

**USO DE REATOR TIPO CAMADA DELGADA PARA DESINFECÇÃO DE
ÁGUAS DE ABASTECIMENTO CONTENDO *Escherichia coli*, *Staphylococcus
aureus* E *Saccharomyces cerevisiae***

ISABEL CELESTE CAÍRES PEREIRA GUSMÃO

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Júlio 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
Setembro de 2006**

**USO DE REATOR TIPO CAMADA DELGADA PARA DESINFECÇÃO DE
ÁGUAS DE ABASTECIMENTO CONTENDO *Escherichia coli*, *Staphylococcus
aureus* E *Saccharomyces cerevisiae***

ISABEL CELESTE CAÍRES PEREIRA GUSMÃO

Orientador: PROF. Dr. EDERIO DINO BIDOIA

Co-orientador: Dr. PETERSON BUENO DE MORAES

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio
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

Setembro de 2006

Dedico

Dedico este trabalho com carinho e muita gratidão a minha família que amo, meus pais João e Sônia, e meus irmãos Joilson, Rosana e João.

Ao Márcio, meu companheiro, pelo apoio incondicional, confiança, compressão, carinho e dedicado amor.

Um Caminho

Qualquer caminho é apenas um caminho e não constitui insulto algum.

Para si mesmo ou para os outros,

Abandoná-lo quando assim ordena o seu coração.

Olhe cada caminho com cuidado e atenção.

Tente-o tantas vezes quantas julgar necessárias...

Então, faça a si mesmo, e apenas a si mesmo

Uma pergunta: possui esse caminho um coração?

Em caso afirmativo, o caminho é bom.

Caso contrário, esse caminho não possui importância alguma.

Carlos Castañeda

The Teachings of Don Juan

Agradecimentos

Em especial ao meu orientador, Prof. Dr Ederio Dino Bidoia, por todo seu incentivo, orientação e dedicação, e por acreditar em mim e no nosso trabalho. E também por toda a oportunidade de crescimento profissional e pessoal que me proporcionou através de seus ensinamentos.

Ao meu co-orientador, Dr. Peterson Bueno de Moraes pela orientação durante toda esta caminhada. E também por sempre valorizar nossas conquistas.

A todos os professores do Departamento de Bioquímica que contribuíram para o fortalecimento deste trabalho.

Aos técnicos do Departamento de Bioquímica, Maria Luiza, Beto e Inêz pelo incentivo, apoio e pelas palavras de carinho. A vocês o meu muito obrigado.

As amigas: Adriana, Suely, Roberta, Fabiana e Mariana, pelo carinho e amizade.

A amiga Marcela Alves Ribeiro pela disponibilidade na contribuição deste trabalho.

Aos companheiros do Flat Bellegarde Residence: Alexandre Perinotto, Malu, Regina, Luciana e D. Maria, pela amizade nas horas mais difíceis durante essa longa caminhada.

As minhas grandes amigas: Nelma, Sílvia e Rose por me ajudarem durante esta caminhada e sempre torcerem pelas minhas conquistas. Seria difícil expressar em palavras o que vocês significam para mim. Muito obrigado.

A minha turma de mestrado, onde se encontram grandes amigos, por me receberem com tanto carinho e pelo apoio nos momentos difíceis.

Ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia, em especial a coordenadoria de pós-graduação por todo apoio e oportunidades em relação ao curso.

A todas as pessoas que de alguma forma tenham acompanhado e contribuído para realização deste trabalho.

A Deus, pela oportunidade de viver e ser feliz.

ÍNDICE

	PÁGINA
Resumo.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2.0 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 - Água potável.....	4
2.2 - Microrganismos como indicadores da qualidade da água.....	6
2.3 - Processo eletrolítico.....	6
2.4 - Mecanismo geral do tratamento eletrolítico em eletrodos de óxidos	7
2.5 - Efeito do tratamento eletrolítico sobre microrganismos.....	8
2.6-Mecanismos envolvidos na inativação celular obtidos por eletrólise usando eletrodo de titânio.....	12
3.0 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 – Material.....	15
3.2 – Sistema de tratamento eletrolítico.....	15
3.3 – Procedimento experimental.....	17
3.4 - Fonte de corrente.....	17
3.5 – Preparo de meios de cultura.....	18
3.5.1 - Meios de cultura utilizados para a <i>E. coli</i>	18
3.5.2 - Meios de cultura utilizado para o <i>S. aureus</i>	18
3.5.3 – Solução de sulfato de sódio 0,08 M.....	19
3.5.4 – Análises de cloro, peróxido e ozônio.....	19
3.6 - Preparo do inóculo e da suspensão de Bactérias.....	19
3.7 - Preparo de leveduras.....	20
3.8 - Culturas de bactérias em suspensão tamponada.....	20
3.9 - Solução de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisada adicionada ao inóculo....	20
3.10 - Solução de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisada adicionada ao inóculo após 3 h de repouso.....	21
3.11 Tratamento eletrolítico aplicado às suspensões de microrganismos.....	21

	PÁGINA
3.12 –Contagem de microrganismos viáveis por plaqueamento.....	21
3.13 – Contagem do número de leveduras.....	22
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 – Tratamento eletrolítico em suspensão de <i>E. coli</i> em meio não tamponado.....	23
4.2 – Tratamento eletrolítico em suspensão de <i>E. coli</i> em meio tamponado.....	26
4.3 – Solução de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisada na ausência da <i>E. coli</i>	27
4.4 -Tratamento eletrolítico em suspensão de <i>S. aureus</i> em meio não tamponado.....	28
4.5 - Tratamento eletrolítico em suspensão de <i>S. aureus</i> em solução tamponada.....	30
4.6 - Solução eletrolisada de Na ₂ SO ₄ 0,08 M na ausência de <i>S. aureus</i>	31
4.7 -- Solução de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisada com 3 h de repouso adicionada ao <i>S. aureus</i>	32
4.8- Tratamento eletrolítico de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
4.9 – Tratamento eletrolítico de <i>S. cerevisiae</i> em meio tamponado.....	34
4.10 – Comparação dos tratamentos eletrolíticos para os três microrganismos utilizados.....	34
5.0 – A eficiência energética do tratamento eletrolítico.....	35
5.1 – Estudo cinético do tratamento eletrolítico.....	36
6 – CONCLUSÕES.....	38
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
8 – APÊNDICE.....	47

LISTA DE FIGURAS
PÁGINA

<i>Figura 1: Foto dos eletrodos no reator eletroquímico.</i>	16
Figura 2: Foto do reator eletroquímico.	16
Figura 3: Desenho esquemático do tratamento eletrolítico e do reator com os eletrodos.	17
Figura 4: Taxa de sobrevivência da <i>E. coli</i> após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 200 L h ⁻¹ .	25
Figura 5: Taxa de sobrevivência da <i>E. coli</i> após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 500 L h ⁻¹ .	26
Figura 6: Taxa de sobrevivência da <i>E. coli</i> após o tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. Corrente de 3,0 A e vazão de 500 L h ⁻¹ .	27
Figura 7: Taxa de sobrevivência da suspensão de <i>E. coli</i> que foi adicionada à solução eletrolisada de Na ₂ SO ₄ 0,08 M. Corrente 3,0 A e vazão de 200 L h ⁻¹ .	28
Figura 8: Taxa de sobrevivência da <i>S. aureus</i> após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 200 L h ⁻¹ .	29
Figura 9: Taxa de sobrevivência da <i>S. aureus</i> após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (●) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 500 L h ⁻¹ .	29
Figura 10: Taxa de sobrevivência do <i>S. aureus</i> após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. Corrente de 3,0 A e vazão de 500 L h ⁻¹ .	30
Figura 11: Taxa de sobrevivência da suspensão do <i>S. aureus</i> que foi adicionada à solução eletrolisada de Na ₂ SO ₄ 0,08 M com corrente 3,0 A e vazão de 200 L h ⁻¹ .	31
Figura 12: Taxa de sobrevivência da suspensão do <i>S. aureus</i> que foi adicionada à solução eletrolisada de Na ₂ SO ₄ 0,08 M. Corrente de 3,0 A e vazão de 200 L h ⁻¹ .	32
Figura 13: Taxa de sobrevivência da suspensão de <i>S. cerevisiae</i> submetida ao tratamento eletrolítico (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲); 3,0 A na vazão de 200 L h ⁻¹ .	33
Figura 14: Efeito do tratamento eletrolítico sobre <i>S. cerevisiae</i> em meio tamponado com 3,0 A na vazão de 500 L h ⁻¹ .	34
Figura 15: Efeito do tratamento eletrolítico sobre <i>S. cerevisiae</i> (▲), <i>E. coli</i> (■) e <i>S. aureus</i> (●) utilizando 3,0 A na vazão de 200 L h ⁻¹ em solução não tamponada.	35

APÊNDICE
PÁGINA

Tabela 1: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	47
Tabela 2: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	47
Tabela 3: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	47
Tabela 4: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	48
Tabela 5: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	48
Tabela 6: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	48
Tabela 7: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> em tampão fosfato 0,1 M	49
Tabela 8: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>E. coli</i> após adição de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisado com 1h e adicionado em seguida o microrganismo	49
Tabela 9: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	49
Tabela 10: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	50
Tabela 11: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	50
Tabela 12: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	50
Tabela 13: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	51
Tabela 14: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em Na ₂ SO ₄ 0,08 M	51
Tabela 15: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> em tampão fosfato 0,1 M.	51
Tabela 16: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> após adição de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisado com 1h e adicionado em seguida o microrganismo	52
Tabela 17: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. aureus</i> após adição de Na ₂ SO ₄ 0,08 M eletrolisado com 3h e adicionado em seguida o microrganismo	52
Tabela 18: Resultados do tratamento eletrolítico sobre <i>S. cerevisiae</i> em Na ₂ SO ₄	52

0,08 M

Tabela 19: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em Na₂SO₄ 53

0,08 M

Tabela 20: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em Na₂SO₄ 53

0,08 M

Tabela 21: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em tampão 53

fosfato 0,1M

RESUMO

O tratamento eletrolítico tem um grande número de aplicações no tratamento de água, na remoção física de sólidos por flotação e na destruição química de compostos e na desinfecção de microrganismos. Oxidantes químicos têm uma vital importância na desinfecção de água de abastecimento. O cloro é o desinfetante mais usado, porém não elimina todos os patógenos. Radicais hidroxila (OH^\bullet), que são provenientes do tratamento eletrolítico, é mais reativo do que o cloro, sendo um oxidante alternativo para a desinfecção. O tratamento eletrolítico pode ser um substituto ou complementar para o processo de cloração com as seguintes vantagens: tratamento em curto período de tempo, não requer adição de nenhuma substância ao processo. O presente trabalho testou o efeito do tratamento eletrolítico operando em sistema de batelada com recirculação, utilizando eletrodos de anodo de composição de igual a 70% de TiO_2 e 30% de RuO_2 e catodo de aço-inoxidável na viabilidade de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae* nas vazões de 200 L h^{-1} e 500 L h^{-1} com as correntes de 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A em 60 min de tratamento. Após aplicação da corrente contínua nos tempos pré-determinados, foram analisados o pH, condutividade, tensão, temperatura e viabilidade celular. Os resultados permitiram concluir, que o tratamento eletrolítico permitiu uma inviabilização em cerca de 100% para *E. coli* em 45 min de eletrólise e o *S. aureus* foi inviabilizado na sua totalidade em 15 min. Ao passo que, o tratamento não possibilitou uma redução significativa da *S. cerevisiae*. O aumento da corrente promoveu uma maior produção de OH^\bullet inviabilizando os microrganismos. Por isso, neste trabalho, os fatores responsáveis pela inviabilização foram: OH^\bullet , gradiente de pH e agentes desinfetante. Portanto, é um tratamento promissor para desinfecção de bactérias, ocorrendo uma sanitização da água.

ABSTRACT

The electrolytic treatment has a great number of applications in the water treatment. The physical-chemical treatment for solid removal uses flotation and, also it is necessary to put some chemical substances for promoting microorganism disinfection. The chlorine is the disinfectant most used, however it does not eliminate all the pathogens. Hydroxyl radicals (OH^\bullet) are generated in the electrolytic treatment and they are more reactive than chlorine and also an alternative oxidant for disinfection. The electrolytic treatment can be a substitute or a complement for chlorination processes with the following advantages: the treatment uses a short period of time and, it does not require addition of chemical substance. In the present study the electrolytic treatment effect was operated in batch with recirculation. It uses anode, which the composition was 70% of TiO_2 plus 30% of RuO_2 . On the other hand, the cathode was made of stainless steel. The viability of *S. aureus*, *E. coli*, and *S. cerevisiae* was studied using a flow rate of 200 L h^{-1} and 500 L h^{-1} , also it was used DC currents of 1.0, 2.0 and 3.0 A for up to 60 min. During the electrolytic treatment were analyzed pH, conductivity, electrical tension, temperature and cellular viability. The results showed that the electrolytic treatment was able to decrease cellular viability in about 100% for *E. coli* in 45 min and for the *S. aureus* was about 15 min. However, the electrolytic treatment was not able to kill the *S. cerevisiae*. The increase of the DC current promoted a better disinfection. Therefore, in this study, the responsible factors for the inactivation had been: OH^\bullet , pH gradient and other oxidant agents. Thus, the electrolytic treatment used in this study can be very viable for bacteria disinfection and leading a water sanitization.

1 – INTRODUÇÃO

O nosso planeta é constituído aproximadamente por dois terços de água. Por ser um recurso natural muito acessível e aparentemente inesgotável, foi utilizado de forma desmedida e irracional, principalmente após a revolução industrial. No século XX, enquanto a população mundial cresceu 3 vezes, o consumo de água cresceu 6 vezes, sendo que apenas em 26 anos (1970 a 1995) a qualidade dos ecossistemas mundiais de água doce sofreu uma queda de 45%. No contexto global, 22 países no mundo já sentem com a falta permanente deste recurso. Em alguns países africanos, o uso de água per capita não é superior a 10 L ao dia (Nebel e Wright, 2000), sendo que em aproximadamente 20 anos poderá haver uma crise mundial relacionada com a disponibilidade de água de boa qualidade, segundo especialistas (Grassi, 2001).

O Brasil pode ser considerado um país privilegiado em relação a este recurso, pois detém cerca de 13% de toda água potável do mundo, dos quais 80% estão na região amazônica. Apesar disso, muitas bacias hidrográficas e aquíferos encontram-se em crescente estágio de contaminação e muitas localidades brasileiras já são atingidas pela escassez de água limpa potável.

