

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Mestrado Profissional em Tecnologia e Ambiente



Dissertação

**DESINFECÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO MUNICIPAL:
USO DA OZONIZAÇÃO INDIVIDUAL E COMBINADA COM RADIAÇÃO UVC-LED**

JOÃO HENRIQUE RODRIGUES

Araquari, 2023

JOÃO HENRIQUE RODRIGUES

**DESINFECÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO
MUNICIPAL: USO DA OZONIZAÇÃO INDIVIDUAL E COMBINADA COM RADIAÇÃO UVC-LED**

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Tecnologia e Ambiente do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Ciências Ambientais).

Orientador: Cleder Alexandre Somensi, Dr.

Araquari, 2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

R696d Rodrigues, João Henrique
DESINFECÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO DE UMA ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO MUNICIPAL: USO DA OZONIZAÇÃO INDIVIDUAL E
COMBINADA COM RADIAÇÃO UVC-LED / João Henrique
Rodrigues; orientador Cleder Alexandre Somensi. --
Araquari, 2023.
54 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Araquari, , Araquari, 2023.

Inclui referências.

1. UVC-LED. 2. Ozonização. 3. Radiação UV. 4.
Efluente. 5. Desinfecção. I. Somensi, Cleder
Alexandre. II. Instituto Federal Catarinense. . III.
Título.

JOÃO HENRIQUE RODRIGUES

**DESINFECÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO
MUNICIPAL: USO DA OZONIZAÇÃO INDIVIDUAL E COMBINADA COM RADIAÇÃO UVC-LED**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Ambiente, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 31/03/2023

Banca examinadora:

Dr. Haneron Victor Marcos

Doutor em Gestão Pública e Governança pela Universidad Cesar Vallejo - UCV (Peru).

Instituição de vínculo: Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN)

Prof. Dr. André Luis Fachini de Souza

Doutor em Ciências (Bioquímica) pela Universidade Federal do Paraná - UFPR

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense (IFC) Campus Araquari

Prof. Dr. Cleder Alexandre Somensi (Orientador)

Doutor em Ciência e Tecnologia Ambiental pela Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense (IFC) Campus Araquari



Emitido em 31/03/2023

DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS Nº 19360/2023 - CCPGTA (11.01.02.31)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 09/11/2023 21:28)

CLEDER ALEXANDRE SOMENSI
PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO
DG/ARA (11.01.02.02)
Matricula: ###368#2

(Assinado digitalmente em 09/11/2023 19:01)

FABRICIO MOREIRA SOBREIRA
PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO
CGES/ARA (11.01.02.39)
Matricula: ###774#6

Visualize o documento original em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: **19360**, ano: **2023**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS**, data de emissão: **09/11/2023** e o código de verificação: **1e04ccc6ec**

Este trabalho é dedicado à todas as pessoas que me apoiaram e a Deus que é a grande força que nos rege.

Agradecimentos

A Deus, por tudo que representa em minha vida e na vida da minha família, sem Ele nada disso seria possível.

A meus pais, Ana e João (*in memoriam*) que nunca mediram esforços para proporcionar a seus filhos a melhor educação que podiam nos dar, sempre nos incentivando, nos apoiando em toda trajetória e vibrando junto em cada conquista.

A minha esposa Rafaela e minhas filhas Lara e Helena, por suportarem minha ausência durante vários momentos do desenvolvimento dessa pesquisa, por ser meu alicerce constante e que, até mesmo sem perceber, são o verdadeiro sentido para todo meu desenvolvimento como discente e como ser humano.

A Companhia Catarinense de Águas e Saneamento - CASAN, por proporcionar o desenvolvimento deste estudo e por incentivar o meu desenvolvimento profissional.

A meus colegas de trabalho, que muitas vezes assumiram responsabilidades extras na minha ausência. Ao Dr. Haneron por prontamente aceitar o convite, representando nossa Cia. na banca. Não posso esquecer de citar aqueles que colaboraram diretamente para a efetivação das análises deste trabalho, Diego Deucher com apoio fundamental na elaboração do circuito eletrônico e Felipe Cassini pela adequação necessária para o reator.

Ao Instituto Federal Catarinense (IFC), Campus Araquari, e seus funcionários, em especial aos Técnicos do Laboratório de Química Daniel, Bruno e a Técnica do Laboratório de Biologia Adriana, por todo apoio durante as análises realizadas.

