sulfato de sódio 200 mg/L. Esta metodologia foi usada apenas como parâmetro para avaliação da eficiência do processo fotoeletroquímico.

A célula eletroquímica foi composta por um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra-eletrodo. O eletrodo de trabalho correspondeu a uma placa de titânio recoberta com óxido de titânio gerado termicamente, de 5 cm por 5 cm, totalizando uma área de 25 cm² em uma das faces. O eletrodo de referência foi constituído por um fio composto de prata e cloreto de prata. O contra-eletrodo, por sua vez, correspondeu a uma rede de níquel com 8,5 cm de diâmetro. Nesta célula eletroquímica foram colocados 250 mL de solução de sulfato de sódio. A fim de reduzir os efeitos do transporte de massa, a solução contendo a suspensão bacteriana foi mantida sob agitação por barra magnética, durante o decorrer do experimento (Figura 2).

A preparação do eletrodo envolveu o aquecimento da placa de Ti a 750°C por 10 min, para gerar o óxido TiO₂.

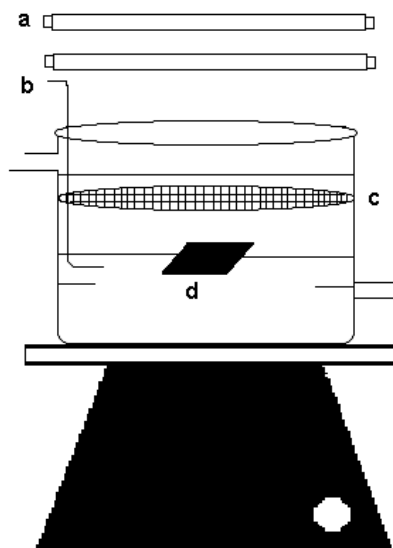


Figura 2: Desenho da célula eletroquímica utilizada. a) 2 x 8 W lâmpada de luz negra; b) eletrodo de referência Ag/AgCl; c) contra-eletrodo de rede de níquel; d) eletrodo de trabalho.

Nos experimentos, foram utilizados 1mL da solução bacteriana e da solução de 250 mL de leveduras, preparadas previamente. O filme de TiO_2 foi irradiado utilizando duas lâmpadas UV-A, com potência 8 W (λ entre 300 e 400 nm, com pico em aproximadamente 380 nm).

O processo fotoeletroquímico foi conduzido utilizando-se o Potenciostato/Galvanostato da AUTOLAB. Foi aplicada uma voltagem de 1,4 V, verificando-se o valor da fotocorrente gerada, determinada por fotocorrente medida ponto a ponto (Figura 9). Como controle, foi também verificado o valor da corrente gerada, sob o mesmo potencial, quando na ausência de luz.

No caso das bactérias foram coletadas amostras nos tempos 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min, as quais foram diluídas e plaqueadas para posterior contagem das colônias formadas. Para o experimento conduzido com as leveduras, as amostras foram colhidas nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 150 min, sendo que as células foram contadas em câmara de Neubauer, após coloração com eritrosina.

4.3-Contagem do número de bactérias

As amostras colhidas nos tempos 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min foram diluídas em solução salina 0,85%*m/v*, nos fatores de diluição 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} . Foram plaqueados 100 μL das suspensões com diluição 10^{-3} e 10^{-4} , em meio ágar PCA. Em seguida, foi contado o número de células viáveis, calculando assim a porcentagem de sobreviventes após tratamento fotocatalítico por UFC (Unidades Formadoras de Colônia).

A cada conjunto de experimentos, as amostras eram plaqueadas em triplicata, a fim de se obter uma melhor estimativa. O fator de diluição 10^{-3} foi mais preciso e, portanto, foi utilizado para fins de contagem. O fator de diluição 10^{-4} foi utilizado apenas como controle da diluição 10^{-3} .

A cada conjunto de experimentos, foram plaqueadas solução salina e de sulfato de sódio sem suspensão bacteriana, apenas para verificar se estavam contaminadas.

4.4-Contagem do número de leveduras

As amostras foram retiradas nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 150 min e diluídas na proporção 1:10. Em seguida, foram coradas com eritrosina, corante próprio que indica as células mortas e vivas. Aquelas coradas em vermelho estavam mortas, enquanto que as não coradas, representavam as células resistentes ao tratamento. A contagem foi feita em câmara de Neubauer. A partir do número de células obtido em cada intervalo de tempo, foi possível calcular a taxa de sobrevivência e a eficiência do efeito fotocatalítico.

As contagens foram feitas em triplicata, a fim de garantir a confiabilidade dos resultados.

4.5- Caracterização das partículas de dióxido de titânio e das fontes de irradiação

As partículas de dióxido de titânio foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura e difratômetro de raio X.

As análises de microscopia eletrônica foram feitas em microscópio eletrônico de varredura da marca Zeiss DSM 940-A a 5 kV, na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), em Piracicaba.

O pó de dióxido de titânio foi colocado diretamente sobre suporte com ajuda de cola e observado.

O difratômetro usado foi da marca SIEMENS, modelo D 5000, operando com um tubo de alvo de cobalto a 35 kV e 25 mA, filtrado com um monocromador secundário de ferro. Os difratogramas foram obtidos na faixa 2θ de 3° a 70° . As análises foram realizadas no Instituto de Geociências (IGCE) da UNESP – Rio Claro.

Para a medida dos comprimentos de onda emitidos pelas lâmpadas do tipo luz negra e germicida, utilizou-se um espectrômetro marca Ocean Optic, modelo USB-2000 (UV-Vis). As medidas foram feitas no Instituto de Física de São Carlos (USP).

5-RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Caracterização das partículas de dióxido de titânio

O dióxido de titânio em pó utilizado nos experimentos foi observado sob microscopia eletrônica de varredura, para verificar a disposição e organização das partículas e para estimativa do tamanho das mesmas.

Conforme pode ser observado na Figura 3, as partículas não se encontram isoladas, mas sim formando aglomerados. Daí a importância de se manter uma contínua agitação da suspensão contendo as bactérias. Essa agitação é importante não apenas para garantir que toda a suspensão seja iluminada pelos raios ultravioleta, para que os radicais hidroxila sejam formados e também para garantir que esses aglomerados de partículas se desfaçam, permitindo que os pares elétron/lacuna sejam formados com maior eficiência.

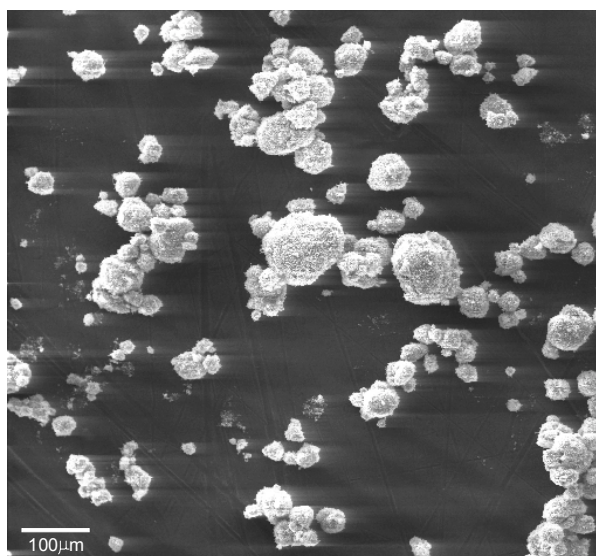


Figura 3: Partículas de dióxido de titânio observadas em microscópio eletrônico de varredura (escala 1cm:100 μ m).

Aumentando a resolução da amostra observada em microscópio, é possível verificar que as partículas são muito pequenas, constituindo um pó fino. Com essa resolução, foi possível estimar o tamanho das partículas em aproximadamente 30 nm (Figura 4).

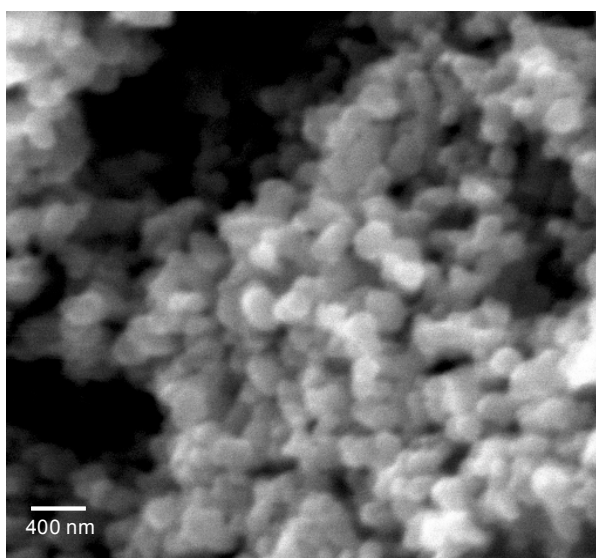


Figura 4: Partículas de dióxido de titânio observadas em microscópio eletrônico de varredura (escala 1cm: 400 nm).

Para se conhecer a constituição das partículas de dióxido de titânio, foram feitas análises em difratômetro de raio-X. Conforme pode ser observado na Figura 5, as

partículas de dióxido de titânio utilizadas, da marca comercial VETEC, apresentam constituição cristalina 100% anatase, sendo que os picos para rutilo não aparecem neste óxido. A caracterização das partículas de dióxido de titânio da referida marca apresentam constituição semelhante a da marca Aldrich. Essa constituição apresenta resultados diferentes aos das partículas P25-Degussa (80% anatase, 20% rutilo) utilizadas na maioria dos trabalhos fotocatalíticos. O fato das partículas aqui utilizadas apresentarem constituição 100% anatase é um dado interessante, uma vez que existem poucos trabalhos com a referida constituição, além do fato de que as partículas anatase apresentam atividade fotocatalítica comprovadamente melhor.

O filme de dióxido de titânio, de acordo com CHRISTENSEN et al. (2003), que realizaram tratamento semelhante para obtenção do eletrodo térmico, apresenta 100% de rutilo.