A contaminação dos cursos d'água pode ser química ou biológica e rotineiramente se faz necessária à aplicação de processos para tratamento. Quando visando abastecimento público, os processos convencionais de tratamento utilizados são baseados na adição de substâncias químicas oxidantes - tais como o cloro - e podem apresentar eficiência limitada (necessidade de cloro residual, por exemplo) ou efeitos

secundários indesejados, tais como a formação de trihalometanos (Tominaga e Midio, 1999). Quando não adequadamente tratada, a água, serve de veículo para infecções por parasitas e patógenos. Segundo a Organização Mundial de Saúde, 80% de todas as doenças que se alastram nos países em desenvolvimento são provenientes de águas contaminadas.

Objetivando suprimir limitações e inconvenientes oriundos dos processos convencionais de tratamento, pesquisadores têm ao longo das últimas décadas, desenvolvido métodos e técnicas alternativas ou complementares para tratamento de águas de abastecimento e residuárias. Entre estas, o tratamento eletrolítico com eletrodos de óxidos. O processo eletrolítico pode contribuir como tratamento alternativo ou complementar aos processos biológicos devido à sua alta eficiência em relação à remoção de coliformes e a alta qualidade organoléptica, ou seja, baixa turbidez, reduzida cor e ausência de odor (Wiendl, 1998).

Em águas residuárias, a aplicação deste tipo de processo tem se mostrado muito útil, especialmente quando há substâncias persistentes, pois permitem aumento da biodegradabilidade, bem como diminuição da toxicidade de efluentes (Angelis et al., 1998). O processo eletrolítico pode apresentar as seguintes vantagens em relação aos processos biológicos convencionais e alguns processos de adsorção/absorção (Rajeshwar et al., 1994):

Compatibilidade ambiental - o reagente principal é o elétron, e predominantemente não é necessária adição de reagentes químicos que podem gerar subprodutos tóxicos ao final do processo;

Facilidade de automação - é passível de fácil automatização, uma vez que as variáveis envolvidas nos processos eletroquímicos são facilmente controladas ou monitoradas, proporcionando melhor controle nas operações e simplificando a planta do processo de tratamento;

Versatilidade - a concepção modular confere ao tratamento a característica de não necessitar de grande infra-estrutura, ou seja, as dimensões do sistema são proporcionalmente pequenas àquelas do tratamento biológico, não requerendo longos tempos de retenção em grandes tanques ou lagoas. Pode ser expansível, podendo ser tratados desde pequenos volumes até milhões de litros. Devido às características do

processo, pode-se trabalhar com muitos tipos de poluentes e, além disso, todos os materiais utilizados são facilmente encontrados comercialmente;

Eficácia - em geral, o tratamento não cria problemas ambientais subsequentes para diversos tipos de resíduos com o descarte de sólidos, pois permite na maioria dos casos, a recuperação de produtos aproveitáveis, ao contrário de muitos processos, que apenas transferem de fase o problema da contaminação e necessitam de tratamento adicional posterior à mistura contaminante/oxidante.

Em geral utiliza-se para estudos de desinfecção eletrolítica microrganismos com diferentes composições de paredes celulares. Para o caso de um Gram positivo a parede celular é composta de aproximadamente 90% de peptidoglicano; além desta macromolécula, encontram-se proteínas e ácidos teicóicos que podem representar até 50% da massa seca da parede. Para a bactéria Gram negativa a parede celular é formada por uma ou poucas camadas de peptidoglicano e por uma membrana externa, além do espaço periplasmático que separa a membrana citoplasmática da membrana externa e o eucarioto apresenta na sua parede celular, glucanas, lipídeos, proteínas e outros carboidratos e tendo uma parede espessa que confere rigidez às células (Ribeiro, 2005).

OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo utilizar o tratamento eletrolítico operando em batelada com recirculação como um meio de desinfecção de água de abastecimento, empregando um reator com eletrodos de óxidos ($\text{TiO}_2 + \text{RuO}_2$) como anodo, também conhecido como anodo dimensionalmente estável (ADE ou “DSA”), e catodo de aço inoxidável a fim de verificar a mortalidade dos procariotos *Escherichia coli* (Gram negativa), *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) e da Gram positiva *Saccharomyces cerevisiae* (eucarioto).

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - Água potável

De acordo com a Portaria no 518/2004 da ANVISA (Macêdo, 2005), são observados os seguintes parâmetros:

I - A água potável é água pura para consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde;

II - O controle da qualidade da água para consumo humano é um conjunto de atividades exercidas de forma contínua pelos responsáveis pela operação de sistema ou solução alternativa de abastecimento de água, destinadas a verificar se a água fornecida a população é potável, assegurando a manutenção desta condição;

III - Os coliformes totais (bactérias do grupo coliforme) são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase–negativa, capazes de se desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a 35°C em 24-48 h, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *E. coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo;

IV - Os coliformes termotolerantes são subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a 44,5°C em 24 h, produzem indol a partir do triptofano, oxidase-

negativa, não hidrolisam a uréia e apresentam atividade das enzimas β -galactosidase e β -glucuronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos;

V - A contagem de bactérias heterotróficas: determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir unidades formadoras de colônias (UFC), na presença de compostos orgânicos contidos em meio de cultura apropriada, sob condições pré-estabelecidas de incubação: 35°C por 48 h;

VI - As cianobactérias são microrganismos procarióticos autotróficos, também denominados como cianofíceas ou algas azuis, capazes de ocorrer em qualquer manancial superficial especialmente naqueles com elevados níveis de nutrientes (nitrogênio e fósforo), podendo produzir toxinas com efeitos adversos à saúde;

VII - As cianotoxinas são toxinas produzidas por cianobactérias que apresentam efeitos adversos à saúde por ingestão oral.

Macêdo (2005) descreve que as águas de abastecimento apresentam o risco de serem poluídas por águas residuárias e excreções de origem humana ou animal, podendo desta forma, conter organismos patogênicos, tornando-se assim um veículo de transmissão de doenças. Por isso, impõe-se a necessidade de exames rotineiros das mesmas, para determinar seu grau de segurança do ponto de vista bacteriológico.

A determinação do número mais provável de coliformes em uma dada amostra é efetuada a partir da aplicação da técnica de tubos múltiplos. Esta técnica é baseada no princípio de que as bactérias presentes em uma amostra podem ser separadas umas das outras por agitação, resultando em uma suspensão de células bacterianas individuais, uniformemente distribuídas na amostra original e consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequada ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado em uma série de tubos (Macêdo, 2005). A presença de coliformes na água indica poluição com o risco potencial da presença de organismos patogênicos, e sua ausência é evidência de uma água potável, uma vez que são mais resistentes na água que as bactérias patogênicas de origem intestinal.

2.2 - Microrganismos como indicadores da qualidade da água

A análise microbiológica de águas para determinar a potabilidade deve levar em consideração os itens abaixo:

I - Os agentes patogênicos têm acesso esporádico ao ambiente hídrico e não demonstram sobrevivência durante um longo período de tempo;

II - Estando em pequeno número, os microrganismos patogênicos podem não ser detectados pelos procedimentos laboratoriais;

III - É necessário um período de pelo menos 24 h para a obtenção de resultados laboratoriais para microrganismos patogênicos. Detectada a presença desses microrganismos durante esse período, muitas pessoas teriam consumido a água e estariam expostas a esses microrganismos patogênicos (Pelczar et al., 1997).

2.3 - Processo eletrolítico

O processo eletrolítico foi desenvolvido no século XIX, sendo que os primeiros relatos referem-se a patentes requeridas por Eugene Hermite na Inglaterra e na França no ano de 1887. Algumas regiões desses países utilizaram o tratamento eletrolítico em esgoto doméstico. Em Leeds, Webster utilizou desta tecnologia para tratamento do esgoto doméstico misturado a água do mar. Entretanto, nas décadas seguintes, o processo foi abandonado devido a dificuldades relacionadas com materiais para fabricação de eletrodos, o elevado custo em relação aos métodos convencionais e algumas dúvidas sobre a eficiência do método (Wiendl, 1985).

No Brasil, o processo foi retomado, por Wiendl em 1985 mediante a implantação, em caráter pioneiro, de uma estação de tratamento de esgoto no município de Iracemápolis, SP. Pode-se verificar após o tratamento, acentuadas diminuições na DQO, (determinação da demanda química de oxigênio) na DBO (determinação da demanda bioquímica de oxigênio) e na contagem de coliformes fecais, acompanhadas de aumento de sólidos sedimentáveis (Wiendl, 1985).

Atualmente este processo está sendo utilizado em diversos processos de fabricação e está em crescente utilização na área ambiental, representando formas alternativas de pré-tratamento ou polimento de resíduos líquidos. A gama de

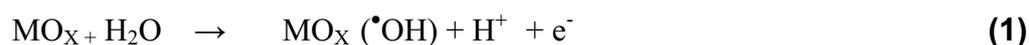
aplicabilidade é grande, sendo possível remediar diversos tipos de efluentes de diferentes origens, tais como efluentes têxteis, de refinaria de petróleo, indústria suco-alcooleira, indústria de papel e celulose, indústria farmacêutica, galvanoplastia, chorume de lixo, entre outros (Lin e Peng, 1994; Naumczyk et al., 1996; Bidoia et al., 1998; Moraes, 2000; Moraes, 2004; Pelegrini et al., 2001; Lanza e Bertazolli, 2002; Moraes e Bertazolli, 2005).

2.4 - Mecanismo geral do tratamento eletrolítico em eletrodos de óxidos

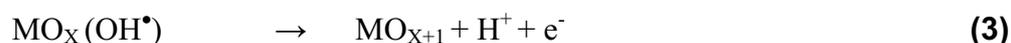
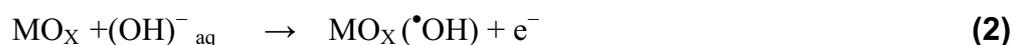
Na aplicação do tratamento eletrolítico, o modo de degradação oxidativa, pode ser dividido em eletrólise direta e eletrólise indireta. Na eletrólise direta, os poluentes são degradados por reações de transferência de cargas na superfície do eletrodo, sem o envolvimento de outras substâncias. Normalmente esta modalidade de eletrólise tem cinética lenta, tornando-se mais difícil do ponto de vista prático. Na eletrólise indireta, a eletroxidação de compostos orgânicos pode ocorrer através de vários mecanismos, todos eles ligados à formação do radical (OH^\bullet) a partir da descarga da água.

Inicialmente, os radicais OH^\bullet são adsorvidos na superfície do anodo, conforme as equações 1 e 2 abaixo (Simond et al., 1997). No caso dos anodos dimensionalmente estáveis (ADE), tais como o de $\text{RuO}_2 + \text{TiO}_2$, os óxidos metálicos imobilizados na superfície do tipo MO_x incorpora um radical hidroxila, e através da possível transferência do oxigênio do radical adsorvido para o retículo cristalino do óxido, é formado um óxido superior do tipo MO_{x+1} , de acordo com a equação 3.

Meio Ácido



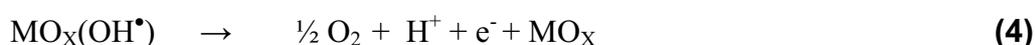
Meio Alcalino



Pode-se dizer que o “oxigênio ativo” na superfície do eletrodo encontra-se adsorvido tanto quimicamente (no retículo cristalino MO_{x+1}), como fisicamente através dos radicais hidroxila, $\text{MO}_x(\text{OH}^\bullet)$.

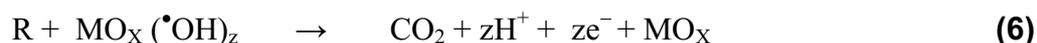
Na ausência de compostos orgânicos oxidáveis no meio, o “oxigênio” produz O_2 de acordo com as equações 4 e 5. A liberação deste oxigênio adicional oxida a espécie orgânica, ocorrendo a regeneração da superfície do eletrodo (Comninellis e Platner, 1986).

Neste caso a evolução simultânea de oxigênio é um processo competitivo.



Na presença de compostos orgânicos (R), acredita-se que ocorram reações de combustão completa pela ação do “oxigênio ativo” adsorvido fisicamente (equação 6).

A formação de produtos de oxidação seletiva é devido ao “oxigênio ativo” adsorvido quimicamente (equação 7).



2.5 - Efeito do tratamento eletrolítico sobre microrganismos

Rosemberg et al. (1965) em estudos pioneiros dos efeitos de campo elétrico no processo de crescimento bacteriano observaram que, após aplicação de eletrólise com eletrodos de platina em suspensões de *E. coli* ocorreu inibição do processo de divisão celular além da formação de longos filamentos. A pesquisa constatou que outros metais de transição do grupo VIII-B (ferro, cobalto, rutênio, ródio, paládio, irídio, platina) quando adicionados ao meio de cultura, também provocaram inibição celular.

Segundo Stoner et al. (1982) aproximadamente 40 espécies de microrganismos, entre bactérias, vírus e algas, podem ser efetivamente destruídos por tratamento eletrolítico.

Também, Matsunaga et al. (1984) relataram sobre a utilização de diversos processos eletrolíticos para a destruição de células microbianas. Nestes processos, substâncias geradas tais como o cloro, o peróxido de hidrogênio e complexos metálicos podem ser os responsáveis pela morte dos microrganismos.

Patermarakis e Fountoukidis (1990) estudaram a aplicação do processo eletrolítico em sistema de batelada usando corrente contínua com eletrodos de titânio em águas de abastecimento contaminadas com coliformes fecais. Sem adicionar reagentes químicos no tratamento, observaram que a morte das bactérias foi independente da concentração inicial dos microrganismos e que a velocidade de mortalidade está diretamente relacionada à densidade de corrente aplicada que foi atribuída ao oxigênio atômico, ao ozônio, Cl^- , HOCl , OCl^- e OH^- .

She et al. (2006) analisaram a degradação de compostos xenobióticos pela bactéria *Enterobacter dissolvens* através do processo eletrolítico, utilizando eletrodos de fios de platina de diâmetro igual a 0,3 mm, aplicando as correntes de 5 mA, 10 mA, 20 mA e 100 mA por 30 min. Foi observado a destruição da membrana celular microbiana, devido a presença de OH^\bullet , H_2O_2 e O_2^\bullet gerados pela eletrólise, onde a maior inviabilização celular ocorreu com as correntes de 20 mA e 100 mA.

Liang et al. (2005) aplicaram eletrólise na cianobactéria *Microcystis aeruginosa* utilizando Ti/RuO_2 com uma densidade de corrente de 1 a 10 mA cm^{-2} durante 52 min em voltagem entre 3,5 e 9,2 V. Concluíram que a morte da alga foi devido ao stress oxidativo ou devido a geração de espécies oxidantes como OH^\bullet gerados pela eletrólise. Concluindo que, a morte celular da alga foi causada pelo stress oxidativo ou devido à geração de espécies oxidantes como OH^\bullet gerados pela eletrólise.