A todo corpo docente do IFC, em especial a professora Dra. Vanessa Peripolli e ao professor Dr. André Fachini pela disponibilidade de auxiliar no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Cleder Alexandre Somensi, primeiramente por aceitar minha proposta de estudo, pela orientação, dedicação, apoio e ensinamentos durante todo processo de pesquisa.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para este estudo.

Muito obrigado!

“Se alguém procura a saúde, pergunta-lhe primeiro se está disposto a evitar no futuro as causas da doença; em caso contrário, abstém-te de o ajudar.”

Sócrates

Resumo

RODRIGUES, João Henrique. **Desinfecção de esgoto sanitário de uma estação de tratamento municipal: uso da ozonização individual e combinada com radiação UVC-LED**. 2023. "54". Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Ambiente, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2023.

A articulação sistemática de recursos hídricos envolve a utilização de instrumentos técnicos e de gestão capazes de minimizar impactos ambientais com otimização do capital disponível, sendo que as estações de tratamento de esgoto (ETE) são constituídas buscando a maior eficiência na remoção de contaminantes, inclusive microbiológicos, potencializando a qualidade da água a ser lançada nos corpos receptores. Porém, várias análises mostram que, mesmo em sistema de tratamento com altos índices de eficiência, a quantidade de microrganismos que chega ao meio ambiente por meio do efluente tratado é considerada elevada. Na grande maioria dessas estações não há tratamento terciário, o que pode não ser eficiente quando se busca a entrega de uma água com qualidade microbiológica satisfatória. Em sistemas em que o tratamento terciário é presente, métodos de desinfecção como cloração e radiação UV são comumente utilizados como polimento final do efluente e o acompanhamento da sua efetividade na desinfecção é extremamente importante para evitar gastos desnecessários, tanto com o consumo de produtos utilizados quanto com o consumo de energia elétrica. O desenvolvimento de novas tecnologias para implementação em tratamento de águas é importantíssimo e está diretamente ligado a qualidade da saúde humana. Desse modo, essa pesquisa buscou analisar a eficiência em desinfecção de amostras de efluente de uma ETE do sistema de saneamento do município de Indaial-SC, utilizando os métodos de ozonização e o processo combinado com a radiação UVC-LED, em escala de bancada, em batelada. A determinação da eficiência dos tratamentos foi realizada pela quantificação de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) e as variáveis pH (5, 7 e 9) e tempo de aplicação (10, 20 e 30 min) formaram a configuração da análise. O ponto ótimo de desinfecção foi atingido em 20 min de processo, independente do método de desinfecção. Em tempo 10 min, sempre que a aplicação combinada foi utilizada, apresentou melhora na eficiência em todos os pHs, mais notoriamente em meio alcalino. A aplicação da radiação UV através de diodos emissores de luz (LED) é uma tecnologia recente e por isso vem despertando interesse em pesquisas mundiais. Por esse motivo carece de maiores análises em diversas configurações para avaliar melhor seu desempenho em desinfecção, via otimização do tratamento, levando também em conta o consumo de energia elétrica por pedido E_{EO} .

Palavras-chave: UVC-LED; Ozonização; Radiação UV; Efluente; Desinfecção; Microrganismos.

Abstract

RODRIGUES, João Henrique. **Sanitary sewage disinfection of a municipal treatment plant: use of individual and combined ozonation with UVC-LED radiation.** 2023. "54". Dissertation (Master degree in Science) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Ambiente, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2023.

The systematic articulation of water resources involves the use of technical and management instruments capable of minimizing environmental impacts with optimization of available capital, and sewage treatment plant (STP) are constituted seeking greater efficiency in the removal of contaminants, including microbiological ones, enhancing the quality of the water to be released into the receiving bodies. However, several analyzes show that, even in a treatment system with high levels of efficiency, the amount of microorganisms that reach the environment through the treated effluent is considered high. In the vast majority of these stations there is no tertiary treatment, which may not be efficient when seeking to deliver water with satisfactory microbiological quality. In systems where tertiary treatment is present, disinfection methods such as chlorination and UV radiation are commonly used as a final polishing of the effluent and the monitoring of their effectiveness in disinfection is extremely important to avoid unnecessary expenses, both with the consumption of products used and with the consumption of electricity. The development of new technologies for implementation in water treatment is extremely important and is directly linked to the quality of human health. Thus, this research sought to analyze the efficiency in disinfection of effluent samples from an STP of the sanitation system in the city of Indaial-SC, using ozonation methods and the process combined with UVC-LED radiation, on a bench scale, in batch. The determination of treatment efficiency was carried out by quantifying colony-forming units (CFU) and the variables pH (5, 7 and 9) and application time (10, 20 and 30 min) formed the configuration of the analysis. The optimal disinfection point was reached within 20 min of the process, regardless of the disinfection method. In 10 min time, whenever the combined application was used, it showed improvement in efficiency at all pHs, most notably in alkaline medium. The application of UV radiation through light emitting diodes (LED) is a recent technology and, therefore, has aroused interest in research worldwide. For this reason, it needs further analyzes in different configurations to better evaluate its performance in disinfection, via treatment optimization, also taking into account the consumption of electrical energy per order E_{EO} .