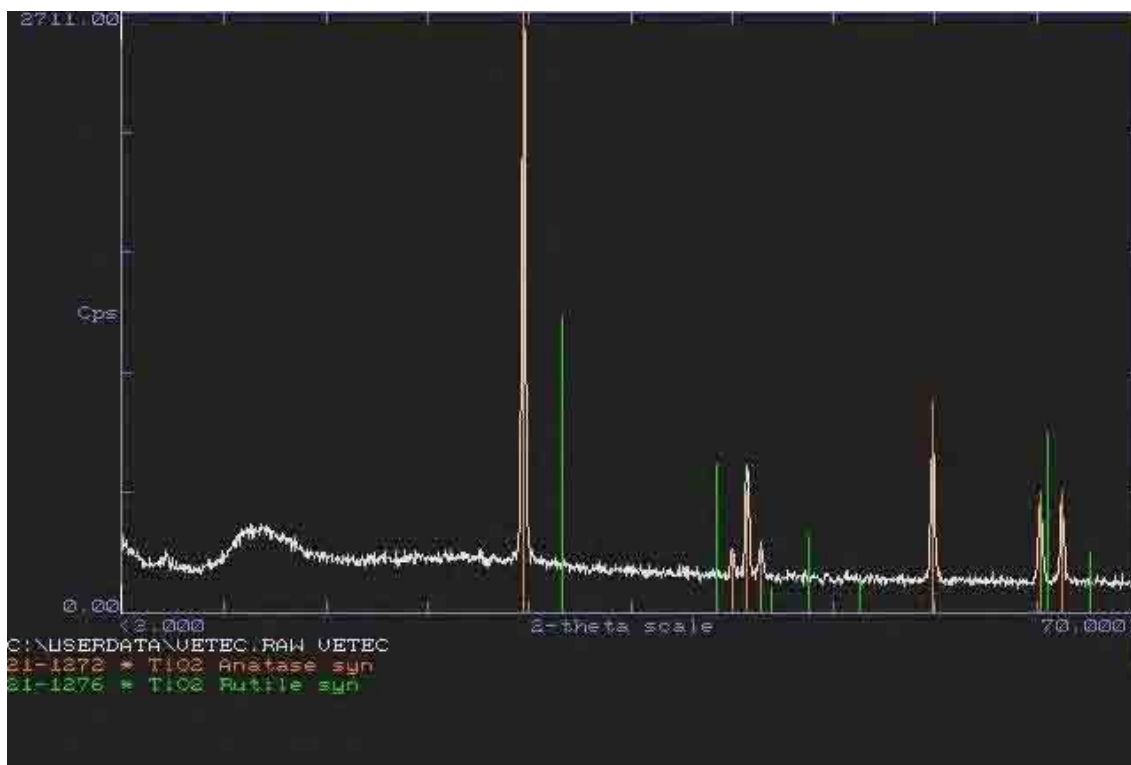


Figura 5: Difrato de raio-X das partículas de dióxido de titânio em pó.

5.2- Caracterização das lâmpadas do tipo luz negra e germicida

As lâmpadas do tipo luz negra, de baixa potência (8W), utilizadas nos experimentos apresentam comprimento de onda na faixa dos 300-400 nm, com pico em 380 nm (Figura 6). São lâmpadas do tipo UV-A, irradiação esta de baixa energia, que não causa danos graves ao ser humano. A utilização dessas lâmpadas é interessante do ponto de vista de manejo, uma vez que elas não causam queimaduras ou câncer de pele, sendo de fácil manipulação.

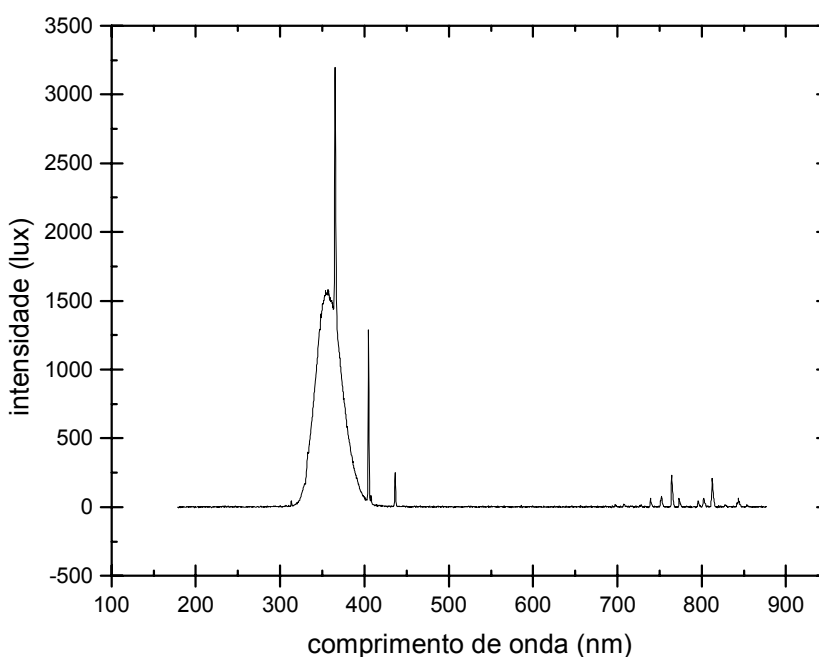


Figura 6: Espectro luminoso da lâmpada do tipo luz negra utilizada nos experimentos.

A lâmpada germicida utilizada, de potência 15 W, apresenta comprimento de onda com pico em 250 nm (Figura 7). É uma lâmpada com radiação do tipo UVC, de alta energia, capaz de causar sérias queimaduras nas pessoas que manipularem este tipo de lâmpada. Apesar de serem mais eficientes do ponto de vista bactericida, por causarem danos irreversíveis ao DNA bacteriano, elas são de alto custo econômico e requerem cuidadoso manejo, pois sua irradiação é danosa ao ser humano.

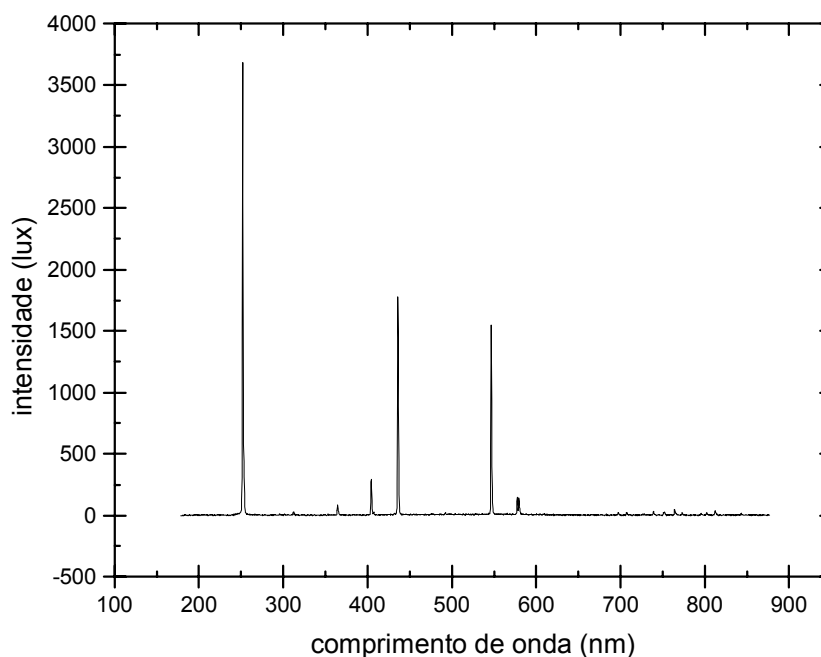


Figura 7: Espectro luminoso da lâmpada de 15 W (germicida) utilizada nos experimentos com *Escherichia coli*.

5.3-Desinfecção fotocatalítica e fotoeletroquímica de *E. coli*

Conforme pode ser observado pela Figura 8, quando o tratamento é realizado com TiO_2 sob a forma de pó, as bactérias são eliminadas totalmente num intervalo de tempo de 60 min. O efeito ocorre apenas na presença de TiO_2 e luz ultravioleta, simultaneamente. Nos experimentos realizados apenas com o pó ou com a luz, não foi verificada a inativação das bactérias. O pequeno desvio no tempo 10 min, da curva obtida com a utilização do pó e UV, se deve a problemas de homogeneização da amostra, que leva a erros no momento da coleta das alíquotas.

O efeito bactericida ocorre devido à produção de radicais hidroxila. Quando as partículas de dióxido de titânio são iluminadas por ultravioleta, os elétrons se movem da banda de valência para a banda de condução. Em sua superfície, são criados pares elétron/lacuna. As lacunas carregadas positivamente levam à oxidação da água, produzindo radicais hidroxila, altamente oxidantes.

IRELAND et al. (1993) utilizaram água potável para verificar a desinfecção e devido a cloração da mesma, adicionaram tiosulfato de sódio a fim de retirar o cloro da amostra. Em um volume de 12 L de água, foram adicionadas as culturas de *E. coli*, sendo que a amostra era recirculada no reator numa taxa de fluxo de 2 L/min. Após 44

min, foi detectado pelos autores um forte cheiro de enxofre, resultado da reação entre OH radical e tiosulfato inorgânico, formando gás SO_2 , o que demonstra que de fato estava havendo a produção de OH radical, provável causa da morte bacteriana, devido ao seu alto poder oxidativo.

No experimento, foi utilizada uma concentração de 2g/L de TiO_2 . Acima desse valor, o poder de desinfecção diminui, uma vez que as partículas podem prejudicar a passagem de luz através da suspensão, criando um efeito de sombra. Com esse efeito de sombra, apenas as partículas localizadas na superfície são atingidas pela luz, e por consequência, apenas as bactérias aí localizadas são inativadas, diminuindo o poder de desinfecção como um todo.