Nakayama et al. (1998) eletrolisaram água do mar contendo *Vibrio alginolyticus* ATCC17749 utilizando TiN por 30 min aplicando 0,8 V. Propuseram que a inativação eletroquímica está relacionada a CoA e a transferência de elétron entre a célula e o eletrodo, sem a geração de substâncias tóxicas.

Drogui et al. (2001) eletrolisaram água mineral contendo *Pseudomonas aeruginosa* utilizando catodo de zinco, ou de cobre, ou de grafite e utilizaram como

anodo titânio recoberto com RuO₂ e carbono vítreo. Observaram que a eletrólise induz a um gradiente de pH que afeta a bactéria e que a produção de peróxido de hidrogênio e radicais livres foi proporcional à intensidade da corrente aplicada, sendo que as proteínas foram facilmente inativadas por oxidação anódica direta na superfície do eletrodo.

Matsunaga et al. (1992) construíram um reator eletroquímico empregando eletrodos de carbono visando obtenção de água potável. Obtiveram após 10 min de tratamento em sistema batelada com tensão de 0,7 V uma taxa de sobrevivência de bactérias *E. coli* K-12 menor que 2%. A alta taxa de desinfecção proporcionada pelo experimento foi explicada devido à oxidação direta da Coenzima A intracelular das bactérias. Analisando este fato, os autores sugeriram a aplicabilidade deste sistema para desinfecção de outros microrganismos, tais como vírus, protozoários e leveduras. A causa de morte pela ação da oxidação da Coenzima A, foi posteriormente constatado por Okochi e colaboradores (Okochi et al., 1999) em estudos por voltametria cíclica.

Bratfich et al. (1996) aplicaram eletrólise com corrente contínua em sistema batelada usando eletrodos de aço-inoxidável 304 em suspensões de *Saccharomyces cerevisiae* e *Bacillus subtilis* e obtiveram diminuição da viabilidade deste último em 99,9% enquanto que no caso da levedura *S. cerevisiae* observaram floculação após 60 min de eletrólise, apesar da levedura pertencer a uma linhagem geneticamente não floculante. Em trabalho posterior (Bratfich et al., 1999), observaram que a levedura *S. cerevisiae* foi mais resistente ao processo que bactérias como *Bacillus subtilis* e *E. coli*. Os autores atribuíram a morte dos microrganismos à capacidade redutora do íon ferroso, além da transferência de carga na interface eletrodo/solução. A maior resistência da levedura ao tratamento foi atribuída a sua parede celular mais espessa e de natureza diferente da parede das bactérias.

Okochi et al. (1999) realizaram experimentos nos quais utilizaram eletrólise com eletrodos de grafite e calomelano saturado para oxidar ácido ferrocenomonocarboxílico (AFC) dissolvido em água do mar a 0,4 V por 60 min para estudar a morte de *E. coli*, *S. cerevisiae* e *B. subtilis*. Utilizando a voltametria cíclica observaram que a CoA foi oxidado na reação anódica inviabilizando os microrganismos. Obtiveram uma taxa de mortalidade dos microrganismos superior a

95% graças ao efeito do AFC oxidado devido á eletrólise, uma vez que o mesmo não foi observado com o uso do AFC sem eletrólise.

Zinkevich et al. (2000) estudaram o mecanismo de ação do Sterilox, um biocida líquido produzido por eletrólise utilizando eletrodo de titânio com uma suspensão salina diluída em células de *E. coli* JM109. Os resultados revelaram total destruição de DNA, proteínas e plasmídeo em 5 min de tratamento eletroquímico.

Kiura et al. (2002) investigaram o efeito germicida de uma solução aquosa fracamente ácida de NaCl 0,03% e outra fortemente ácida 0,05% a qual foi eletrolisada por 45 min a 3,0 A e 25 min a 6,0 A para estudar, o potencial de desinfecção contra *Mycobacteria*, *B. subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Foi observada inibição do crescimento bacteriano devido à geração de Cl⁻, HClO, Cl₂ ocorrendo inativação da enzima citoplasmática e danos na membrana externa da *P. aeruginosa*. Esse estudo foi feito para verificar o potencial de desinfecção do NaCl que é utilizado com desinfectante em procedimentos clínicos. Foi observado que a menor concentração apresentou um melhor resultado em relação a efeitos corrosivos.

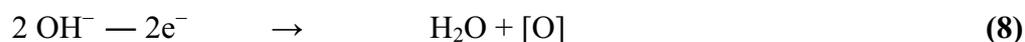
Guillou et al. (2003) estudaram os efeitos da eletrólise em tampão fosfato de suspensões de *Saccharomyces cerevisiae* em baixa corrente através dos métodos de contagem de placas e determinação de ATP. Aplicando uma corrente de 0,5 A durante 3 h, os autores observaram diminuição da viabilidade durante o processo e verificaram efeito letal para as células em todos os métodos.

Nakajima et al. (2004) examinaram a eficiência da aplicação do tratamento eletrolítico em água de torneira artificialmente contaminada com *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Legionella pneumophila*, *Staphylococcus aureus* e *B. subtilis*. Utilizando eletrodos de platina-irídio em modo batelada, foi observado que com 5 min de tratamento utilizando-se valores de corrente entre 0 e 30 mA foi possível obter a esterilização em relação à *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Legionella pneumophila* e *S. aureus*. O *B. subtilis* mostrou ser mais resistente, não sendo possível sanitização de uma suspensão de 10⁶ UFC mL⁻¹ mesmo aplicando-se uma corrente de 50 mA durante 30 min. Os pesquisadores atribuíram o efeito bactericida ao cloro livre e à destruição das membranas das bactérias, seguido por agregação das proteínas citoplasmáticas periféricas.

2.6 - Mecanismos envolvidos na inativação celular durante eletrólise usando eletrodos de titânio

Conforme exemplificado nos trabalhos no item 2.5 acima, vários são os mecanismos associados à morte de microrganismos. De modo geral, quando altos potenciais são aplicados em células pode haver a destruição da membrana citoplasmática ou simplesmente aumentar a permeabilidade e diminuir a seletividade, fenômeno denominado de eletroporação. A eletroporação pode ser reversível ou irreversível. Quando irreversível, há formação de rupturas na membrana, levando à morte da célula. Na eletroporação reversível, o rompimento da membrana celular é ínfimo, a morte celular pode ocorrer e a permeabilidade da membrana é maior (Lubick e Jayaram, 1997; Lee e Tai, 1999).

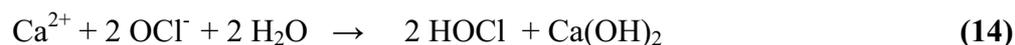
Em trabalhos usando eletrodo de titânio para desinfecção de águas contendo microrganismos (Patermarakis e Fountoukidis, 1990) foram propostas as seguintes reações para explicar a desinfecção proporcionada pelo tratamento eletrolítico:



Devido ao baixo tempo de vida do radical oxigênio, acredita-se que sua ação ocorra somente nas proximidades da superfície do eletrodo. Também no anodo, ozônio pode ser gerado segundo as reações:



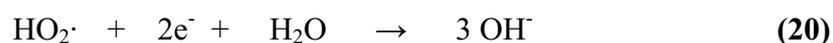
Os radicais HO_2^\bullet e OH^\bullet exercem uma grande ação desinfetante em curto espaço de tempo. No caso de águas contendo sais, são possíveis ainda as reações, as quais geram produtos com propriedades oxidantes para bactérias:



Como no catodo ocorrem reações de redução, também podem ser produzidas espécies letais, embora sejam agentes desinfetantes ativos muito instáveis e tempo de vida curto:



Estes íons podem se decompor formando oxigênio atômico com alta atividade desinfetante e vidas curtas, que age em toda a solução:



O campo elétrico formado também pode promover a destruição de bactérias. Neste caso, ocorre a dimerização da Coenzima A.

Dress et al. (2003) utilizando eletrólise com eletrodos de platina demonstraram que foi possível desinfetar água e diminuir o número de bactérias e fungos em alimentos com *E. coli* e bacteriófago MS2 e PRD1 entre 25 e 350 mA durante 5 min.

Observou-se que a *E. coli* foi inviabilizada em 5 mA por 20 min, enquanto que o bacteriófago mostrou-se mais resistente. Contudo, pouca pesquisa tem sido conduzida com relação à eficiência da corrente elétrica na inativação de vírus. Os autores observaram que a eletrólise gera uma variedade de oxidantes na presença de oxigênio, incluindo peróxido de hidrogênio e ozônio, como também cloro e dióxido de cloro quando íons cloreto estão presentes na solução. Pesquisas indicam que agentes antimicrobianos e a corrente elétrica atuam em conjunto para inativar microrganismos. A exposição de corrente elétrica permite a formação permanente de poros e subsequente destabilização da membrana celular. Esses poros permitem o acesso de oxidantes livres no interior da célula. Embora, poucos estudos tenham sido feitos com vírus, a expectativa é que os vírus sejam mais resistentes a desinfetantes químicos como cloro e ozônio do que as bactérias.

Park et al. (2003) examinaram água do mar e água do mar inoculada com *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC17802). Em ambos os casos, a bactéria foi completamente eliminada em 100 ms utilizando 0,5 A e 12 V de corrente contínua. A eletrólise usada neste estudo foi realizada com dois eletrodos de platina imersos em água do mar em uma densidade bacteriana de 10^4 UFC mL⁻¹. O potencial elétrico utilizado para esse tratamento foi de 12 V, e a corrente, variou entre 1,55 mA e 2 A. Os pesquisadores indicaram que a baixa corrente elétrica é efetiva para inativação de microrganismos em água do mar.

Patermarakis e Fountoukidis (1990) demonstraram que correntes elétricas são capazes de desinfetar água e diminuir bactérias e fungos em alimentos. A inativação de microrganismos expostos à alta corrente elétrica é relacionada com a instabilidade eletroquímica da membrana celular enquanto que a letalidade é relacionada ao stress oxidativo devido à geração de oxidantes.

Eletrólise gera uma variedade de oxidantes na presença de oxigênio incluindo peróxido de hidrogênio e ozônio. Além disso, cloro livre e dióxido de cloro podem ser gerados quando íons cloreto estão presentes na solução (Dress et al., 2003).

Diao et al. (2004) investigaram o mecanismo de desinfecção eletroquímica, em água de abastecimento contaminada com *E. coli* JM109 10^8 ml⁻¹. Foi usado anodo de RuO₂, TiO₂ e ZnO₂, sendo aplicado corrente de 25 mA/cm², observando-se redução de 99,98% devido à formação de radicais OH[•], resultando em lise celular.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Material

Culturas puras de *Escherichia coli*, CCT1457 e *Staphylococcus aureus*, ATCCE538; *Saccharomyces cerevisiae* da Fleischmann Royal; autoclave vertical Fabe modelo 103; solução salina 0,85% m/v esterilizada; sulfato de sódio 0,08 M (Merck - P.A.); água destilada; reator eletroquímico; centrífuga Sorwall; agitador de tubos AP 56 da marca Phoenix; fonte de corrente contínua marca Dower FCC-3005D.

O controle, da corrente e tensão é realizado através de “displays” contidos nesta fonte; condutivímetro marca Tecnozon CA150; termômetro de mercúrio; contador de colônias marca da marca Tecnal CP600; agitador magnético; medidor de pH DMPH-2 da marca Digimed e câmara de incubação tipo DBO da Marconi modelo BOD MA 403.

3.2 – Sistema de tratamento eletrolítico

Foi construído um sistema de tratamento eletrolítico contendo reator eletrolítico, rotâmetro, reservatório de PVC, válvulas, bomba hidráulica e tubulação, os quais foram alocados em um suporte metálico de sustentação. O reator é composto por um anodo retangular de titânio recoberto por 70%TiO₂/30%RuO₂ de área 40 cm² e um catodo retangular de aço-inoxidável 304 de área 50 cm², sendo que os eletrodos foram dispostos a uma distância de 3 mm um do outro (Figura 1). O eletrodo de titânio

recoberto pelos óxidos é também conhecido como anodo dimensionalmente estável (ADE) e tem como características principais a sua elevada resistência mecânica e alta estabilidade física e química numa ampla faixa de pH e ser não solúvel, proporcionando longo tempo de vida. A foto do sistema utilizado pode ser observada na Figura 2 e o diagrama esquemático na Figura 3. O reator tem 70 cm de comprimento e 96 cm de largura. A velocidade de fluxo para 200 L h^{-1} é $37,0 \text{ cm s}^{-1}$ e para 500 L h^{-1} é $92,6 \text{ cm s}^{-1}$.

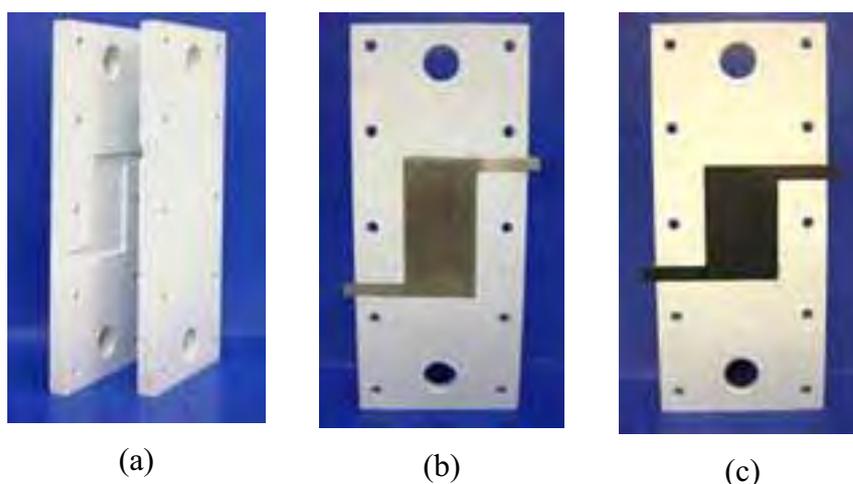


Figura 1: Foto dos eletrodos no reator eletroquímico: (a) corpo de PVC, (b) catodo de aço inoxidável e c) anodo de $70\% \text{TiO}_2/30\% \text{RuO}_2$.



Figura 2: Foto do reator eletroquímico.