Keywords: UVC-LED; Ozonation; UV radiation; Effluent; Disinfection; Microorganisms.

Lista de Figuras

Figura 1	Ilustração gerador de ozônio	14
Figura 2	Etapas de Tratamento da ETE	21
Figura 3	Unidades formadoras de Colônias (UFC) em placas de Petri contendo meio de cultivo sólido LB	24
Figura 4	Imagem interna do Ozonizador utilizado	25
Figura 5	(A) Comprimento de onda do LED UVC com pico do fluxo radiante de 275 nm, (B) Ângulo de visão do LED UVC LT5050UVC-XPC, a linha pontilhada em vermelho indica onde 50 % do pico da radiação é atingido, definindo o ângulo do feixe (60 + 60 graus).	26
Figura 6	Circuito de acionamento dos LEDs UVC	27
Figura 7	Esquema ilustrativo do processo de desinfecção	28
Figura 8	Tubos cônicos de 15 mL contendo amostras de reagente após aplicação do método FDA.	29
Figura 9	Comportamento gráfico da potência de radiação x corrente do LED UVC	34
Figura 10	Eletroforese em gel de agarose 0,8 % de amostras de plasmídeos extraídos a partir de amostras de efluente sanitário submetidas a diferentes métodos de desinfecção	43

Lista de Gráficos e Tabelas

Tabela 1	Dados de monitoramento da Estação de Tratamento de Esgoto Sanitário	23
Tabela 2	Características do LED UVC	26
Tabela 3	Dados de absorbância média e número de UFC média da amostra de água bruta diluída para elaboração da curva padrão	32
Gráfico 1	Linha de Tendência da relação entre absorbância e o número de UFC	33
Tabela 4	Resultado da aplicação da radiação UVC-LED em amostra de água proveniente de ETE em diferentes pH. Média das repetições em triplicata	35
Tabela 5	Resultado da aplicação de O ₃ em amostra de água proveniente de ETE em diferentes pH. Média das repetições em triplicata	37
Tabela 6	Resultado da aplicação de O ₃ + UVC-LED em amostra de água proveniente de ETE em diferentes pH. Média das repetições em triplicata	39
Gráfico 2	Comparação dos métodos em relação a eficiência de desinfecção x pH da amostra (tempo 10min)	41
Gráfico 3	E_{EO} de cada tratamento nos diferentes pH em tempo 10 min	42

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CASAN	Companhia Catarinense de Águas e Saneamento
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
E_{EO}	<i>Electric Energy per Order</i>
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
ERO	Espécie Reativas de Oxigênio
FDA	<i>Fluorescein DiAcetate</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
kWh	Quilowatt-hora
LED	<i>Light-Emitting Diode</i>
NBR	Norma Brasileira
nm	Nanômetro
POA	Processo de Oxidação Avançado
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV	Radiação Ultravioleta
V	Volt
W	Watt
Ω	Ohm

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	12
1.1	Ozônio	13
1.2	Radiação UV (luz ultravioleta)	15
2	INTRODUÇÃO	19
2.1	Estação de Tratamento de Esgoto Sanitário	20
3	OBJETIVOS	22
3.1	Geral	22
3.2	Específicos	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Estudo de caso	23
4.2	Atividade Microbiológica - UFC	23
4.3	Geração de Ozônio	25
4.4	LED UVC	26
4.5	Influência do pH	27
4.6	Análises laboratoriais	28
4.7	Análises estatísticas	29
4.8	Preparação, Extração de DNA Plasmídico e Eletroforese	30
4.9	Energia elétrica por pedido (E_{EO})	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	Aplicação Método FDA	32
5.2	Aplicação LED UVC	33
5.3	Aplicação Ozônio	36
5.4	Combinação O_3 + UVC LED	38
5.5	Eletroforese: Resposta dos tratamentos sobre o plasmídeo bacteriano	42
5.6	Conclusão	44
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
7	REFERÊNCIAS	50

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

Na recente abordagem de governança ambiental no Brasil, um dos principais conceitos é a segurança hídrica, podendo ser definida como a garantia de acesso a água de qualidade para preservar a saúde humana e os ecossistemas. Dessa forma, diferentes atores estão envolvidos no processo de governar os recursos naturais, seja ele o setor empresarial, o governo ou a sociedade civil (JACOBI et al., 2015).