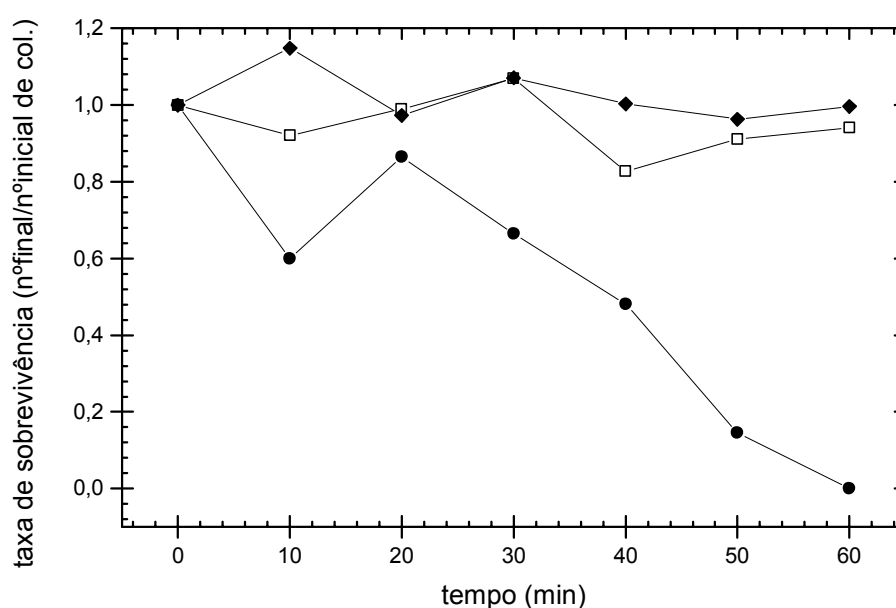


Figura 8: Efeito da atividade fotocatalítica sobre a morte de *Escherichia coli* ao longo do tempo. Aproximadamente 10^6 bactérias foram eliminadas. (●) TiO_2 em pó + UV; (□) apenas TiO_2 em pó, sem UV; (◇) apenas UV, sem pó.

No entanto, a utilização de uma maior quantidade de TiO_2 poderia incrementar a atividade fotocatalítica, caso a luz pudesse ser totalmente reaproveitada, principalmente quando o número de bactérias presente na suspensão for alto. MATSUNAGA e seus colaboradores (1995) desenvolveram um sistema de fibras ópticas emissoras de luz

difusa, constituídas de poli-metil metacrilato e fluororesina. Essas fibras são conectadas à lâmpada emissora de luz e são capazes de penetrar na solução a ser tratada. O efeito bactericida obtido é alto, sendo até 4 vezes superior ao sistema convencional, devido ao maior aproveitamento da luz. Esse sistema é muito bom quando se deseja tratar uma alta concentração de bactérias, que também requerem uma grande quantidade de TiO_2 , obtendo-se resultados positivos e mais rápidos.

A utilização do pó, apesar de mais eficiente, apresenta alguns problemas. Um deles, já mencionado, refere-se ao uso de uma concentração adequada, pois do contrário as partículas excessivas podem barrar a entrada de luz, diminuindo a taxa de desinfecção. O outro problema, mais complexo, está relacionado às dificuldades de eliminação do pó após o tratamento da suspensão.

A fim de solucionar os problemas quanto à eliminação do pó, após o tratamento, neste projeto, utilizamos uma placa de titânio recoberta com camada de óxido, que funcionou como um eletrodo. A esse eletrodo, conectamos um contra-eletrodo, constituído de uma rede de níquel, sobre os quais aplicamos um potencial anódico de 1,4 V. A aplicação deste potencial é baseada nos trabalhos de HARPER et al. (2001) e CHRISTENSEN et al. (2003), que relataram a otimização do processo de desinfecção a partir da aplicação de um campo elétrico.

Assim, neste trabalho, utilizamos um eletrodo de TiO_2 , do tipo térmico, uma vez que este tipo apresenta melhores eficiências do que eletrodos que receberam outros tratamentos. 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.

O campo elétrico aplicado tem a função de deslocar os elétrons da banda de condução do eletrodo de trabalho (dióxido de titânio) para o contra-eletrodo. Os elétrons assim deslocados são impedidos de se recombinar novamente com as lacunas, na placa de TiO_2 . Sem os processos de recombinação, todas as lacunas geradas reagirão com a água, levando à maior produção de radicais hidroxila.

O potencial aplicado ao eletrodo foi de 1,4 V anódico. Conforme podemos verificar pela Figura 9, esse potencial é adequado, pois é quando o eletrodo começa a apresentar um bom desempenho. A aplicação de potenciais maiores pode melhorar a atividade do eletrodo, mas além de menos vantajosa, economicamente falando, pode levar a perdas na capacidade do eletrodo. Isso ocorre porque potenciais muito altos, apesar de levarem inicialmente a um melhor desempenho do processo de desinfecção, posteriormente podem provocar a deposição de materiais indesejáveis na superfície do eletrodo, levando a perdas em sua atividade. Assim, o potencial aplicado de 1,4 V, além de não danificar o eletrodo ao longo do tempo, permite um ótimo processo de desinfecção.

Conforme podemos verificar pela Figura 10, a utilização do TiO_2 em um filme, constituindo um eletrodo, também apresentou boa eficiência. Em 60 min, aproximadamente 60% das bactérias foram eliminadas. A aplicação apenas do potencial não foi suficiente para provocar a inativação das bactérias, uma vez que este potencial é muito pequeno, não sendo capaz de gerar correntes altas o suficiente para exterminar microrganismos por eletrólise. A iluminação do eletrodo, sem aplicação de potencial, também não foi capaz de exterminar as bactérias, uma vez que sem a presença do campo elétrico, praticamente todos os pares elétron/lacuna acabam se recombinando na fina superfície do filme de TiO_2 . Os pequenos desvios observados nas curvas controle (aplicação só de potencial ou aplicação apenas de UV), onde se observa em alguns pontos valores maiores do que aqueles observados no tempo 0 min, se deve à problemas de homogeneização, levando a uma variação pequena no número de bactérias, no momento de se pegar as alíquotas. No entanto, esses desvios são pequenos e conforme pode ser observado, a curva se mantém praticamente constante nos controles. Isso demonstra que a aplicação apenas do potencial ou apenas da luz UV não é capaz de inviabilizar as bactérias *E. coli*.

Na Figura 11, pode ser observado que o TiO_2 utilizado sob a forma de pó apresenta resultados mais satisfatórios, uma vez que não há limitações no transporte de massa. Além disso, a utilização do pó permite uma superfície de contato muito maior com os microrganismos do que uma placa de TiO_2 . Assim, os resultados estão dentro do esperado, quando comparado com a literatura.

No entanto, os resultados são contrários aos resultados obtidos por CHRISTENSEN et al. (2003), cujo trabalho demonstrou uma melhor eficiência dos eletrodos sol-gel e térmico, quando comparados com o pó. Os resultados de CHRISTENSEN et al. (2003) estão fora do esperado provavelmente porque utilizaram uma alta concentração de pó de TiO_2 (cerca de 8g/L), provocando o efeito de sombra já comentado, que foi responsável pela queda da eficiência do pó.

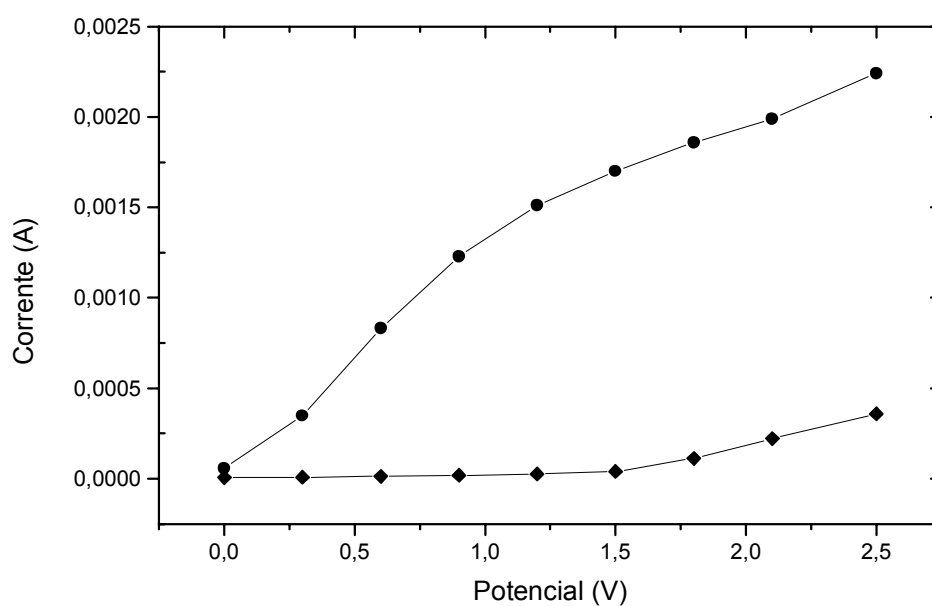


Figura 9: Correntes medidas ao longo de vários valores de potencial, ponto a ponto, a fim de determinar o melhor potencial a ser trabalhado . (●) correntes medidas na ausência de luz; (◆) correntes medidas sob iluminação.