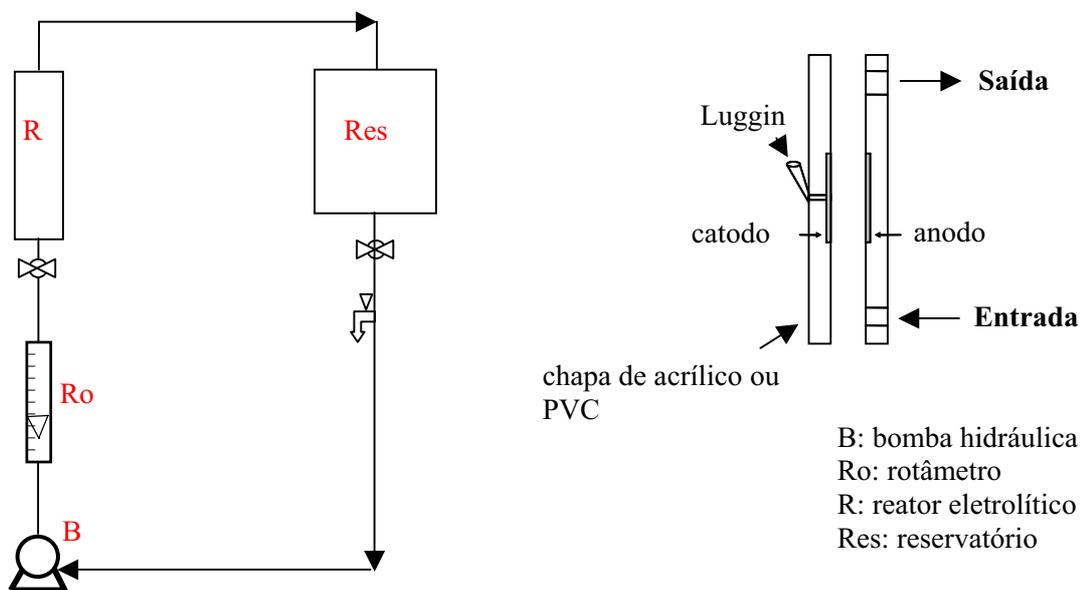


Figura 3: Desenho esquemático do tratamento eletrolítico e do reator com os eletrodos.

3.3 – Procedimento experimental

No reator foi adicionado 3 L de solução de Na_2SO_4 0,08 M mais 2 mL da cultura líquida do microrganismo centrifugada e lavada em solução de Na_2SO_4 0,08 M. Esta suspensão formada no reator equivale aproximadamente à concentração de 10^6 células por mL. Também, a solução formada não apresentou íons cloretos suficientes de forma a não gerar cloro livre. A suspensão dos microrganismos foi homogenizada por 10 min no reator de onde foram retiradas as alíquotas para análise nos tempos 0; 5; 15; 30; 45 e 60 min utilizando as correntes de 1,0 A; 2,0 A ou 3,0 A, correspondente às densidades de corrente contínua de 25 mA cm^{-2} 50 mA cm^{-2} e 75 mA cm^{-2} .

3.4 - Fonte de corrente

Foram realizadas eletrólises utilizando corrente contínua aplicada através de uma fonte de corrente da Dower modelo FCC3005. Essa fonte aplica uma corrente de 0 a 5,0 A, ajustando automaticamente a tensão numa faixa de 0 a 30,0 V.

3.5 – Preparo de meios de cultura

Os meios de cultura foram preparados seguindo os procedimentos descritos por Difco Manual, 1984.

3.5.1 - Meios de cultura utilizados para a *E. coli*

Meio líquido:

Extrato de carne	3,0 g;
Peptona	10,0 g;
Cloreto de sódio	1,5 g;
Água destilada	1000 mL.

Meio sólido (Agar nutriente, NA):

Caldo nutritivo	1000 mL;
Agar	15,0 g;
pH	7,2.

3.5.2 - Meios de cultura utilizados para o *S. aureus*

Composição do meio de infusão de cérebro e coração (brain-heart infusion – BHI utilizado para *S. aureus*) da Biobrás Diagnósticos:

Cloreto de sódio	5,0 g;
Dextrose	2,0 g;
Fosfato dibásico de sódio	2,5 g;
Infusão de cérebro e coração	17,5 g;
Peptona de carne	5,0 g;
Peptona de caseína	5,0 g;
pH	7,4.

3.5.3 – Solução de sulfato de sódio 0,08 M

A solução de sulfato de sódio foi preparada com a adição de 34,08 g de Na₂SO₄ anidro da Merck em 3 L de água Milli-Q. O cloreto da solução de Na₂SO₄ 0,08 M foi analisado de acordo com o método argentométrico, segundo APHA (1998) e obteve-se aproximadamente 1,4 mg L⁻¹ de Cl⁻. A adição de Na₂SO₄ foi necessária para produzir condutividade suficiente de forma que não houvesse limitação no uso da corrente elétrica e não produzisse cloro livre.

3.5.4 – Análises de cloro, peróxido e ozônio

A solução eletrolisada de sulfato de sódio com e sem microrganismos foi analisada para cloro dissolvido utilizando o-toluidina de acordo com APHA (1998). O peróxido foi analisado pelo método do permanganato (Harris, 1991) e para o ozônio foi utilizado o método do índigo blue (Bader e Hoigne, 1981).

3.6 - Preparo do inóculo e da suspensão de bactérias

As culturas de *E. coli* foram obtidas a partir de cultura pura em tubo inclinado contendo meio de NA. Algumas colônias isoladas e idênticas morfológicamente foram transferidas para um tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo nutritivo e mantido em estufa a 35°C. A cada 15 dias o procedimento anterior era repetido. Deste tubo de ensaio contendo a cultura em 10 mL de caldo nutritivo foi retirado 1 mL e transferido para um erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de caldo nutritivo esterilizado. O erlenmeyer foi colocado em uma câmara de incubação de BOD e mantido sob agitação e temperatura de 28°C por 24 h. Após este tempo foi retirado do erlenmeyer 15 mL de suspensão para ser centrifugada e lavada com solução de Na₂SO₄. A suspensão era centrifugada a 80 rpm por 10 min. A biomassa sedimentada era resuspensa em 15 mL de Na₂SO₄ 0,08 M e centrifugada novamente por 10 min nas mesmas condições para lavagem das células a fim de retirar os constituintes do meio de cultura, principalmente o cloreto.

Depois das centrifugações e resuspensões foi retirado 2 mL da suspensão e transferida para um béquer contendo 3 L de Na_2SO_4 0,08 M onde, por sua vez, se constituiu uma suspensão contendo 10^6 células por mL, aproximadamente. As suspensões de *S. aureus* foram preparadas de forma similar, com a diferença que o meio utilizado para o crescimento do *S. aureus* foi o BHI. Essa suspensão final foi colocada no reator para realização do tratamento eletrolítico.

3.7 - Preparo de suspensão de leveduras

Foram diluídas 5 g de fermento, de uso comercial, em 120 mL de água Milli-Q. Essa suspensão foi centrifugada e ressuspensa duas vezes em 120 mL de Na_2SO_4 por 10 min a 80 rpm, sendo que os 120 mL dessa suspensão foram utilizados no reator eletrolítico. Também, em outros experimentos as leveduras foram ressuspensas em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, seguindo o mesmo procedimento para o Na_2SO_4 .

3.8 - Culturas de bactérias em suspensão tamponada

O mesmo procedimento do item 3.6 foi utilizado para o preparo da suspensão tamponada, com a diferença que a solução foi de tampão fosfato 0,1 M, para lavagem das células bem como para o uso no reator.

A solução de tampão fosfato 0,1 M utilizada estava a pH 7,0, esterilizada e livre de cloretos. O tampão fosfato foi preparado com $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e Na_2HPO_4 em 3 L de água destilada. Procedimento idêntico foi utilizado para o *S. aureus*.

3.9 - Solução de Na_2SO_4 0,08 M eletrolisada adicionada ao inóculo

Preparou-se uma solução de 3 L de água destilada contendo Na_2SO_4 0,08 M, a qual foi eletrolisada em sistema de batelada com recirculação durante 60 min a 3,0 A na vazão de 200 L h^{-1} e logo após a eletrólise uma alíquota de 8 mL foi adicionada e um tubo de ensaio, o qual continha 2 mL de suspensão de bactérias em Na_2SO_4 0,08 M. Os 2 mL de suspensão de bactérias correspondem aproximadamente à concentração de 10^6 células por mL. As alíquotas foram retiradas nos tempos de 0 (controle); 5; 15; 30;

45 e 60 min. As suspensões utilizadas foram a de *E. coli* e a de *S. aureus*. As suspensões nos tubos de ensaios de diferentes tempos de eletrólises foram plaqueadas.

3.10 – Solução de Na₂SO₄ 0,08 M eletrolisada adicionada ao inóculo após 3 h de repouso

Preparou-se uma solução de 3 L de água destilada contendo Na₂SO₄ 0,08 M a qual foi eletrolisada durante 60 min a 3 A na vazão de 200 L h⁻¹ no reator e logo após diferentes tempos de eletrólise uma alíquota de 8 mL de cada tempo foi adicionada em um tubo de ensaio, e deixado em repouso por 3 h. Em seguida, adicionou-se 2 mL de suspensão de bactérias em Na₂SO₄ 0,08 M (ver item 3.6) a cada tubo de ensaio. Esse experimento foi realizado apenas para o *S. aureus*.

3.11 – Tratamento eletrolítico aplicado às suspensões de microrganismos

Suspensões individuais de *E. coli*, *S. aureus* e *S. cerevisiae* foram eletrolisadas no sistema descrito no item 3.2. Os experimentos foram realizados nas vazões de recirculação de 200 L h⁻¹ e 500 L h⁻¹. Durante o tratamento foram medidos os seguintes parâmetros: tensão elétrica, corrente elétrica e temperatura, mensurados nos instantes em que foram retiradas as amostras. As amostras, durante a eletrólise, foram retiradas com intervalos de 0; 5; 15; 30; 45 e 60 min onde o tempo zero era o controle. Para cada uma dessas amostras analisou-se a viabilidade celular através de plaqueamento pelo método de “pour plate”, obtendo-se as unidades formadoras de colônias por mL (UFC mL⁻¹) no caso de bactérias. A levedura (*S. cerevisiae*) teve sua quantidade de células viáveis determinada por contagem em Câmara de Neubauer utilizando Eritrosina para corar as células mortas. A condutividade e o pH das amostras foram determinados após 2 h do término do tratamento.

3.12 – Contagem de microrganismos viáveis por plaqueamento

Utilizou-se a técnica de “pour plate”, para qual foram realizadas diluições decimais da suspensão de microrganismos. Essas diluições são realizadas em solução de

NaCl 0,85% m/v esterilizada. Uma alíquota de 1 mL da suspensão a ser quantificada é transferida a 9 mL de solução salina estéril e o tubo é homogeneizado. Obtém-se assim a suspensão 10^{-1} , ou seja, 10% v/v.

Após a obtenção da primeira diluição, 1 mL desta é transferido a outro tubo contendo 9 mL de solução salina estéril. Obtém-se assim a suspensão 10^{-2} . Continua-se o processo até alcançar uma diluição em que a quantidade de 30 a 300 células viáveis na suspensão pode ser quantificada na placa de Petri. O fator de diluição 10^{-4} foi o melhor em termos de obtenção de UFC mL^{-1} nas placas de Petri e portanto, foi utilizado para fins de contagem.

O fator de diluição 10^{-3} foi utilizado apenas como controle da diluição 10^{-4} . Alíquotas de 1 mL de cada uma dessas diluições são colocadas em placa de Petri estéreis. Em seguida verte-se o meio de cultura fundido (NA para *E. coli* e BHI para *S. aureus*) nas placas de Petri e estas são então agitadas em movimento na forma de “8”. Essa agitação visa homogeneizar a placa de modo que as unidades formadoras de colônias fiquem bem distribuídas pela placa.

Para maior confiabilidade, os resultados considerados foram da diluição que apresentaram de 30 a 300 colônias por placa de Petri, e a partir destes resultados, foram calculados o número de unidades formadoras de colônias de cada amostra. O plaqueamento foi realizado em triplicata a fim de se obter uma média significativa e estatística do número de colônias por mL.

3.13 – Contagem do número de leveduras

As amostras foram retiradas nos tempos 0; 5; 15; 30; 45 e 60 min. Em seguida, foram coradas com eritrosina. Aquelas coradas em vermelho foram consideradas mortas, enquanto que as não coradas, representavam as células resistentes ao tratamento. A contagem foi feita na 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 eletrolítico. As contagens foram feitas em triplicata, a fim de garantir a confiabilidade dos resultados.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Tratamento eletrolítico em suspensão de *E. coli* em meio não tamponado.

Os resultados obtidos com o tratamento eletrolítico de suspensões de *E. coli* são observados nas Figuras 4 e 5. Na Figura 4, representam-se os resultados do tratamento eletrolítico com correntes de 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A na vazão de recirculação de 200 L h⁻¹. Pode-se observar que o processo eletrolítico em batelada com recirculação utilizando eletrodos ADE de titânio foi efetivo na redução da viabilidade da *E. coli*. Também, foi observado que os melhores resultados de inativação bacteriana foram obtidos com o aumento da corrente e/ou o aumento do tempo.

Na Figura 4, foi observado que o tratamento eletrolítico com 3,0 A diminuiu a viabilidade da *E. coli* a praticamente zero após 45 min de eletrólise. A eletrólise induz a um gradiente de pH muito próximo aos eletrodos em soluções não-tamponadas, na ordem de micrômetros, sendo o valor do pH alto (~14) próximo à superfície do eletrodo (Bard e Faulkner, 1980). Este valor de pH decai à medida que se vai para o seio da solução, atingindo o pH da solução, que em Na₂SO₄ é aproximadamente de 4,5.

Durante os experimentos, a temperatura variou no máximo de 5°C, a variação do pH (da solução) foi aproximadamente de uma unidade e a condutividade praticamente não sofreu variação (Tabelas 1, 2 e 3 do Apêndice).

Na Figura 5 podem ser observados os resultados de viabilidade celular após tratamento eletrolítico com as correntes de 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A na vazão de 500 L h⁻¹

(Tabelas 4, 5 e 6 do Apêndice). Após 60 min de eletrólise a diminuição da viabilidade da *E. coli* foi aproximadamente 80%, com exceção do experimento com 1,0 A.

O aumento do valor da corrente aplicada possibilitou uma maior inviabilização da *E. coli*. Na vazão de 500 L h⁻¹ o microrganismo tende a passar mais rapidamente próximo da superfície do anodo ocorrendo, portanto, uma menor inviabilização da *E. coli* quando comparado à vazão de 200 L h⁻¹, onde a *E. coli* passa mais lentamente próxima ao eletrodo e ocorre uma maior inviabilização. O maior tempo próximo à superfície dos eletrodos é mais importante para a inviabilização do que se o microrganismo passasse mais rápido pelos eletrodos, mesmo que mais vezes pelos eletrodos.