No Brasil, é fato que diversas internações hospitalares estão vinculadas a doenças hídricas. Esse quadro se deve, de forma geral, à ausência de saneamento básico e à disposição de efluentes sanitários sem que passem por processo de desinfecção (ASSIRATI, 2005). O contágio de doenças por veiculação hídrica é um problema de saúde pública que afeta diretamente o bem estar da sociedade e pesquisas comprovam que crianças e jovens são os mais afetados (UHR et al., 2016; XAVIER et al., 2022).

A desinfecção da água tem por objetivo a inativação de organismos patogênicos contidos nesse líquido, no intuito de assegurar que os corpos hídricos não sofram contaminação. Além disso, são atributos da desinfecção: a inativação de todos os patogênicos em níveis que minimizem o risco de transmissão de doenças; a não formação de subprodutos; impedir recuperação do dano ao organismo; e ser pouco afetado pela variação das propriedades e características físicas e químicas da água (CAIRNS, 1995 apud SOUZA, 2006).

O cloro, que é largamente usado para esse fim, desempenha bem essa função de desinfecção da água e é muito utilizado há várias décadas, porém nos últimos anos novos patogênicos foram descobertos, como microrganismos resistentes a drogas e outros que adquiriram novos fatores virais (BEATTIE et al., 2020).

Pesquisas de processos de desinfecção como métodos alternativos ao uso de cloro são de interesse mundial e fomentam pesquisas com cenários diversos como dosagens aplicadas, tempos de contato, formação de subprodutos potencialmente perigosos à saúde, efetividade de desinfecção dentre outros cenários que alimentam os estudos nesse campo promissor (SOUZA, 2006).

Dentre vários produtos pesquisados com ação desinfetante para esse fim, a ozonização se mostra, em diversas pesquisas, como um potente método de desinfecção alternativo ao cloro especialmente no tratamento de efluentes por sua alta atividade de reação (MAHMOUD & FREIRE, 2007; WANG et al., 2017; MIKLOS et al., 2018).

1.1 Ozônio

O ozônio é um gás de fórmula molecular O_3 , ou seja, três átomos de oxigênio. E essa composição molecular deixa o ozônio instável e com alto poder oxidante, sendo usado com o intuito de desinfecção e trazendo resultados eficientes há muitos anos (PREETHI et al., 2009; MIKLOS et al., 2018). Algumas literaturas trazem que os testes que primeiro surtiram efeito com desinfecção usando ozônio foram realizados na França por De Meritens em 1886 (CAMEL; BERMOND, 1998). Alguns anos depois, na Holanda, começou a utilização desse produto como desinfetante para o tratamento de águas de abastecimento, e a partir desse momento, expandiu-se pela Europa e posteriormente à América do Norte (GONÇALVES, 2003).

As pesquisas de Johannes J. Rook, químico chefe do serviço de abastecimento de água de Rotterdam, descobriram no início da década de 70, que o uso do cloro como desinfetante de águas de abastecimento, formava subprodutos organoclorados que poderiam prejudicar a saúde humana (AUGUSTO, 2010). Isso fomentou ainda mais o uso de sistemas de desinfecção alternativos ao cloro.

Em 1991, aproximadamente 40 plantas de tratamento de água, cada uma delas servindo mais de 10.000 habitantes, estavam em operação nos Estados Unidos utilizando o ozônio. Em torno de 1998 esse número já atingia 264 plantas, a maioria delas de pequeno porte, produzindo menos que 4.000 m^3 por dia (USEPA, 1999 apud ASSIRATI, 2005).