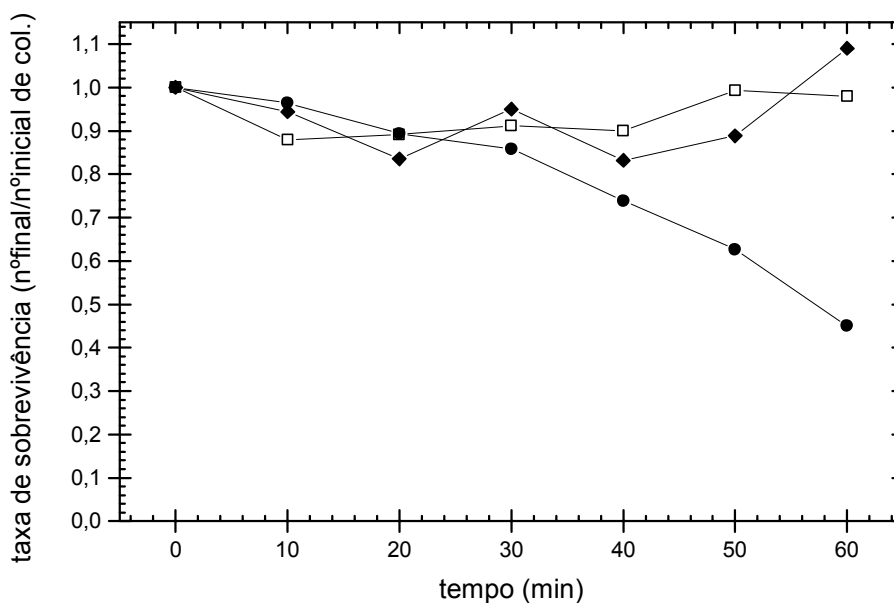


Figura 10: Avaliação da atividade fotoeletroquímica sobre *Escherichia coli*. (●) eletrodo + potencial 1,4 V + UV; (□) eletrodo + potencial 1,4 V, sem UV; (◆) eletrodo + UV, sem potencial.

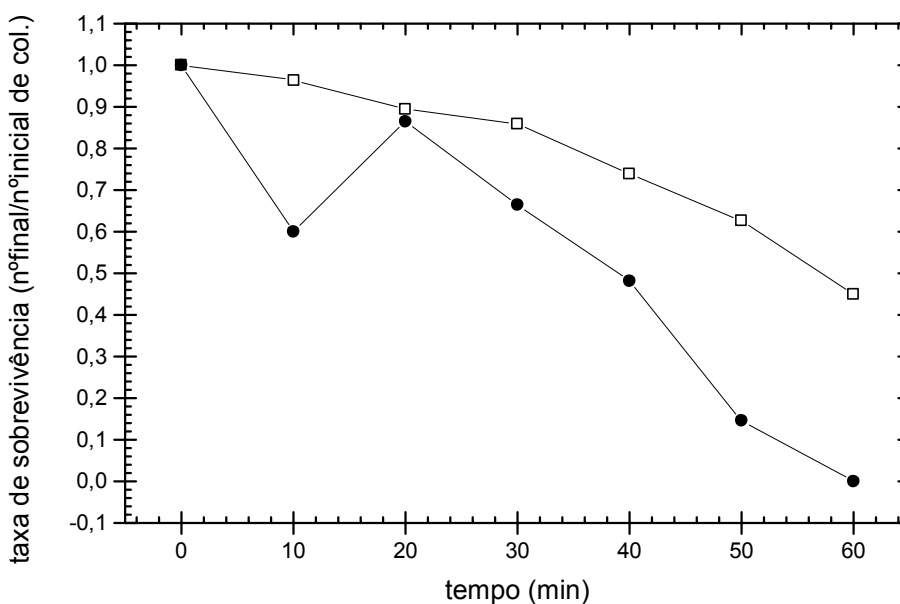


Figura 11: Comparação entre os efeitos fotoeletroquímico e fotocatalítico sobre a morte de *Escherichia coli*. (●) efeito fotocatalítico (TiO₂ em pó); (□) efeito fotoeletroquímico (eletrodo de TiO₂).

Apesar do melhor desempenho apresentado pelo pó, as dificuldades relacionadas à sua eliminação da suspensão fazem com que o TiO₂ imobilizado ou a utilização de um eletrodo seja a melhor opção.

Há algumas alternativas que podem melhorar o desempenho do eletrodo. Além do fator já mencionado, como a aplicação de um potencial, o aumento de área da superfície da placa a tornam mais eficiente. IRELAND et al. (1993) verificaram a influência da adição de peróxido de hidrogênio sobre a desinfecção. O H₂O₂ age como um acceptor de elétrons irreversível, reduzindo a taxa de recombinação elétron/lacuna, produzindo mais radicais hidroxila pelas reações: $H_2O_2 + e^-_{bc} \rightarrow OH_{rad} + OH^-$; $H_2O_2 + O_2^- \rightarrow OH_{rad} + OH^- + O_2$, aumentando a eficiência e rapidez do processo de desinfecção.

A disposição do eletrodo em relação à fonte luminosa também é muito importante. MATSUNAGA et al. (1988) imobilizaram TiO₂ em membrana de acetilcelulose e obtiveram um resultado melhor do que com a utilização de pó. O dióxido de titânio imobilizado apresentou uma maior eficiência principalmente quando se tratou uma grande quantidade de bactérias, pois nessas circunstâncias, a quantidade de pó que deveria ser adicionada seria muito grande, provocando os efeitos indesejáveis de sombra. A membrana foi disposta de tal forma que permitia um máximo contato com a fonte luminosa, uma vez que as perdas de energia eram pequenas, garantindo uma maior eficiência.

WEI et al. (1994) verificaram a influência de vários fatores sob a atividade fotocatalítica em *E. coli*. A composição do fluxo de gases na solução exerceu um efeito intenso na atividade bactericida de TiO₂. Quando nitrogênio foi borbulhado na solução, a atividade bactericida foi praticamente nula. Por outro lado, quando oxigênio foi borbulhado na solução, a atividade bactericida aumentou progressivamente, conforme havia aumento da concentração de O₂. Isso acontece porque o oxigênio reage com os elétrons gerados na banda de condução, produzindo O₂⁻, que exerce atividade bactericida. Além disso, o O₂ funciona como um acceptor de elétrons, diminuindo assim as taxas de recombinação elétron/lacuna e levando indiretamente à consequente formação de mais radicais hidroxila.

Segundo RAJESHWAR (1995), no entanto, quantidades excessivas de H₂O₂ ou oxigênio podem provocar efeitos deletérios na atividade fotocatalítica. Isso porque, o

excedente desses compostos começam a consumir OH radical, diminuindo a atividade bactericida.

A adição de íons aceptores de elétron, como por exemplo, Ag^+ e outros, pode otimizar a atividade fotocatalítica. Isso ocorre porque esses íons atuam retirando o elétron da banda de condução, diminuindo as taxas de recombinação elétron/lacuna e levando a uma maior produção de radicais hidroxila. No entanto, deve-se tomar cuidado com as quantidades e os tipos de íons adicionados, uma vez que eles podem levar à contaminação da água.

O desenho dos reatores também é muito importante. A maneira como a luz é aproveitada deve ser levada em consideração, pois quanto maiores as perdas, menor a eficiência do processo. O reator do projeto apresenta como vantagem a simplicidade e o fácil manejo, porém leva a grandes perdas de luz, daí a perda da eficiência. Reatores um pouco mais complexos podem levar a um maior aproveitamento da luz.

Assim, apesar da menor eficiência do eletrodo comparado ao pó, devido aos efeitos de transporte de massa, através de medidas operacionais relativamente simples, é possível aumentar a atividade fotocatalítica do TiO_2 imobilizado ou de um eletrodo de titânio, sem apresentar os inconvenientes residuais de eliminação do pó.

5.4-Desinfecção fotocatalítica de *E. coli* utilizando lâmpada de 15 W germicida

A fim de verificar a influência do tipo de fonte luminosa sobre o processo de desinfecção fotocatalítica, foram realizados experimentos com dióxido de titânio em pó, iluminado por lâmpada UV germicida de 15 W.

Conforme podemos perceber pela Figura 12, num período de apenas 10 min, todas as bactérias foram praticamente eliminadas. Esse efeito se deve à ação da lâmpada UV e não do TiO_2 . As partículas de dióxido de titânio praticamente não são sensibilizadas em baixos comprimentos de onda (menores que 300 nm), típicos das lâmpadas germicidas do tipo UV-C. Além disso, essas lâmpadas são muito fortes, capazes de inviabilizar as bactérias mesmo agindo sozinhas.

No entanto, o tratamento fotocatalítico, apesar de mais lento, ainda é preferível em relação ao tratamento com lâmpada germicida. A utilização de lâmpadas UV-C fornecem riscos ao operador, pois causam danos e mutações em DNA humano. Além

disso, muitas vezes a superfície ou a suspensão não é totalmente atingida pela irradiação, que pode ser barrada por algum equipamento, não desinfetando totalmente a área a ser tratada. Os métodos de ozonização, nos quais se baseiam a utilização de lâmpadas UVC também apresentam alto custo, sendo algumas vezes economicamente inviáveis (MILLS et al., 1997).

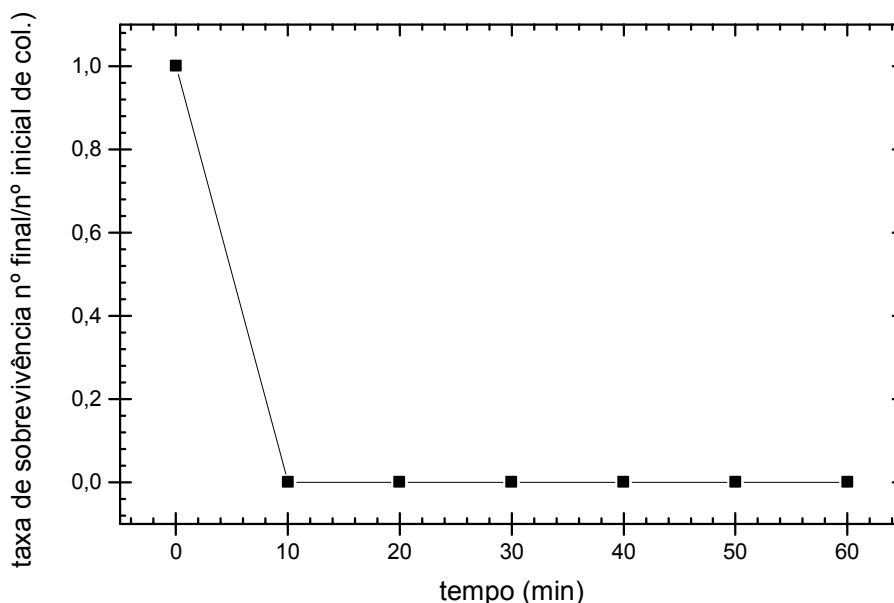


Figura 12: Efeito do tratamento fotocatalítico sobre *Escherichia coli*, utilizando lâmpada UV germicida de 15 W.