Durante o tratamento eletrolítico forma-se um alto campo elétrico próximo à região do eletrodo (Bard e Faulkner, 1980). Park et al. (2003) analisaram os efeitos da baixa corrente elétrica no tratamento eletrolítico com eletrodos de platina com microrganismos em água do mar e água do mar inoculada com *Vibrio paraemolyticus*. Em ambos os casos, a baixa corrente elétrica que foi de 1,55 A foi efetiva na inativação do microrganismo. O alto potencial elétrico promove a eletroporação das células, que consiste na saída de substâncias importantes da célula através dos poros formados quando um campo elétrico é exercido sobre a membrana celular. Matsunaga et al. (2000) observaram desinfecção da *E. coli* em água usando eletrodo de TiN em potencial de 1,2 V em 60 min tendo diminuição de 38,4%.

Diao et al. (2004) conseguiram inviabilização de 99,98% com *E. coli* utilizando eletrodos de RuO₂, TiO₂ e ZnO₂, devido à formação de radicais OH•, enquanto que Furuta et al. (2004) inativaram a *Legionella* em mais de 80% em 150 mA/cm² com eletrodos de diamante.

Os resultados também podem ser interpretados de acordo com o processo de desinfecção que pode ocorrer de diversos modos, tais como oxidação eletroquímica da Coenzima A (Matsunaga et al., 1992), destruição de proteínas, DNA e plasmídeo da célula (Zinkevich et al., 2000) e ação direta de agentes desinfectantes gerados na eletrólise (Patermarakis e Fountoukidis, 1990). Kerwick et al. (2005) trabalharam com anodo de platina e catodo de aço-inoxidável com *E. coli* em solução de sulfato de sódio 0,03 M a 5,0 V. Os pesquisadores não observaram nenhum efeito residual até 120 min

de tratamento. A inviabilização do microrganismo ocorreu devido à formação do radical hidroxila, produzido durante a reação de redução da água em Na_2SO_4 .

No presente trabalho, supõe-se que o processo de inviabilização dos microrganismos é baseado no gradiente de pH próximo aos eletrodos, na formação de radicais hidroxila e na formação de agentes desinfetantes, conforme observado também por Drogui et al., 2001 e Dress et al. (2003). A eletrólise pode gerar uma variedade de oxidantes na presença de oxigênio, incluindo ozônio, cloro livre e dióxido de cloro, quando íons cloreto estão presentes na solução (Dress et al., 2003). Entretanto, nos experimentos realizados, a concentração de Cl^- foi muito baixa, pois foi usado sulfato de sódio P.A., e não foi observado a presença de cloro livre e peróxidos nas análises realizadas. Também, não foi observada a presença de ozônio, conforme testes realizados descritos em 3.5.4.

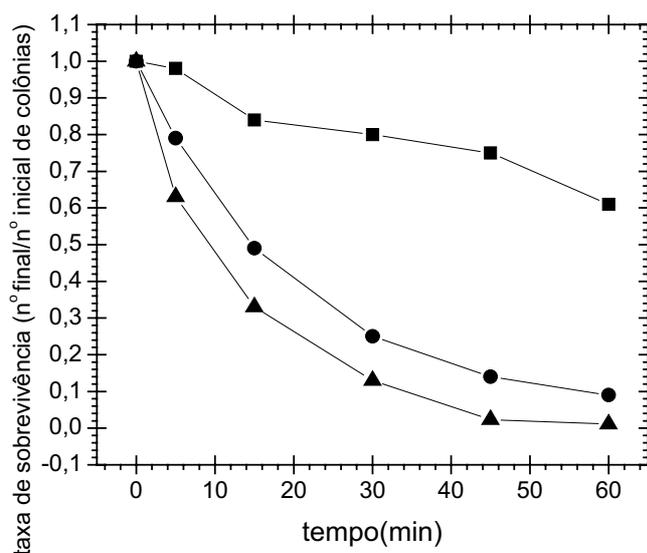


Figura 4: Taxa de sobrevivência da *E. coli* após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 200 L h^{-1} .

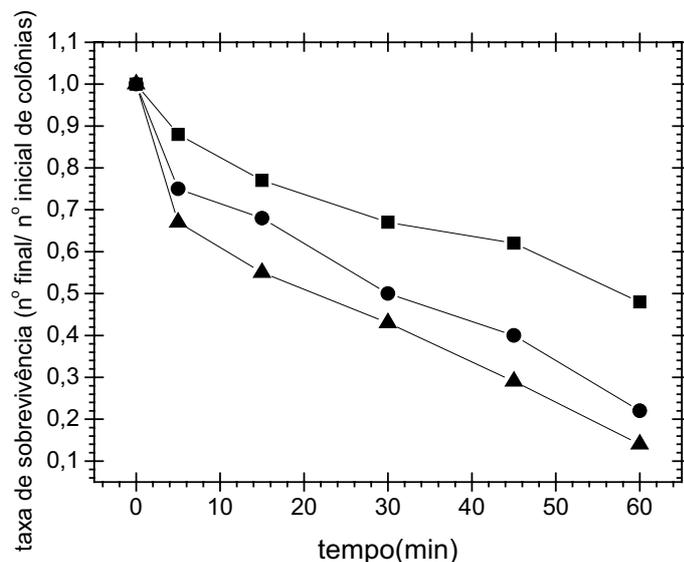


Figura 5: Taxa de sobrevivência da *E. coli* após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 500 L h⁻¹.

4.2 – Tratamento eletrolítico em suspensão de *E. coli* em meio tamponado

A viabilidade celular após o tratamento eletrolítico de suspensões de *E. coli* pode ser observada na Figura 6. O tratamento foi realizado com corrente de 3,0 A na vazão de 500 L h⁻¹, em solução tamponada. Neste caso, a temperatura durante o tratamento eletrolítico variou no máximo 8°C e o pH e a condutividade não sofreram variação (Tabela 7 do Apêndice).

No experimento com a suspensão tamponada o gradiente de pH próximo ao eletrodo praticamente não afetou a inviabilização da bactéria, pois é muito pequeno e desprezível em relação à superfície do eletrodo e as mortes celulares se dão apenas pelos radicais hidroxila gerados no anodo. Observou-se uma diminuição de formação de colônias em aproximadamente 50% após 60 min de eletrólise. Este resultado contesta o obtido por Tokuda e Nakanishi (1995) que usaram em solução de tampão fosfato com eletrodo de platina com uma concentração de 10⁸ UFC mL⁻¹ de *E. coli* IFO 3301. Quando 0,33 A foi aplicado, a sobrevivência da *E. coli* diminuiu para 1% do valor inicial após 60 min de tratamento.

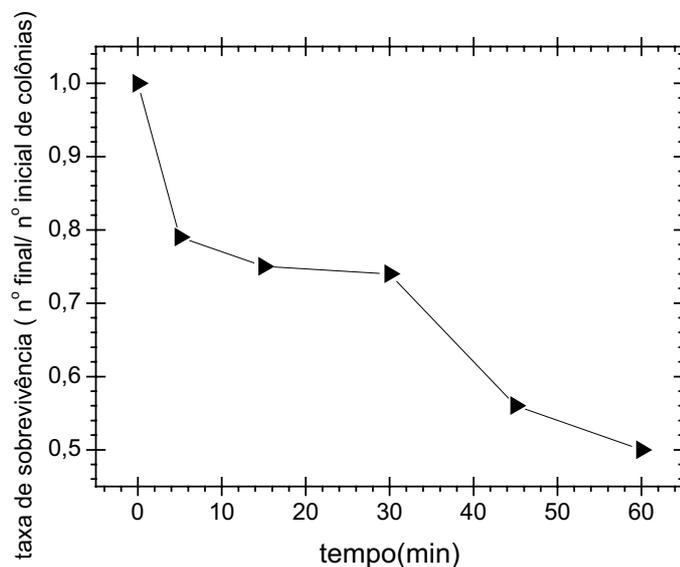


Figura 6: Taxa de sobrevivência da *E. coli* após o tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. Corrente de 3,0 A e vazão de 500 L h⁻¹.

4.3 – Solução de Na₂SO₄ 0,08 M eletrolisada na ausência da *E. coli*

Na solução de sulfato de sódio eletrolisada sem a suspensão bacteriana e posteriormente adicionada ao inóculo, a viabilidade da *E. coli* foi menor, em torno de 50% em 60 min, como pode ser observado na Figura 7. O pH e a condutividade não sofreram variação (Tabela 8 no apêndice). Neste caso a morte celular, quando ocorre, se dá provavelmente apenas pela ação de agentes oxidantes com efeito residual, pois as células não tiveram contato com os eletrodos. Também, o percentual de células inviáveis foi igual àquele da suspensão tamponada, ou seja, quando o efeito do pH próximo ao eletrodo foi anulado seja por mistura de solução eletrolisada ao microrganismo ou pela ação reguladora do tampão durante a eletrólise o decréscimo da UFC mL⁻¹ foi semelhante nos dois casos.

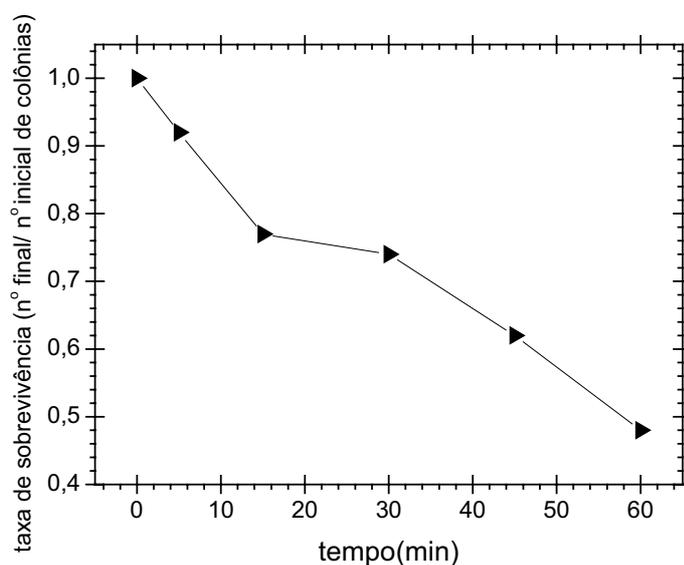


Figura 7: Taxa de sobrevivência da suspensão de *E. coli* que foi adicionada à solução eletrolisada de Na_2SO_4 0,08 M. Corrente 3,0 A e vazão de 200 L h^{-1} .

4.4 - Tratamento eletrolítico em suspensão de *S. aureus* em meio não tamponado

Os resultados obtidos com o tratamento eletrolítico de suspensões de *S. aureus* encontram-se nas Figuras 8 e 9. Na Figura 8 observa-se que o tratamento eletrolítico com as correntes de 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A na vazão de 200 L h^{-1} também promoveu a diminuição do número de unidades formadoras de colônias do *S. aureus*.

No tratamento com 3,0 A, a diminuição da viabilidade celular do microrganismo foi de praticamente 99% após 15 min de tratamento. Resultado semelhante ocorreu com a corrente de 2,0 A em 30 min de eletrólise. Durante os experimentos, a temperatura, o pH e a condutividade não sofreram variações significativas (Tabelas 9, 10 e 11 do Apêndice).

Na Figura 9 observam-se os resultados de viabilidade celular após tratamento eletrolítico com as correntes de 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A na vazão de 500 L h^{-1} em sistema de batelada com recirculação (Tabelas 12, 13 e 14 do Apêndice). Após 60 min de eletrólise a diminuição da viabilidade da *S. aureus* foi de aproximadamente 99%, com exceção do experimento em que se utilizou 1,0 A.

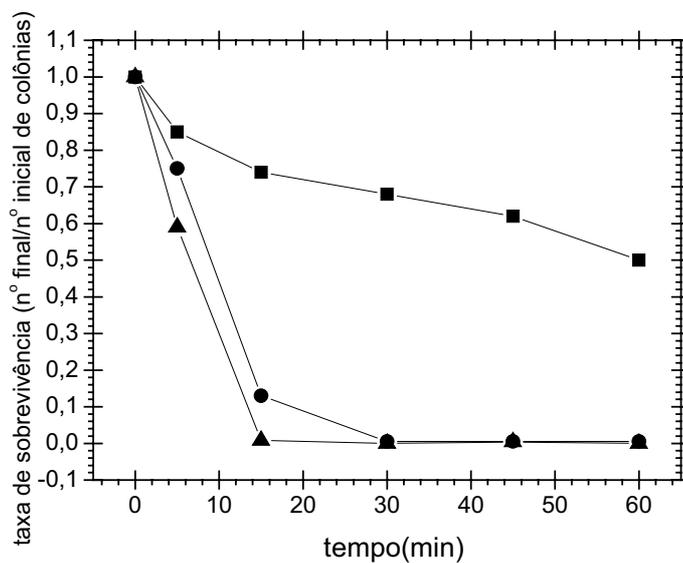


Figura 8: Taxa de sobrevivência da *S. aureus* após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (□) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲) 3,0 A na vazão de 200 L h⁻¹.

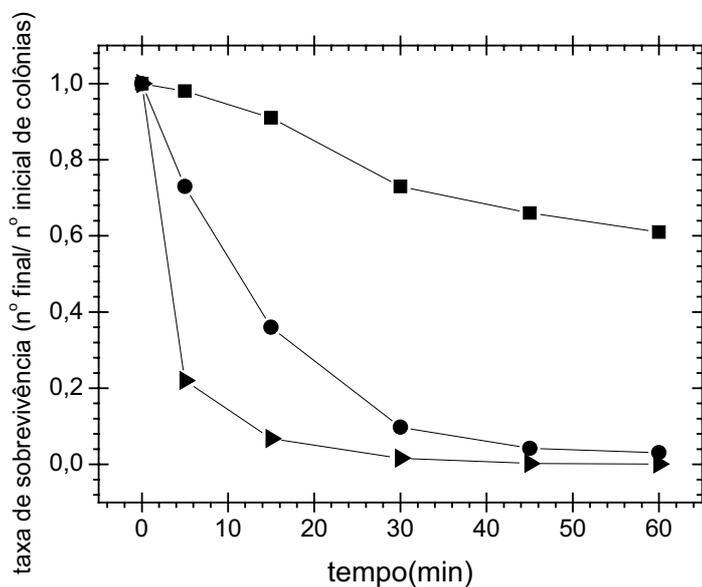


Figura 9: Taxa de sobrevivência da *S. aureus* após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. (●) 1,0 A; (▲) 2,0 A; (□) 3,0 A na vazão de 500 L h⁻¹.

4.5 - Tratamento eletrolítico em suspensão de *S. aureus* em solução tamponada

A taxa de sobrevivência da suspensão de *S. aureus* durante o tratamento eletrolítico pode ser observada na Figura 10. O experimento foi realizado com corrente de 3,0 A na vazão de 500 L h⁻¹. A temperatura variou no máximo 7°C e o pH e a condutividade não sofreram variação significativa (Tabela 15 do Apêndice). Na suspensão tamponada, a inviabilidade ocorreu provavelmente apenas pela atividade dos radicais OH gerados no anodo e por outras espécies oxidantes. Com 45 min de tratamento foi observada a diminuição de 50% dos microrganismos. No caso de solução não tamponada (Figura 9) os microrganismos tornaram-se inviáveis, na sua totalidade, em 15 min. Isto mostra que em solução não tamponada há efeitos do gradiente de pH e de substâncias oxidantes, tais como o OH[•].

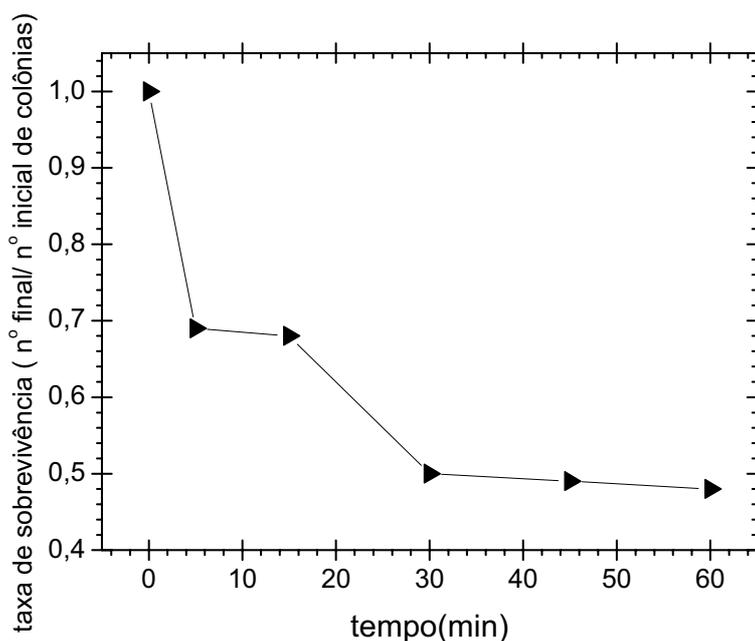


Figura 10: Taxa de sobrevivência do *S. aureus* após tratamento eletrolítico em função do tempo de eletrólise. Corrente de 3,0 A e vazão de 500 L h⁻¹.

4.6 - Solução eletrolisada de Na_2SO_4 0,08 M na ausência de *S. aureus*

A solução de sulfato de sódio foi eletrolisada sem a suspensão bacteriana e logo em seguida foi adicionada à solução contendo a suspensão de microrganismos. Pode-se observar na Figura 11 que a viabilidade do *S. aureus* foi menor, em torno de 70% em 60 min. O pH e a condutividade não sofreram variação significativa (Tabela 16 do Apêndice). A morte celular ocorreu provavelmente apenas pela ação de agentes oxidantes com efeito residual, pois as células não tiveram contato com os eletrodos. Isto mostra que eliminando o efeito do gradiente de pH, a totalidade de morte dos microrganismos necessita de mais tempo de eletrólise da solução. Na solução não tamponada, onde a suspensão de microrganismo foi eletrolisada diretamente (Figura 9), em 15 min de eletrólise ocorreu inviabilização de cerca de 90%. Para a solução tamponada em 45 min de eletrólise (Figura 10) a inviabilização foi cerca de 50% (Figura 10) e para a mistura da solução eletrolisada à 45 min na suspensão de bactérias foi de 70% de mortes (Figura 11). Portanto, fica claro que há dois efeitos principais na inviabilização dos microrganismos: o gradiente de pH e a ação de espécies oxidantes. Também, estas espécies possuem um efeito residual após a eletrólise, pois continuam atuando na inviabilização dos microrganismos.

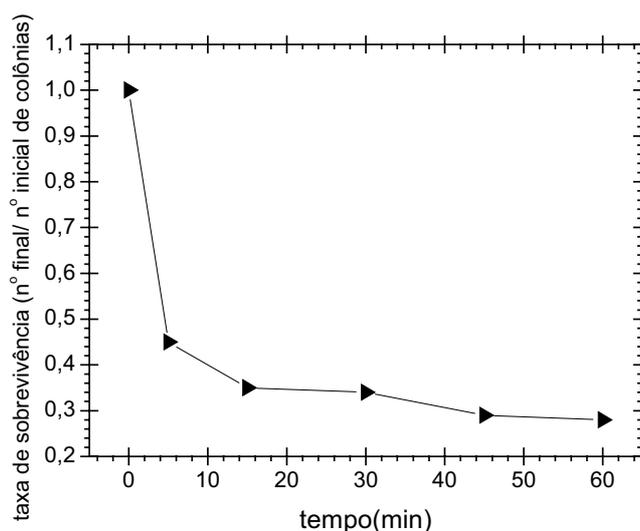


Figura 11: Taxa de sobrevivência da suspensão do *S. aureus* que foi adicionada à solução eletrolisada de Na_2SO_4 0,08 M com corrente 3,0 A e vazão de 200 L h^{-1} .

4.7 - Solução de Na₂SO₄ 0,08 M eletrolisada com 3 h de repouso adicionada ao *S. aureus*

Observou-se ao fim de 60 min de tratamento eletrolítico uma diminuição de 60% de UFC mL⁻¹ conforme a Figura 12. Neste caso, foi realizada a mistura de solução eletrolisada de Na₂SO₄ sem microrganismos com a suspensão bacteriana após 3 h. A inviabilização celular foi menor comparada ao experimento com a (Figura 11), pois após 3 h a o efeito residual diminuiu, ou seja, o efeito residual diminui com o tempo. Deve-se levar em conta que o OH[•] que ocorre apenas na superfície do anodo e o gradiente de pH estavam ausentes. Outras espécies oxidantes com maior tempo de vida também atuaram na desinfecção da água, já que a solução eletrolisada foi mantida em repouso por 3 h, e o tempo de efeito desinfetante durou por horas. Também, neste caso, o pH e a condutividade não sofreram variação significativa (Tabela 17 do Apêndice).

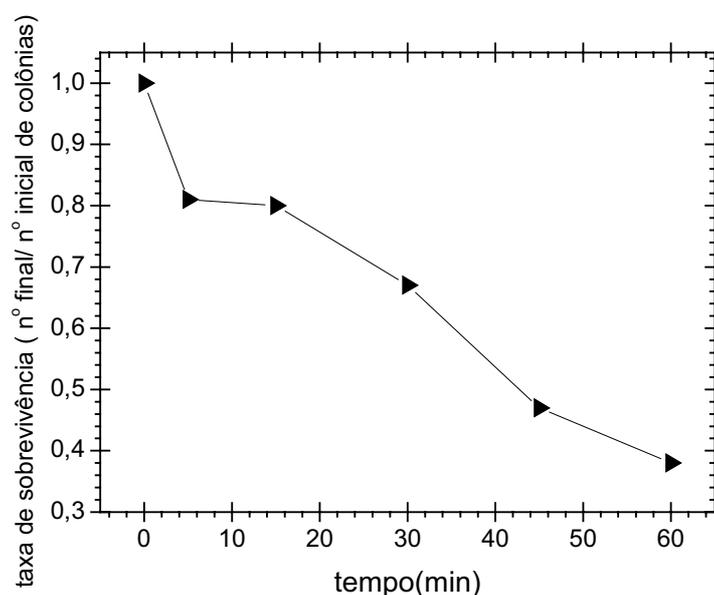


Figura 12: Taxa de sobrevivência da suspensão do *S. aureus* que foi adicionada à solução eletrolisada de Na₂SO₄ 0,08 M. Corrente de 3,0 A e vazão de 200 L h⁻¹.

4.8 – Tratamento eletrolítico de *Saccharomyces cerevisiae*

Conforme observado na Figura 13 a levedura *S. cerevisiae* não sofreu diminuição em sua viabilidade pelo tratamento eletrolítico na vazão de 200 L h⁻¹ utilizando 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A em 60 min.

Esse fato pode estar associado às características da parede celular dessa levedura (Bratfich et al., 1999). O *S. cerevisiae* possui parede celular mais resistente que a das bactérias *E. coli* e *S. aureus*, conferindo, provavelmente, uma maior tolerância ao tratamento eletrolítico. As leveduras são organismos eucarióticos dotados de uma parede espessa composta de quitina, manana e glicana que são resistentes, e difícil de romper.

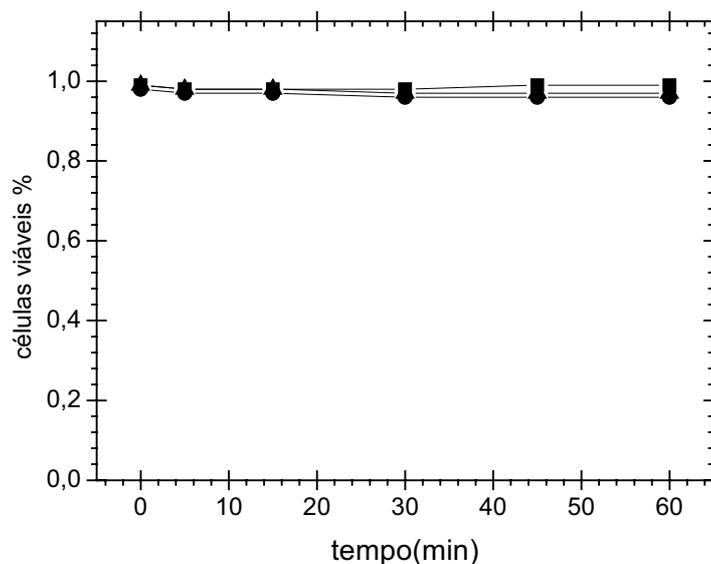


Figura 13: Taxa de sobrevivência da suspensão de *S. cerevisiae* submetida ao tratamento eletrolítico (■) 1,0 A; (●) 2,0 A; (▲); 3,0 A na vazão de 200 L h⁻¹.

4.9 - Tratamento eletrolítico de *S. cerevisiae* em meio tamponado

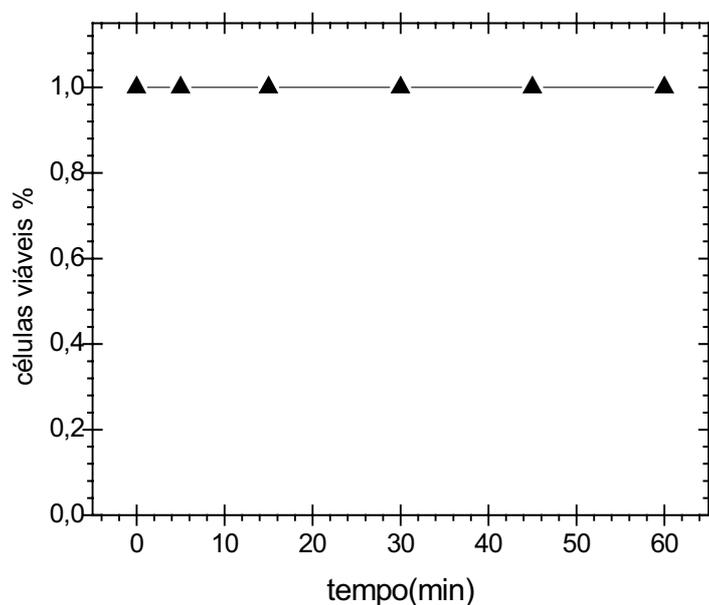


Figura 14: Efeito do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em meio tamponado com 3,0 A na vazão de 500 L h⁻¹.

Na Figura 14 pode ser observado que após 60 min de tratamento eletrolítico não houve diminuição da viabilidade celular da levedura em solução não tamponada. Também não foi observada variação significativa de pH e condutividade (Tabelas 18, 19 e 20 do Apêndice). O mesmo ocorreu em solução tamponada (Tabela 21 do Apêndice). Resultados similares foram também obtidos por Ribeiro (2005), que não verificou nenhuma morte de *S. cerevisiae* após tratamento fotoeletroquímico.

4.10 – Comparação dos tratamentos eletrolíticos para os três microrganismos utilizados

Na Figura 15 pode ser observado o decréscimo da viabilização dos microrganismos utilizados, que foram *E. coli*, *S. aureus* e *S. cerevisiae*. Praticamente, o *S. cerevisiae* não foi afetado pelo tratamento devido à constituição da parede celular ser espessa. Para a *E. coli*, ocorreu a inviabilização quase que completa, em 45 min. Para o

S. aureus a inviabilização quase que completa ocorreu em 15 min. Portanto, o *S. aureus* é muito mais sensível ao processo eletrolítico que a *E. coli*.

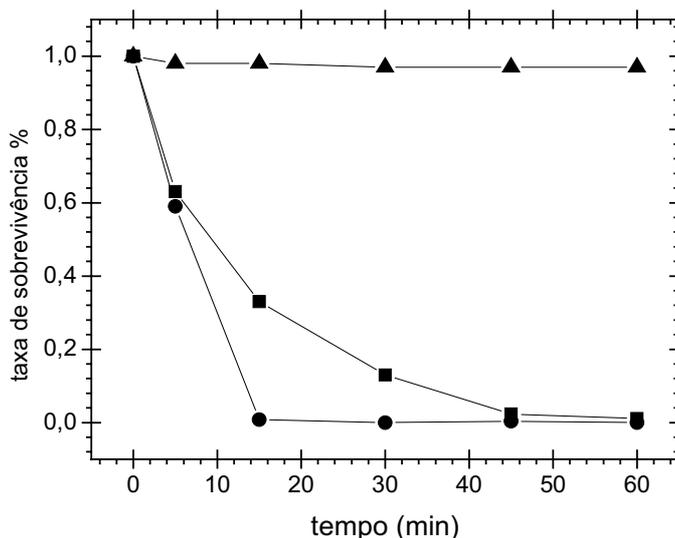


Figura 15: Efeito do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* (▲), *E. coli* (■) e *S. aureus* (●) utilizando 3,0 A na vazão de 200 L h⁻¹ em solução não tamponada.