5.5 -Desinfecção fotocatalítica e fotoeletroquímica de *Saccharomyces cerevisiae*

Conforme observado na Figura 13, a utilização de TiO_2 em pó praticamente não eliminou as células de *S. cerevisiae* em 150 min. As leveduras são organismos eucarióticos, dotados de uma parede celular espessa, difícil de romper. Portanto, seria esperada uma maior resistência desses microrganismos ao tratamento. Talvez num maior tempo de exposição seja possível verificar a inativação de algumas das células.

MATSUNAGA et al. (1985) conseguiram observar a morte de leveduras em um período de 120 min, utilizando o tratamento fotocatalítico. No entanto, as condições experimentais foram diferentes. Muitos fatores influenciam o processo de desinfecção, como o tipo de fotocatalisador utilizado, a agitação, a fonte luminosa, o tamanho das

partículas e outros. Assim, as diferentes metodologias explicam as diferenças de resultados observados.

No tratamento fotoeletroquímico, seria esperada uma menor eficiência comparada ao tratamento fotocatalítico. Conforme pode ser observado na Figura 14, assim como no tratamento com o dióxido de titânio em pó, o tratamento utilizando o eletrodo também não mostrou-se capaz de inviabilizar as leveduras.

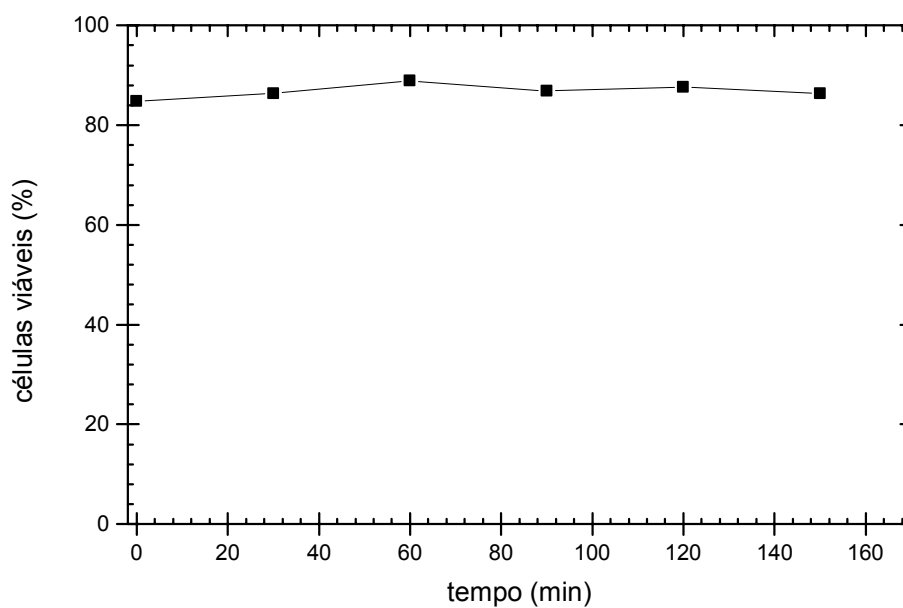


Figura 13: Efeito do tratamento fotocatalítico sobre a morte de *Saccharomyces cerevisiae*.

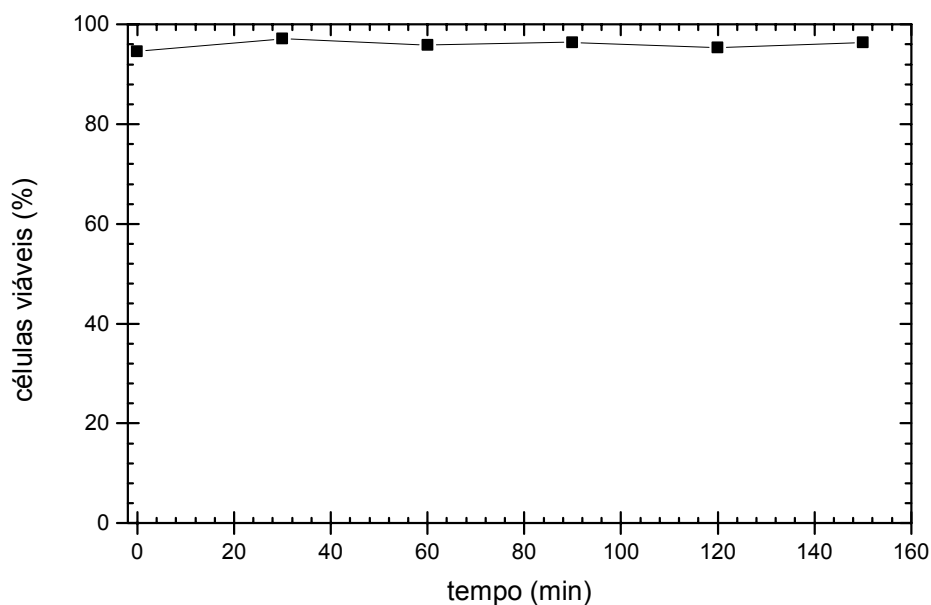


Figura 14: Efeito do tratamento fotoeletroquímico sobre a morte de *Saccharomyces cerevisiae*.

5.6- Efeitos da concentração de sulfato de sódio sobre *Bacillus subtilis*

Inicialmente, o microrganismo Gram-positivo escolhido como modelo foi o *Bacillus subtilis*. No entanto, este microrganismo não apresentou resistência à concentração de 200 mg/L de sulfato de sódio. Dessa forma, não seria possível estimar a desinfecção que estaria ocorrendo pelo processo fotocatalítico, daí sua substituição por *Staphylococcus aureus*. A baixa concentração salina da solução 200 mg/L de sulfato de sódio, provavelmente estaria levando à ruptura e conseqüente inativação das células de *B. subtilis* (Figura 15).

A fim de comprovar se a inativação dos microrganismos estaria se dando por motivos de concentração de sulfato de sódio, foi realizado um teste de resistência do microrganismo em uma solução de sulfato de sódio $1,13 \times 10^4$ mg/L (0,08M)

Conforme observado na Figura 16, em uma solução 0,08 M de sulfato de sódio, não houve inativação dos microrganismos em um período de 60 min, o que sugere que

realmente a baixa concentração da solução 200 mg/L de sulfato de sódio estaria inviabilizando estas bactérias.

Os experimentos não foram simulados com essa nova concentração de sulfato (0,08M), uma vez que a concentração de 200 mg/L foi propositalmente escolhida pois simula uma concentração de sais semelhante àquela presente na água potável, ou seja, a condutividade é semelhante.

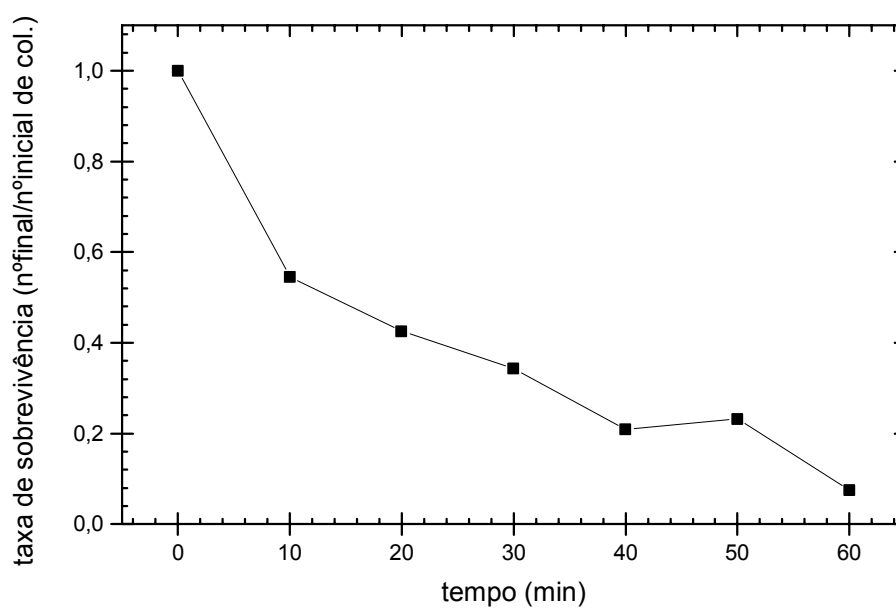


Figura 15: Efeito da concentração de sulfato de sódio 200 mg/L sobre as taxas de sobrevivência de *Bacillus subtilis*.

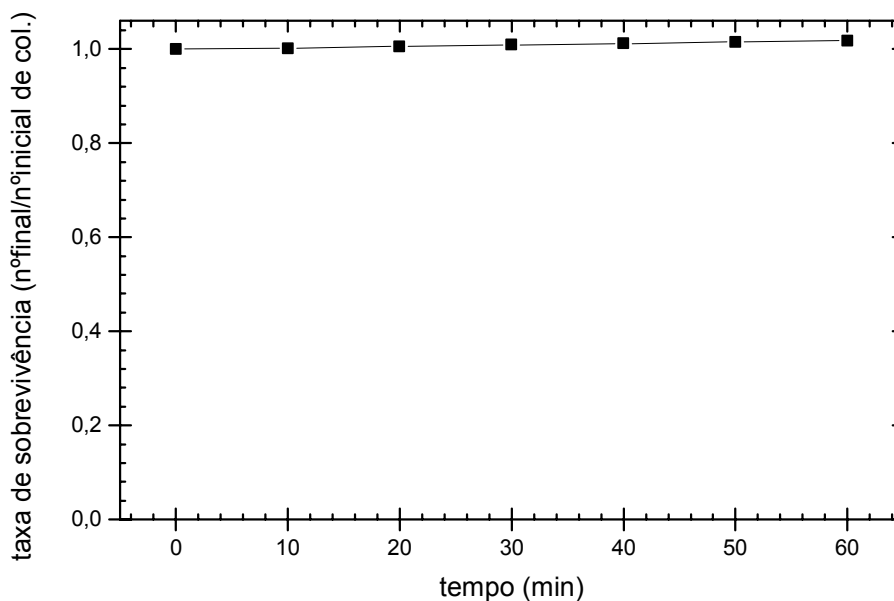


Figura 16: Efeito da concentração de sulfato de sódio $1,13 \times 10^4$ mg/L (0,08 M) sobre as taxas de sobrevivência de *Bacillus subtilis*.

5.7- Desinfecção fotocatalítica e fotoeletroquímica de *Staphylococcus aureus*

Conforme podemos verificar na Figura 17, o tratamento fotocatalítico eliminou aproximadamente 50% das bactérias em 60 min. Na ausência de luz ou na ausência de TiO_2 , não houve inviabilização das bactérias.

O tratamento fotoeletroquímico, por sua vez, apesar das limitações já comentadas, no que se refere ao transporte de massa e à área de superfície do eletrodo, mostrou-se bem mais eficiente que o tratamento fotocatalítico (Figura 18).

A aplicação de um potencial gera um campo elétrico, que poderia favorecer a adsorção de *S. aureus* à superfície do eletrodo, devido à presença de cargas em sua parede celular. Portanto, esse poderia ser um dos motivos que justifique uma maior eficiência do tratamento fotoeletroquímico em comparação ao fotocatalítico, no caso de *S. aureus*.

Além disso, a fotocatalise apresenta algumas limitações, como o efeito de sombra causado pelo TiO_2 em pó. Se as bactérias possuírem como característica uma localização mais profunda do que na superfície da célula eletroquímica, elas não seriam atingidas pelas partículas de TiO_2 sensibilizadas pela luz, sendo inativadas mais facilmente na fotoeletrocatalise, onde não existe limitação na penetração de luz.

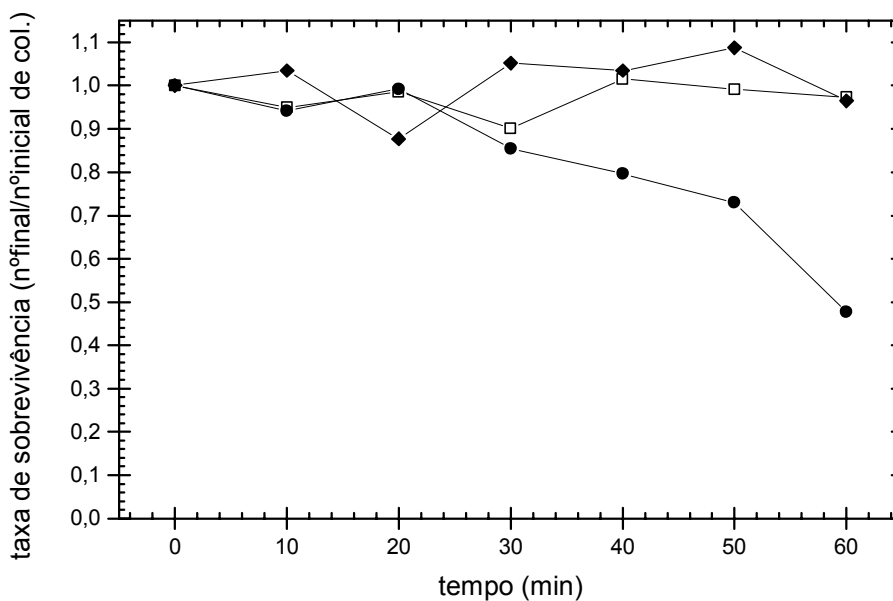


Figura 17: Efeito da atividade fotocatalítica sobre a morte de *Staphylococcus aureus* ao longo do tempo. Aproximadamente 10^6 bactérias foram eliminadas. (●) TiO_2 em pó + UV; (□) apenas TiO_2 em pó, sem UV; (◆) apenas UV, sem pó.

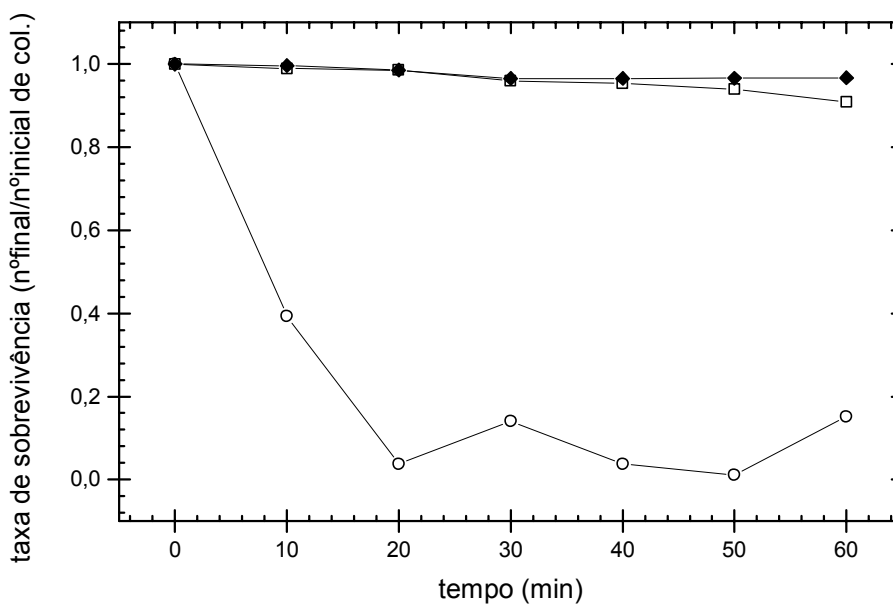


Figura 18: Avaliação da atividade fotoeletroquímica sobre *Staphylococcus aureus*. (○) eletrodo + potencial 1,4 V + UV; (□) eletrodo + potencial 1,4 V, sem UV; (◆) eletrodo + UV, sem potencial.

5.8-Comparação dos três microrganismos quanto à sensibilidade aos processos de desinfecção

Verificou-se na Figura 19 que *Escherichia coli* foi o microrganismo mais sensível ao tratamento fotocatalítico do que *Staphylococcus aureus*.

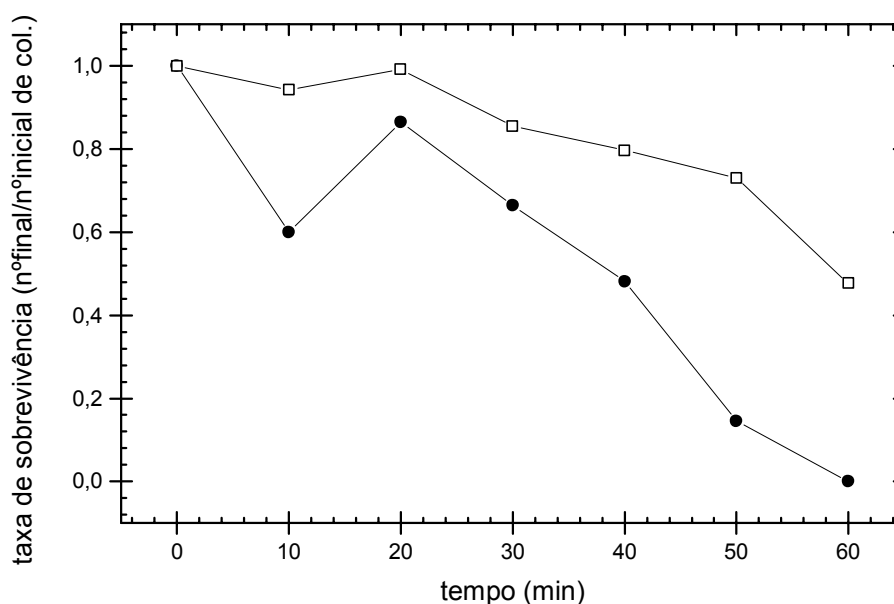


Figura 19: Comparação da eficiência do tratamento fotocatalítico sobre os diferentes microrganismos: *E. coli* (●) e *S. aureus* (□).

Os resultados estão de acordo com aqueles obtidos por KIM et al. (2003), que verificou 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*.

RINCÓN et al. (2004) observaram uma maior resistência de *Enterococcus* sp. ao tratamento fotocatalítico em relação à *E. coli*, a exemplo dos resultados aqui obtidos, por ser um microrganismo Gram-positivo.

Essas diferenças são devidas à constituição da parede celular. As bactérias Gram-positivas apresentam sua membrana plasmática circundada por uma parede celular de 250 Å, composta de peptidoglicanos e ácidos teicóicos. As bactérias Gram-negativas, 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 80Å, tornando-as portanto mais susceptíveis ao ataque pelos radicais hidroxila, que acredita-se ataquem primeiramente a parte mais externa das células, para depois irem para componentes mais internos. KÜHN et al. (2003) também obteve resultados parecidos. Comparando a eficiência do tratamento fotocatalítico sobre uma superfície contaminada com vários microrganismos, verificou 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 *Pseudomonas aeruginosa*, por serem Gram-negativas, apresentam uma parede celular menos espessa do que *S. aureus*, *Enterococcus faecium* (Gram-positivas) e *Candida albicans* (eucarioto).

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 et al., 2004).