5.0 – A eficiência energética do tratamento eletrolítico

A eficiência energética do tratamento eletrolítico em qualquer vazão, seja de 200 L h⁻¹ ou 500 L h⁻¹, para 1,0 A, 2,0 A e 3,0 A foram, em 60 min, são 1,7 kWh m⁻³, 3,3 kWh m⁻³ e 5,0 kWh m⁻³ respectivamente. Considerando que o valor de 1 kWh atualmente (07/2006) é R\$ 0,50, o custo do tratamento utilizando-se 3,0 A e 60 min seria R\$ 2,50/m³. Em geral, os tratamentos físico-químicos de água de abastecimento custam em torno de R\$ 0,11 m⁻³. O tratamento eletrolítico possui um custo cerca de vinte e três vezes maior que o tratamento físico-químico para águas de abastecimento. Portanto, no atual grau da pesquisa, é recomendável a utilização do tratamento eletrolítico como tratamento terciário para dar “polimento” em efluentes límpidos, ou seja, com pouco lodo. Neste caso, o custo médio para o tratamento biológico de

efluentes é cerca de R\$ 0,80 por m³ que é aproximadamente três vezes menor que o tratamento eletrolítico.

No caso de pequenos volumes de águas de abastecimento utilizadas, como em centros cirúrgicos, centros de hemodiálise, hemocentro e pequenas indústrias, o tratamento eletrolítico torna-se viável.

5.1 – Estudo cinético do tratamento eletrolítico

Objetivando-se verificar as taxas de mortalidade possíveis para a configuração utilizada neste sistema, realizou-se o estudo cinético dos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Para estes microrganismos efetuaram-se avaliações dos estudos cinéticos dos experimentos que utilizaram a corrente de 3,0 A na vazão de 200 L h⁻¹.

A análise cinética para a *E. coli* (Figura 4) resultou em ajuste de primeira ordem, ou seja, a constante aparente de velocidade de inviabilização (k) foi obtida a partir do gráfico $\ln(N_{c(t)}/N_{c(0)})$ em função do tempo e utilizando-se a equação 21. O valor de k calculado foi de 0,058 UFC mL⁻¹ m min⁻¹.

Para aplicações em engenharia com ampliação de escala, este parâmetro é de suma importância, uma vez que a partir dele, pode-se calcular as dimensões do sistema em função do que se deseja obter, tal como o tempo de tratamento necessário para uma determinada concentração inicial entre outras variáveis.

$$\ln\left(\frac{N_{c(t)}}{N_{c(0)}}\right) = -k \frac{A}{V_{(tot)}} t \quad (21)$$

Onde: $N_{c(t)}$ é o nº de células viáveis no tempo t, $N_{c(0)}$ é o número de células viáveis antes do tratamento, A é a área do eletrodo (40 cm²), $V_{(tot)}$ é o volume da solução processada (3,0 L), t é o tempo de tratamento e k é a constante aparente de velocidade de inviabilização.

O modelo cinético da *Staphylococcus aureus* foi realizado baseado na Figura 8. Verificou-se, uma regressão até 30 min, em que os pontos foram melhores ajustados

através de um modelo cinético de ordem zero, ou seja, o valor de k é o próprio coeficiente linear do gráfico da taxa de sobrevivência em função do tempo. Neste caso, o k foi de $61446 \text{ UFC mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

O modelo cinético da *Saccharomyces cerevisiae* foi aplicado baseado na Figura 13. A velocidade de inviabilização (k) foi de $7,5 \times 10^4$ células $\text{mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Também neste caso, a cinética foi de ordem zero, para análise realizada até 30 min. Após 30 min, a eletrólise não causou mais efeito na inviabilização, permanecendo em 97% de viabilidade. Em todos os casos o coeficiente de correlação da reta foi superior a 0,99, ou seja, um ajuste considerado razoável.

6 - CONCLUSÕES

- O tratamento eletrolítico foi eficiente na diminuição de bactérias *E. coli* e *S. aureus*.
- O tratamento eletrolítico é mais eficiente à medida que a vazão utilizada é menor.
- O tratamento eletrolítico é mais eficiente à medida que a corrente contínua aplicada possui valor maior de amperagem.
- Dos valores testados, a melhor condição obtida para a inviabilização foi à utilização de corrente de 3,0 A e vazão de 200 L h⁻¹.
- A morte bacteriana é causada por vários fatores: gradiente de pH, formação de OH[•], e possivelmente, formação de outras espécies oxidantes. A possibilidade de formação de outras espécies oxidantes além do OH[•] é devido à existência de um pequeno efeito residual oxidante observado após a eletrólise.
- O efeito de gradiente de pH é bem visível, pois com a solução tamponada a mortalidade bacteriana diminuiu, decorrente da minimização do efeito de variação de pH próximo aos eletrodos.
- A *E. coli* em relação ao *S. aureus* mostrou-se mais resistente ao tratamento eletrolítico.

- O tratamento eletrolítico em batelada com recirculação é promissor para desinfecção de bactérias *E. coli* e *S. aureus*, pois com 45 min utilizando 3,0 A, a desinfecção foi cerca de 100%, propiciando uma sanitização da água.
- O tratamento eletrolítico não foi eficiente na inviabilização de *S. cerevisiae*.
- Nessas condições do trabalho, o tratamento eletrolítico é viável na desinfecção bacteriana.

7– REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIS, D. F.; CORSO C. R.; BIDOIA E. D.; MORAES P. B.; DOMINGOS R. N.; ROCHA-FILHO, R. C. Eletrólise de resíduos poluidores – I – Efluente de uma indústria liofilizadora de condimentos. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 20-24, 1998.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 20th ed., Washington: 1998.

BADER, H; HOIGNE J. Determination of ozone in water by the indigo method. **Water Research**, v. 15, p. 449-456, 1981.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods**, 1^a ed., John Wiley: New York, 1980.

BIDOIA, E. D., MARCONATO, J. C., ROCHA-FILHO, R. C. Electrolytic treatment of wastewater from a fowl slaughterhouse using cast-iron electrodes. **Bulletin of Electrochemistry**, v. 14, n. 6, p. 228-230, 1998.

BRATFICH, O. J.; DOMINGOS, R. N.; ANGELIS, D. F.; BIDOIA, E. D. Aplicação do tratamento eletroquímico na viabilidade de esterelização de células microbianas. **Anais do X Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, São Carlos, Outubro, 1996.

BRATFICH, O. J.; DOMINGOS, R. N.; ANGELIS, D. F.; BIDOIA, E. D. Electrolysis of cell suspensions of *Bacillus subtilis* (ATCC-9372) and of *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann Royal) using cast-iron electrodes. **Brazilian Journal of Ecology**, v. 3, p. 83-84, 1999.

COMNINELLIS, C.; PLATNER, E. Indirect electrolytic oxidation of aromatic compounds. **Chimia**, v. 40, n. 11, p. 413-416, 1986.

DIAO, H. F.; LI, X. Y.; GU, J. D.; SHI, H. C.; XIE, Z. M. Electron microscopic investigation of the bactericidal action of electrochemical disinfection in comparison with chlorination, ozonation and Fenton reaction. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1421- 1426, 2004.

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

DROGUI, P.; ELMALEH, S.; RUMEAU, M.; BERNARD, C.; RAMBAUD, A. Hydrogen peroxide production by water electrolysis: Application to disinfection. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 31, p. 877-882, 2001.

FURUTA, T.; TANAKA, H.; NISHIKI, Y.; PUPUNAT, L.; HAENNI, W.; RYCHEN, PH. *Legionella* inactivation with diamond electrodes. **Diamond e Related Materials**, v. 13, p. 2016- 2019, 2004.

GRASSI, M. T. As águas do planeta Terra. **Química Nova na Escola**, v. 1, n. 1, p. 31-40, 2001.

GUILLOU, S.; BESNARD, V.; EL MURR, N.; FEDERIGHI, M. Viability of *Saccharomyces cerevisiae* cells exposed to low-amperage electrolysis as assessed by staining procedure and ATP content. **International Journal of Microbiology**, v. 88, p. 85-89, 2003.

HARRIS, D. C. **Quantitative chemical analysis**, 3^a ed., Freeman: New York 1991.

KERWICK, M. I.; REDDY, S. M.; CHAMBERLAIN, A. H. L.; HOLT, D. M. Electrochemical disinfection: an environmentally acceptable method of drinking water disinfection. **Electrochimica Acta**, v. 50, p. 5270-5277, 2005.

KIURA, H.; KOUICHI, S.; MORIMATSU, S.; NAKANO, T.; MORITA, C.; YAMAGUCHI, M.; MAEDA, T.; KATSUOKA, Y. Bactericidal activity of electrolyzed acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high concentration. **Journal of Microbiological Methods**, v. 49, p. 285-293, 2002.

LANZA, M. R. V.; BERTAZZOLI, R. Cyanide oxidation from wastewater in a flow electrochemical reactor. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 41, n. 1, p. 22-26, 2002.

LEE, S. W.; TAI, Y. C. A micro cell lysis device. **Sensors and Actuators**, v.73, p. 74-79, 1990.

LIANG, W.; QU, J.; CHEN, L.; LIU, H.; LEI, P. Inactivation of *Microcystis aeruginosa* by continuous electrochemical cycling process in tube using Ti/RuO₂ electrodes. **Environmental Science & Technology**, v. 39, p. 4633-4639, 2005.

LIN, S. H.; PENG, C. F. Treatment of textile wastewater by electrochemical method. **Water Research**, v. 28, n. 2, p. 277-282, 1994.

LUBICK, P.; JAYARAM, K. S. High voltage pulse application for the destruction of Gram-negative bacterium *Yersinia enterocolitica*. **Bioelectrochemistry & Bioenergetics**, v. 43, p. 135-141, 1997.

MACÊDO, J. A. B. **Métodos Laboratoriais de Análises Físicos-Químicos e Microbiológicos**, 3^a ed., p. 172-174, 2005.

MATSUNAGA, T.; MINA OKOCHI.; MINAKO TAKAHASHI.; TSURUO NAKAYAMA.; HITOSHI WAKE.; NORIYUKI NAKAMURA. TiN electrode reactor for disinfection of drinking water. **Water Research**, v. 34, n. 12, p. 3117-3122, 2000.

MATSUNAGA, T.; NAKASONO, S.; TAKAMUKU, T.; BURGESS, J. G. NAKAMURA, N.; SODE, K. Disinfection of drinking water by using a novel electrochemical reactor employing carbon-cloth electrodes. **Applied Environmental Microbiology**, v. 58, n. 2, p. 686-689, 1992.

MATSUNAGA, T.; NAMBA, Y.; NAKAJIMA, T. Electrochemical sterilization of microbial cell. **Bioelectrochemistry & Bioenergetics**, v. 13, p. 393-400, 1984.

MORAES, P. B. **Aplicação do processo eletrolítico em efluente de refinaria de petróleo e efluente simulado utilizando eletrodos de Ti/RuO₂ e eletrodos de ferro fundido**. Rio Claro: Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, 2000, 110 p. Dissertação (Mestrado em Geociências e Meio Ambiente).

MORAES, P. B. **Tratamento de Chorume Proveniente de Aterro Sanitário através de Eletrólise assistida por Fotocatálise**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2004, 118p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica).

MORAES, P. B.; BERTAZZOLI, R. Electro-degradation of landfill leachate in a flow electrochemical reactor. **Chemosphere**, v.58, n. 1, p. 41 - 46, 2005.

NAKAJIMA, N.; NAKANO, T.; HARADA, F.; TANIGUCHI, H.; YOKOYAMA, I.; HIROSE, J.; DAIKOKU, E.; SANO, K. Evaluation of disinfective potential of reactivated free chlorine in pooled tap water by electrolysis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 57, n. 2, p. 163-173, 2004.

NAKAYAMA, T.; WAKE, H.; OZAWA, K.; KOCLAMA, H.; NAKAMURA, N.; MATSUNAGA, T. Use of a Titanium Nitride for Electrochemical Inactivation of marine bacteria. **Environmental Science Technology**, v. 32, p. 798- 801, 1998.

NAUMCZYK, J.; SZPYRKOWICZ L.; ZILIO-GRANDI, F. Electrochemical treatment of textile wastewater. **Water Science & Technology**, v. 34, n. 11, p. 17-24, 1996.

NEBEL, B. J.; WRIGHT, R. T. **Environmental Science**. 7th ed., New Jersey: Prentice Hall, 2000, p. 150 .

OKOCHI, M.; NAKAMURA, N.; MATSUNAGA, T. Electrochemical killing of microorganisms using the oxidized form of ferrocenomonocarboxylic acid. **Electrochimica Acta**, v. 44, n. 1 p. 3795-3799, 1999.

PARK, J.; LEE, M. S.; LEE, D. H.; PARK, B. J.; HAN, D.; UZAWA, M.; TAKAHATORI, K. Inactivation of bacteria in seawater by low-amperage electric current. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 2405-2408, 2003.

PATERMARAKIS, G.; FOUNTOUKIDIS, E. Disinfection of water by electrochemical treatment. **Water Research**, v. 24, n. 12, p. 1491-1496, 1990.

PELCZAR, J. R.; M. J.; CHAN, E. C.S.; NOEL, K. R. **Microbiologia, Conceitos e Aplicações**. YAMADA, S. F.; NAKAMURA, T. U.; DIAS-FILHO, B. P . (Trad.), v. 2., p. 352 , 2^a., 1997.

PELEGRINI, R.; FREIRE, R. S.; DURAN, N.; BERTAZZOLI, R. Photo assisted electrochemical degradation of organic pollutants on a DSA® type oxide electrode: process test for a phenol synthetic solution and its application for the E1 bleach kraft mill effluent. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 13, p. 2849-2853, 2001.

RAJESHWAR, K.; IBANEZ, J. G.; SWAIN, G. M. Electrochemistry and the environment. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 24, n. 11, p. 1077-1091, 1994.

RIBEIRO, M. A. **Avaliação da atividade fotocatalítica sobre a inativação de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae* utilizando dióxido de titânio, para aplicação em desinfecção de águas.** Rio Claro: Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2005, 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – área de Microbiologia Aplicada).

ROSEMBERG, B.; VAM CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. **Nature**, v. 205, p. 698-699, 1965.

SHE, P.; SONG, B.; HUIXING, X.; LOOSDRESCHT, M.; LIU, Z. Electrolytic stimulation of bacteria *Enterobacter dissolvens* by a direct current. **Biochemical Engineering**. v. 28, p. 23-29, 2006.

SIMOND, O.; SCHALLER, V.; COMNINELLIS, C. Theoretical model for the anodic oxidation of organics on metal oxide electrodes. **Electrochimica Acta**. v. 42 n. 13, p. 2009-2012, 1997.

STONER, G. E.; CAHEN, G. L.; SACHYANI, M.; GILEADI, E. The mechanism of low frequency AC electrochemical disinfection. **Bioelectrochemistry & Bioenergetics**, v. 9, n. 3, p. 229-243, 1982.

TOKUDA, H.; NAKANISHI, K. Application of direct current to protect bioreactor against contamination. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v. 59, n. 4, p. 753-755, 1995.

TOMINAGA, M. Y.; MIDIO, A. F. Exposição humana a trihalometanos presentes em águas tratadas. **Revista Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 413-21, 1999.

WIENDL, W. G. Processos eletrolíticos para depuração de esgotos. Uma visão secular. **Revista DAE**, v. 45, n. 140, p. 50-54, 1985.

WIENDL, W. G. Processo eletrolítico no tratamento de esgotos sanitários. In: Congresso da Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro. **Anais... ABES**, 1998, 386p.

ZINKEVICH, V. I.; BEECH, I. B.; TAPPER, R.; BOGDARINA, I. The effect of super-oxidized water on *Escherichia coli*. **Journal of Hospital Infection**, v. 46, n. 2, p.153-156, 2000.

APÊNDICE

Todos os dados tabelados foram obtidos em plaqueamento “pour plate” para diluição 10^{-4} .

Tabela 1: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E. coli* em Na_2SO_4 0,08 M (25/11/05)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,06	7,88	29	200	$1,78 \times 10^6$	1	-	-
5	5,66	7,85	29	200	$1,76 \times 10^6$	0,98	3,8	1 A
15	5,08	7,92	30	200	$1,50 \times 10^6$	0,84	3,8	1 A
30	4,85	7,75	31	200	$1,43 \times 10^6$	0,80	3,8	1 A
45	4,77	7,92	32	200	$1,35 \times 10^6$	0,75	3,8	1 A
60	4,82	7,65	32	200	$1,09 \times 10^6$	0,61	3,8	1 A

Tabela 2: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* em Na_2SO_4 0,08 M (25/10/05)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,88	7,77	29	200	$8,2 \times 10^6$	1	-	-
5	5,35	7,75	29	200	$6,5 \times 10^6$	0,79	4,6	2 A
15	5,12	7,64	31	200	$4,1 \times 10^6$	0,49	4,6	2 A
30	4,82	7,76	32	200	$2,1 \times 10^6$	0,25	4,6	2 A
45	4,84	7,76	33	200	$1,2 \times 10^6$	0,14	4,6	2 A
60	4,73	7,72	34	200	$8,1 \times 10^5$	0,09	4,6	2 A

Tabela 3: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* em Na_2SO_4 0,08 M (07/10/05)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,55	7,76	28	200	$8,8 \times 10^5$	1	-	-
5	5,76	7,88	29	200	$5,5 \times 10^5$	0,63	5,7	3 A
15	5,52	7,77	29	200	$2,9 \times 10^5$	0,33	5,7	3 A
30	4,91	7,82	31	200	$1,1 \times 10^5$	0,13	5,6	3 A
45	4,85	8,03	32	200	$2,0 \times 10^5$	0,023	5,5	3 A
60	4,92	7,87	33	200	$1,0 \times 10^5$	0,011	5,4	3 A

Tabela 4: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* em Na₂SO₄ 0,08 M (24/06/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I/A
0	6,71	8,15	20	500	1,68 x 10 ⁶	1	-	-
5	6,47	8,04	20	500	1,42 x 10 ⁶	0,84	3,7	1 A
15	6,51	8,04	22	500	1,30 x 10 ⁶	0,77	3,8	1 A
30	6,79	8,04	23	500	1,17 x 10 ⁶	0,69	3,8	1 A
45	6,72	8,05	24	500	1,14 x 10 ⁶	0,67	3,8	1 A
60	6,94	8,03	25	500	9,2 x 10 ⁵	0,54	3,8	1 A

Tabela 5: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* em Na₂SO₄ 0,08 M (22/11/05)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I/A
0	6,01	8,35	28	500	1,81 x 10 ⁶	1	-	-
5	5,65	8,39	29	500	1,33 x 10 ⁶	0,75	4,7	2 A
15	5,18	8,36	30	500	1,24 x 10 ⁶	0,68	4,8	2 A
30	4,91	8,28	31	500	9,20 x 10 ⁵	0,50	4,7	2 A
45	4,81	8,37	32	500	7,40 x 10 ⁵	0,40	4,7	2 A
60	4,75	8,37	33	500	4,00 x 10 ⁵	0,22	4,8	2 A

Tabela 6: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* em Na₂SO₄ 0,08 M (17/11/05)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I/A
0	6,04	8,51	20	500	1,78 x 10 ⁶	1	-	-
5	5,47	8,50	20	500	1,21 x 10 ⁶	0,67	6,0	3 A
15	5,47	8,35	22	500	9,80 x 10 ⁵	0,55	5,8	3 A
30	4,71	8,27	23	500	7,80 x 10 ⁵	0,43	5,8	3 A
45	5,25	8,50	24	500	5,30 x 10 ⁵	0,29	5,8	3 A
60	5,03	8,43	25	500	2,60 x 10 ⁵	0,14	5,8	3 A

Tabela 7: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* em tampão fosfato 0,1 M (11/11/05)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	7,0	5,39	21	500	1,62 x 10 ⁶	1	-	-
5	7,0	5,39	22	500	1,29 x 10 ⁶	0,79	5,3	3 A
15	7,0	5,39	24	500	1,23 x 10 ⁶	0,75	5,2	3 A
30	7,0	5,39	26	500	1,20 x 10 ⁶	0,74	5,1	3 A
45	7,0	5,39	27	500	9,20 x 10 ⁵	0,56	5,0	3 A
60	7,0	5,39	29	500	8,10 x 10 ⁵	0,50	4,9	3 A

Tabela 8: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *E.coli* após adição de Na₂SO₄ 0,08 M eletrolisado com 1h e adicionado em seguida o microrganismo

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,88	8,30	29	200	2,70 x 10 ⁵	1	-	-
5	5,86	8,13	30	200	2,50 x 10 ⁵	0,92	5,4	3 A
15	5,29	8,70	31	200	2,10 x 10 ⁵	0,77	5,5	3 A
30	5,21	8,28	32	200	2,00 x 10 ⁵	0,74	5,5	3 A
45	5,39	7,93	32	200	1,70 x 10 ⁵	0,62	5,4	3 A
60	5,30	7,74	32	200	1,30 x 10 ⁵	0,48	5,4	3 A

Tabela 9: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S.aureus* em Na₂SO₄ 0,08 M (20/01/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,95	8,08	31	200	1,80 x 10 ⁶	1	-	-
5	6,02	8,08	31	200	1,53 x 10 ⁶	0,85	4,2	1 A
15	6,02	8,15	31	200	1,34 x 10 ⁶	0,74	4,2	1 A
30	6,01	8,15	32	200	1,23 x 10 ⁶	0,68	4,2	1 A
45	6,04	8,12	33	200	1,13 x 10 ⁶	0,62	4,2	1 A
60	6,08	8,13	33	200	9,10 x 10 ⁵	0,50	4,2	1 A

Tabela 10: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S.aureus* em Na₂SO₄ 0,08 M (27/01/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,82	8,44	29	200	1,75 x 10 ⁶	1	-	-
5	5,80	8,49	30	200	1,32 x 10 ⁶	0,75	5,2	2 A
15	5,73	8,29	31	200	2,40 x 10 ⁵	0,13	4,9	2 A
30	5,60	8,32	32	200	1,00 x 10 ⁴	0,005	4,9	2 A
45	5,58	8,46	33	200	1,00 x 10 ⁴	0,005	4,9	2 A
60	5,41	8,41	33	200	1,00 x 10 ⁴	0,005	4,9	2 A

Tabela 11: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. aureus* em Na₂SO₄ 0,08 M (10/05/06). O valor zero para UFC/mL refere-se a nenhuma colônia na diluição 10⁻⁴

T	pH	°C	MS/cm	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,92	31	8,63	200	1,25 x 10 ⁶	1	-	-
5	5,75	31	8,55	200	7,40 x 10 ⁵	0,59	5,6	3 A
15	5,60	32	8,66	200	1,00 x 10 ³	0,08	5,5	3 A
30	5,60	33	8,50	200	0	0,0	5,5	3 A
45	5,86	35	8,57	200	0	0,0	5,4	3 A
60	5,97	35	8,60	200	0	0,0	5,4	3 A

Tabela 12: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S.aureus* em Na₂SO₄ 0,08 M ((14/02/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,66	7,31	28	500	5,56 x 10 ⁶	1	-	-
5	4,85	7,30	28	500	5,48 x 10 ⁶	0,98	4,6	1 A
15	4,65	7,09	29	500	5,08 x 10 ⁶	0,91	4,6	1 A
30	4,60	7,16	30	500	4,11 x 10 ⁶	0,73	4,3	1 A
45	4,60	7,27	30	500	3,69 x 10 ⁶	0,66	4,5	1 A
60	4,59	7,12	31	500	3,40 x 10 ⁶	0,61	4,5	1 A

Tabela 13: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S.aureus* em Na₂SO₄ 0,08 M ((18/02/06))

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,85	9,21	31	500	5,40 x 10 ⁶	1	-	-
5	5,02	9,10	32	500	3,98 x 10 ⁶	0,73	4,2	2 A
15	5,70	9,18	32	500	1,96 x 10 ⁶	0,36	4,2	2 A
30	5,60	9,04	32	500	5,35 x 10 ⁵	0,098	4,2	2 A
45	5,59	9,04	32	500	2,30 x 10 ⁵	0,042	4,2	2 A
60	5,58	9,06	33	500	1,70 x 10 ⁵	0,031	4,2	2 A

Tabela 14: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S.aureus* em Na₂SO₄ 0,08 M ((20/02/06))

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	6,02	8,82	28	500	6,32 x 10 ⁶	1	-	-
5	6,02	8,60	28	500	1,40 x 10 ⁶	0,22	5,9	3 A
15	6,26	8,82	29	500	4,36 x 10 ⁵	0,068	5,9	3 A
30	6,32	8,62	30	500	1,06 x 10 ⁵	0,016	5,8	3 A
45	6,30	8,65	30	500	1,33 x 10 ⁴	0,002	5,8	3 A
60	6,47	8,57	31	500	6,60 x 10 ³	0,001	5,7	3 A

Tabela 15: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S.aureus* em tampão fosfato 0,1 M (11/07/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	7,0	5,39	23	500	3,96 x 10 ⁶	1	-	-
5	7,0	5,39	24	500	2,75 x 10 ⁶	0,69	8,5	3 A
15	7,0	5,39	25	500	2,70 x 10 ⁶	0,68	8,5	3 A
30	7,0	5,39	25	500	2,01 x 10 ⁶	0,50	7,9	3 A
45	7,0	5,39	29	500	1,95 x 10 ⁶	0,49	7,9	3 A
60	7,00	5,39	30	500	1,94 x 10 ⁶	0,48	7,6	3 A

Tabela 16: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. aureus* após adição de Na₂SO₄ 0,08 M eletrolisado com 1h e adicionado em seguida o microrganismo (26/02/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	6,34	8,94	28	200	6,76 x 10 ⁵	1	-	-
15	6,08	8,72	29	200	2,40 x 10 ⁵	0,35	5,4	3 A
5	6,10	8,94	29	200	3,06 x 10 ⁵	0,45	5,4	3 A
30	6,07	8,95	31	200	2,30 x 10 ⁵	0,34	5,4	3 A
45	6,05	8,84	31	200	2,00 x 10 ⁵	0,29	5,4	3 A
60	6,08	8,60	31	200	1,93 x 10 ⁵	0,28	5,3	3 A

Tabela 17: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. aureus* após adição de Na₂SO₄ 0,08 M eletrolisado com 3h e adicionado em seguida o microrganismo (01/03/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	UFC/mL	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,88	8,64	28	200	6,05 x 10 ⁵	1	-	-
5	5,96	8,82	28	200	4,90 x 10 ⁵	0,81	5,7	3 A
15	5,91	8,67	28	200	4,80 x 10 ⁵	0,80	5,6	3 A
30	5,77	8,77	29	200	4,06 x 10 ⁵	0,67	5,6	3 A
45	5,97	8,54	29	200	2,83 x 10 ⁵	0,47	5,6	3 A
60	5,74	8,78	29	200	2,30 x 10 ⁵	0,38	5,6	3 A

Tabela 18: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em Na₂SO₄ 0,08 M (31/05/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	VIABILIDADE	NORMALIZADO	V	I /A
0	6,42	9,25	20	200	0,99%	1	-	-
5	6,31	9,36	20	200	0,98%	0,98	4,0	1 A
15	6,42	9,35	21	200	0,98%	0,98	4,1	1 A
30	6,03	9,44	21	200	0,98%	0,98	4,0	1 A
45	6,05	9,30	23	200	0,98%	0,98	4,0	1 A
60	6,26	9,41	24	200	0,98%	0,98	4,0	1 A

Tabela 19: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em Na₂SO₄ 0,08 M (03/06/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	VIABILIDADE	NORMALIZADO	V	I /A
0	6,46	8,69	20	200	0,98%	1	-	-
5	6,28	8,66	20	200	0,97%	0,98	5,0	2 A
15	6,30	8,69	21	200	0,97%	0,98	5,0	2 A
30	6,54	8,62	22	200	0,96%	0,97	5,0	2 A
45	6,51	8,80	24	200	0,96%	0,97	4,9	2 A
60	5,90	8,69	24	200	0,96%	0,97	4,9	2 A

Tabela 20: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em Na₂SO₄ 0,08 M (14/06/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	VIABILIDADE	NORMALIZADO	V	I /A
0	5,88	8,59	21	200	0,99%	1	-	-
5	6,38	8,54	21	200	0,98%	0,98	6,1	3 A
15	6,12	8,52	23	200	0,98%	0,98	6,0	3 A
30	6,28	8,54	24	200	0,97%	0,97	5,9	3 A
45	6,11	8,58	24	200	0,97%	0,97	5,9	3 A
60	6,26	8,56	24	200	0,97%	0,97	5,9	3 A

Tabela 21: Resultados do tratamento eletrolítico sobre *S. cerevisiae* em tampão fosfato 0,1M (28/06/06)

T	pH	MS/cm	°C	L h ⁻¹	VIABILIDADE	NORMALIZADO	V	I /A
0	7,0	5,39	19	500	0,99%	1	-	-
5	7,0	5,39	19	500	0,99%	1	6,6	3 A
15	7,0	5,39	19	500	0,99%	1	6,6	3 A
30	7,0	5,39	21	500	0,99%	1	6,4	3 A
45	7,0	5,39	22	500	0,99%	1	6,3	3 A
60	7,0	5,39	23	500	0,99%	1	6,2	3 A