No tratamento fotoeletroquímico (Figura 20), no entanto, esse comportamento é diferente, pois *S. aureus* mostrou-se mais sensível do que *E. coli*. Isso porque outros fatores devem estar envolvidos, pois a aplicação de potencial gera um campo elétrico que poderia favorecer a adsorção de *S. aureus* à superfície do eletrodo, devido a cargas em sua parede celular, aumentando sua susceptibilidade ao ataque dos radicais hidroxila, que são gerados justamente na superfície do eletrodo.

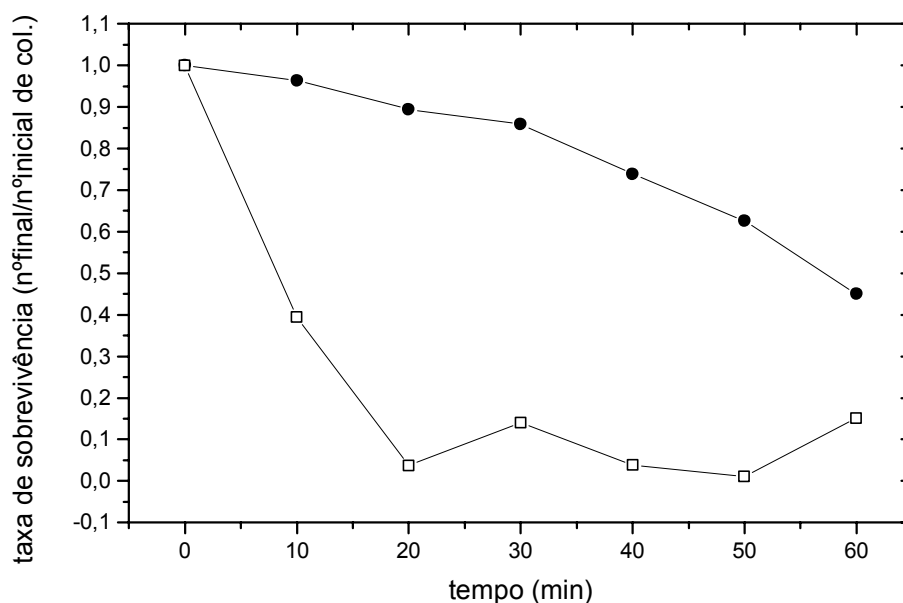


Figura 20: Comparação da eficiência do tratamento fotoeletroquímico sobre os diferentes microrganismos: *E. coli* (●) e *S. aureus* (□).

Os resultados de MATSUNAGA et al. (1985) foram diferentes dos obtidos neste trabalho, no que se refere ao tratamento fotocatalítico, uma vez que eles observaram uma maior sensibilidade dos Gram-positivos em relação aos Gram-negativos. Essas diferenças podem ter se dado devido às diferentes condições experimentais por eles adotadas.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, por sua vez, mostrou-se mais resistente aos dois tratamentos, por tratar-se de um microrganismo eucarioto, com uma parede celular mais espessa e complexa, composta de glicano (30-34%), manano (30%), além de proteínas, lipídeos e quitina (8,5 a 13,5%), segundo PELCZAR et al., 1997. Nesse caso, a fim de conseguir a desinfecção de suspensões contendo esse microrganismo, outras estratégias deveriam ser adotadas, como um aumento da área de superfície do eletrodo ou alterações de outros parâmetros que influenciem a geração de radicais hidroxila, como pH, presença de íons, fonte luminosa dentre outros.

Os resultados, apesar de não explicitarem o mecanismo de ação do método fotocatalítico, indicam que o tratamento promove inicialmente um ataque aos constituintes mais externos da célula, como a parede celular e a membrana plasmática,

conforme afirmam SAITO et al. (1992), BEKBÖLET et al. (1996), KÜHN et al. (2003), SUNADA et al.(1998), MANESS et al. (1999) e HUANG et al. (2000). As conclusões desse trabalho foram diferentes daquelas obtidas por BEKBÖLET et al. que julgavam que as bactérias Gram-negativas seriam mais resistentes. Os resultados demonstraram, de acordo com SAITO et al. (1992), que a parede celular, juntamente com a membrana plasmática, foram as primeiras estruturas a reagirem com os radicais hidroxila.

Assim fica claro que as bactérias Gram-negativas, por apresentarem uma parede celular menos espessa, foram inativadas rapidamente, mostrando-se sensíveis ao tratamento. Por outro lado, as leveduras resistiram por longos períodos, sem serem inativadas, devido à sua espessa parede celular, típica dos eucariotos. O fato dos organismos com parede celular espessa mostrarem-se mais resistentes ao tratamento, quando comparados às células com parede celular menos espessa, sugere que o tratamento fotocatalítico, de fato, deve atacar primeiramente os componentes mais externos da célula, no caso, parede celular e membrana citoplasmática.

5.9- Modelos cinéticos dos processos de desinfecção em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

Para entendermos a cinética de desinfecção e verificarmos a eficiência do processo, propusemos três modelos: um linear, um exponencial de ordem 1 e outro exponencial de ordem 2 . Os modelos propostos para cada microrganismo e condição experimental estão resumidos nas tabelas I, II, III e IV.

Tabela I: Modelos cinéticos para a desinfecção fotocatalítica de *Escherichia coli*.

Modelo cinético (equação)	Coefficiente de correlação (r)
$N_t = -N_0.k.t$ (linear)	0,91462
$N_t = N_0.e(-kt)$ (exponencial ordem 1)	0,81703
$N_t = N_0.e(-kt^2)$ (exponencial ordem 2)	0,9341

Tabela II: Modelos cinéticos para a desinfecção fotoeletroquímica de *Escherichia coli*.

Modelo cinético (equação)	Coefficiente de correlação (r)
$N_t = -N_0.k.t$ (linear)	0,96724
$N_t = N_0.e(-kt)$ (exponencial ordem 1)	0,93527
$N_t = N_0.e(-kt^2)$ (exponencial ordem 2)	0,99143

Tabela III: Modelos cinéticos para a desinfecção fotocatalítica de *Staphylococcus aureus*.

Modelo cinético (equação)	Coefficiente de correlação (r)
$Nt = -No.k.t$ (linear)	0,91568
$Nt = No.e(-kt)$ (exponencial ordem 1)	0,87867
$Nt = No.e(-kt^2)$ (exponencial ordem 2)	0,95708

Tabela IV: Modelos cinéticos para a desinfecção fotoeletroquímica de *Staphylococcus aureus*.

Modelo cinético (equação)	Coefficiente de correlação (r)
$Nt = -No.k.t$ (linear)	0,72141
$Nt = No.e(-kt)$ (exponencial ordem 1)	0,64039
$Nt = No.e(-kt^2)$ (exponencial ordem 2)	0,47045

Nt= número final de bactérias

No= número inicial de bactérias

t= tempo

k= constante dependente do valor de No e t

Conforme podemos observar, em todos os experimentos, com exceção da desinfecção fotoeletroquímica de *Staphylococcus aureus*, o modelo cinético que mais se aplica é $Nt = No.e(-kt^2)$ (exponencial ordem 2), cujos coeficientes de correlação (r) obtidos foram os de maior valor.

No processo de desinfecção fotoeletroquímica de *Staphylococcus aureus*, dentre os modelos cinéticos propostos, o que mais se aplica é $Nt = -No.k.t$ (linear), cujo coeficiente de valor 0,72141 foi o maior obtido. A exemplo do que foi observado nos experimentos, a desinfecção fotoeletroquímica de *S. aureus* foi a que apresentou um resultado mais surpreendente, devido à rapidez com que as bactérias foram inativadas. Esse desempenho surpreendente, refletido inclusive no modelo cinético proposto, é provavelmente devido às influências exercidas pelo campo elétrico na adsorção das células bacterianas à superfície do eletrodo.

5.10- Vantagens do processo fotocatalítico

O processo fotocatalítico de desinfecção é uma alternativa promissora para descontaminação e desinfecção de águas, podendo ser utilizado sozinho ou em conjunto com outros processos de tratamento.

Economicamente falando, é uma boa alternativa comparada a outros métodos como ozonização ou eletrólise, uma vez que a quantidade de energia requerida não é muito grande. Neste projeto, houve uma grande preocupação na utilização de lâmpadas de baixa potência, a fim de trazer benefícios na quantidade de energia economizada.

Sob esse ponto de vista, o projeto apresenta um diferencial em relação a outros desenvolvidos no Brasil. Outros autores como BERTAZZOLI et al., CORDEIRO et al. e KONDO et al. já desenvolvem estudos nessa linha, tendo como base o tratamento fotocatalítico.

BERTAZZOLI et al. utilizam lâmpadas de alta potência (400W), o que torna o processo economicamente desvantajoso, pois requer uma grande quantidade de energia. Além disso, a utilização de lâmpadas de alta potência, aliadas a aplicação de um elevado potencial ao eletrodo, levam a degradação por dois meios distintos: o fotolítico, com a atuação da lâmpada, e o eletrolítico, com a atuação apenas do eletrodo. Nesse caso, temos a ação da lâmpada e do eletrodo agindo em pontos distintos e isoladamente, não caracterizando portanto, o tratamento fotocatalítico, que envolve a ação simultânea do eletrodo e da lâmpada, com geração de radicais hidroxila.

CORDEIRO et al. utilizam lâmpadas do tipo UV-C aliado ao dióxido de titânio em pó para desinfecção de suspensões, fazendo com que as bactérias sejam inativadas muito mais pela luz do que por radicais hidroxila, num processo de fotólise. Além disso, as lâmpadas do tipo UV-C ainda apresentam o inconveniente de provocar riscos à saúde das pessoas que porventura vierem a manipulá-las.

KONDO et al. utilizam lâmpadas de baixa potência (30W) a exemplo deste projeto. No entanto, estas são aplicadas para desinfecção de ar proveniente de aparelhos de ar condicionado.

Embora o tempo de fotocatalise seja maior comparado com o processo eletroquímico, este método é um processo mais seguro, por não deixar resíduos na água. A eletrólise, por outro lado, por envolver eletrodos em contato direto com a água, além

do número de reações químicas envolvidas, pode provocar mudanças na estrutura química da água. Assim, apesar de mais lenta comparada com a eletrólise, a fotoeletrolise é mais confiável, por não provocar mudanças estruturais na água. Os radicais hidroxila produzidos na fotoeletrolise, apesar de altamente reativos, são consumidos rapidamente nas reações de fotooxidação. Assim, não ficam resíduos desses radicais na água, não oferecendo riscos ao consumo humano. Mas alguns cuidados devem ser tomados, sendo recomendado que não se consuma a água imediatamente após a desinfecção.

Dessa forma, este projeto vem trazer uma nova proposta para o tratamento de águas, utilizando a fotocatalise com lâmpadas UV-A de baixa potência, um método promissor que pode ser aplicado com sucesso no Brasil.

Outras pesquisas deveriam ser feitas nesse sentido, inclusive utilizando luz solar aliada à fotocatalise. Essa alternativa poderia ser muito interessante, ainda mais em se tratando do Brasil, um país dos trópicos que enfrenta problemas quanto à qualidade da água e que possui forte incidência de luz solar durante a maior parte do ano.

6-CONCLUSÕES

- O tratamento fotocatalítico e fotoeletroquímico foram eficientes na inativação de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*;
- O tratamento fotocatalítico foi mais eficiente que o tratamento fotoeletroquímico, devido à falta de limitações no transporte de massa, no caso de *Escherichia coli*;
- O tratamento fotoeletroquímico foi mais eficiente que o fotocatalítico, no caso de *Staphylococcus aureus*, provavelmente devido a influências em sua adsorção na superfície do eletrodo, pela geração de campo elétrico a partir da aplicação de potencial;
- A realização do tratamento fotocatalítico na ausência de luz UV-A ou sem o pó de dióxido de titânio, não foi capaz de inviabilizar bactérias *Escherichia coli* ou *Staphylococcus aureus*;
- A realização do tratamento fotoeletroquímico sem luz ou sem aplicação de potencial não foi capaz de inviabilizar bactérias *Escherichia coli* ou *Staphylococcus aureus*;
- A inviabilização das bactérias teve como modelo cinético uma exponencial de ordem 2, exceto para a desinfecção fotoeletroquímica de *Staphylococcus aureus*, que seguiu um modelo linear;
- A utilização de lâmpadas UV-C germicidas foi capaz de inviabilizar bactérias *Escherichia coli*, mesmo na ausência de dióxido de titânio. No entanto, é uma metodologia que fornece riscos à manipulação;

- O tratamento fotocatalítico e fotoeletroquímico não foram capazes de inviabilizar células de *Saccharomyces cerevisiae*, num período de 150 min.

7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEKBÖLET, M.; ARAZ, C.V. Inactivation of *Escherichia coli* by photocatalytic oxidation. **Chemosphere**, Oxford, v. 32, n.5, p. 959-965, 1996.

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**, Berlim, v.20, n.2, p.155-163, 1999.

BERTAZZOLI, R.; PELEGRINI, R. Descoloração e degradação de poluentes orgânicos em soluções aquosas através do processo fotoeletroquímico. **Química Nova**, v. 25, n.3, p. 477-482, 2002.

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.

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.

BUTTERFIELD, I.M.; CHRISTENSEN, P.A.; CURTIS, T.P.; GUNLAZUARDI, J. Water disinfection using an immobilized titanium dioxide film in a photochemical reactor with electric field enhancement. **Water Research**, Londres, v.31, n.3, p. 675-677, 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.

BYRNE, J.A.; DAVIDSON, A.; DUNLOP, P.S.M.; EGGINS, B.R. Water treatment using nano-crystalline TiO₂ electrodes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v.148, n.1-3, p. 365-374, 2002.

CHANG, W.; LIN, W.Y.; ZAINAL, Z.; WILLIAMS, N.E.; ZHU, K.; KRUZIC, A.P.; SMITH, R.S.; RAJESHWAR, K. Bactericidal activity of TiO₂ photocatalyst in aqueous media: toward a solar-assisted water disinfection system. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 28, n.5, p. 934-938, 1994.

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.

CORDEIRO, A.C.S.; LEITE, S.G.F.; DEZOTTI, M. – Inativação por oxidação fotocatalítica de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. **Química Nova**, v.27, n.5, p.689-694, 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.; CHRISTENSEN, P.A. Fate of *Cryptosporidium* oocysts in an immobilised titanium dioxide reactor with electric field enhancement. **Water Research**, Oxford, v.31, n.1-3, p. 2410-2413, 2002.

DIJKSTRA, M.F.J.; BUWALD, H.; DE JONG, A.W.F.; MICHORIUS, A.; WILKELMAN, J.G.M.; BEENACKERS, A.A.C.M. Experimental comparison of three reactor designs for photocatalytic water purification. **Chemical Engineering Science**, Oxford, v.56, n.2, p. 547-555, 2001.

DUNLOP, P.S.M.; BYRNE, J.A.; MANGA, N.; EGGINS, B.R. The photocatalytic removal of bacterial pollutants from drinking water. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v. 148, n. 1-3, p.355-363, 2002.

FUJISHIMA, A.; CAI, R.X.; OTSUKI, J.; HASHIMOTO, K.; ITOH, K.; YAMASHITA, T.; KUBOTA, Y. Biochemical application of photoelectrochemistry: photokilling of malignant cells with TiO₂ powder. **Electrochimica Acta**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 153-157, 1993.

GERISCHER, H. Photoelectrochemical catalysis of the oxidation of organic-molecules by oxygen on small semiconductor particles with TiO₂ as an example. **Electrochimica Acta**, Oxford, v. 38, n.1, p.3-9, 1993.

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**, Dordrecht, v.31, n.6, p. 623-628, 2001.

HARRISON, R.; KOSA, S.; MEYNET, P.; TINLIN, J. The photoelectrochemical detoxification and disinfection of water. Disponível em: <http://www.staff.ncl.ac.uk/p.a.christensen/bug1.htm> (2003)

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 TiO₂ 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, vol. 59, n. 5, p. 1668-1670, 1993.

KIM, B.; KIM, D.; CHO, D.; CHO, S. Bactericidal effect of TiO₂ photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria. **Chemosphere**, Oxford, v.52, n.1, p. 277-281, 2003.

KONDO, M.M; ORLANDA, K.F.F.; FERRREIRA, M.G.A.B.; GRASSI, M.T. Proposição de um reator fotocatalítico para destruição de microrganismos em ambientes interiores. **Química Nova**, v. 26, n.1, p. 133-135, 2003.

KÜHN, K.P.; CHABERNY, I.F.; MASSHOLDER, K.; STICKLER, M.; BENZ, V.W.; SONNTAG, H.G.; ERDINGER, L. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UV-A light. **Chemosphere**, Oxford, v.53, n.1, p. 71-77, 2003.

LUO, J.; HEPEL. Photoelectrochemical degradation of naphthol blue black diazo dye on WO₃ film electrode. **Electrochimica Acta**, Oxford, v.46, n.19, p. 2913-2922, 2001.

MANESS, P.C.; SMOLINSKI, S.; BLAKE, D.M. HUANG. Z.; WOLFRUM, E.J.; JACOBY, W.A. Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an

understanding of its killing mechanism. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.65, n.9, p. 4094-4098, 1999.

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.

MATSUNAGA, T.; TOMODA, R.; NAKJIMA, T.; NAKAMURA, N.; KOMINE, T. Continuous-sterilization system that uses photosemiconductor powders. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, vol. 54, n. 6, p. 1330-1333, 1988.

MATSUNAGA, T.; OKOCHI, M. TiO₂-mediated photochemical disinfection of *Escherichia coli* using optical fibers. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 29, n.2, p. 501-505, 1995.

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.

PARRA, S.; MALATO, S.; PULGARIN, C. New integrated photocatalytic-biological flow system using supported TiO₂ and fixed bacteria for the mineralization of isoproturon. **Applied Catalysis B: Environmental**, Amsterdam, v.36, n.2, p. 131-144, 2002.

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

RAJESHWAR, K. Photoelectrochemistry and the environment. **Journal of Applied Electrochemistry**, Washington, v.28, n. 5, p. 1067-1082, 1995.

RINCÓN, A.; PULGARIN, C.; ADLER, N.; PERINGER, P. Interaction between *E. coli* inactivation and DBP-precursors — dihydroxybenzene isomers — in the photocatalytic

process of drinking-water disinfection with TiO₂. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, v.139, n.2-3, p. 233-241, 2001.

RINCÓN, A.; PULGARIN, C. –Bactericidal action of illuminated TiO₂ 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

SAITO, T.; IWASE, T.; HORIE, J.; MORIOKA, T. Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO₂ on mutants streptococci. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 14, n. 4, p. 369-379, 1992.

SIMMONS, N.A. *Cryptosporidium* and *Giardia lamblia*. **Biologist**, v.38, p.147-148, 1991.

SRINIVASAN, C.; SOMASUNDARAM, N. – Bactericidal and detoxification effects of irradiation semiconductor catalyst, TiO₂. **Current Science**, v. 85, n.10, p.1431-1438, 2003.

SUNADA, K.; KIKUCHI, Y.; HASHIMOTO, K.; FUJISHIMA, A. Bactericidal and detoxification effects of TiO₂ 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 TiO₂ thin film under weak UV light illumination. **Environmental Science and Technology**, Washington, v.37, p. 4785-4789, 2003.

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.

WEI, C.; LIN, W.I.; ZAINAL, Z.; WILLIAMS, N.E.; ZHU, K.; KRUZIC, A.P.; SMITH, R.L.; RAJESHWAR, K.; Bactericidal activity of TiO₂ photocatalyst in aqueous media – toward a solar assisted water disinfection system. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 28, n.5, p. 934-938, 1994.

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