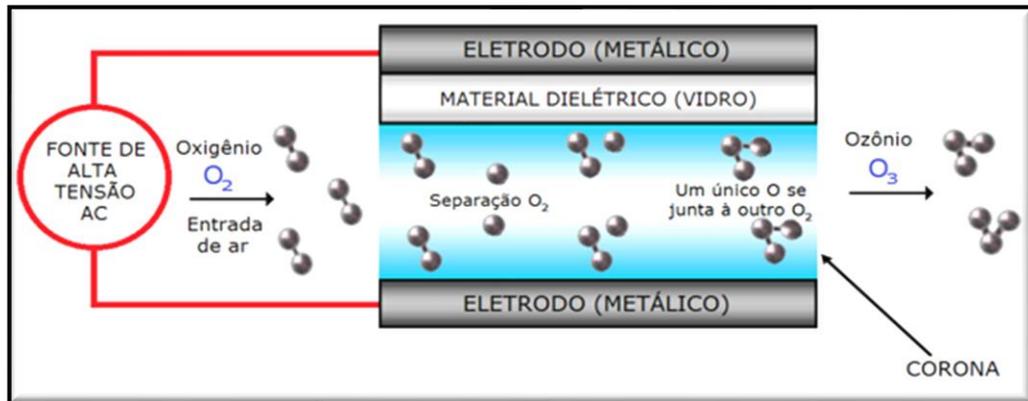
Devido a eficácia comprovada em suas aplicações, o ozônio é considerado um poderoso oxidante amplamente utilizado em diferentes processos em diversos níveis para remover poluentes presentes nos efluentes (PREETHI et al., 2009).

Analisando de maneira superficial, a geração do ozônio é simples onde, uma potente descarga elétrica na presença de oxigênio pode gerar esse gás. O método mais conhecido para tal tarefa é o efeito em corona, onde o ozônio é gerado através da aplicação de alta tensão entre dois eletrodos, conforme ilustra a figura 1.

O ozônio é um gás à temperatura ambiente, e como esse gás é muito instável, a produção *in loco* é a única maneira de realizar a desinfecção no processo. A matéria-prima

para produção do ozônio é o oxigênio e uma fonte de energia, sendo que, um ozonizador é composto normalmente por sistema de preparação do gás, gerador de ozônio, reator de contato (ou câmara de contato) e o sistema de destruição do ozônio na fase gasosa (FERREIRA FILHO, 2021).

Figura 1 - Ilustração gerador de ozônio.



Fonte: Adaptado de Thermomixbrasil, 2018.

As potentes descargas elétricas emitidas entre os eletrodos rompem as ligações das moléculas de oxigênio por meio da alta velocidade que os elétrons livres atingem. Após a separação molecular o oxigênio se divide em dois átomos, cada átomo junta-se a outra molécula de oxigênio formando o ozônio (CAMBOIM et al., 2019). Um exemplo prático ocorre na natureza com as descargas atmosféricas (relâmpagos), que acabam formando ozônio quebrando as moléculas de oxigênio contidas no ar. Pode-se dizer que os geradores de ozônio imitam o processo da natureza.

Segundo Miklos et al. (2018), as reações com ozônio em soluções aquosas reais geralmente envolvem a formação de radical hidroxila (OH·), por esse fato a ozonização é frequentemente considerada um Processo de Oxidação Avançado (POA), pois, estes são definidos como os processos de oxidação envolvendo a geração predominante desses radicais (DENG & ZHAO, 2015).

Os processos de oxidação avançada (POAs) podem produzir vários tipos de espécies reativas de oxigênio para decompor e mineralizar contaminantes em águas residuais (WANG et al., 2017). A ozonização é um processo de tratamento promissor devido às suas características únicas, como a não geração de lodo, alto potencial para remoção de cor, redução orgânica e fácil decomposição de ozônio residual (PREETHI et al., 2009). Como

oxidante, o ozônio é muito seletivo e ataca principalmente grupos funcionais ricos em elétrons e reage preferencialmente com orgânicos com duplas ligações (MIKLOS et al., 2018).

O processo de ozonização tem se mostrado um método eficiente e ecologicamente correto para a degradação de poluentes (WANG et al., 2017). O ozônio reage com compostos orgânicos presentes no efluente através de ataque direto ou ataque indireto de radicais livres (PREETHI et al., 2009).

No entanto, algumas vezes, os contaminantes podem não ser completamente removidos devido o O_3 apresentar as desvantagens de baixa solubilidade, baixa estabilidade e reação seletiva com poluente orgânico na água (WANG et al., 2022).

O trabalho de Gogate e Pandit (2004) mostra que a utilização de POAs individualmente em aplicações de tratamento de efluentes não atinge os objetivos de desinfecção com boa economia e alto grau de eficiência energética. Por outro lado, métodos híbridos (combinação de processos de oxidação avançados POAs) se apresentam como boas soluções para otimizar o processo de desinfecção com base em Ozônio (O_3). Dessa forma, catalisadores ou outras substâncias são geralmente adicionados no processo de ozonização para melhorar a eficiência da oxidação (WANG et al., 2022).

Diversas combinações de POAs podem ser utilizadas com o intuito de aprimorar a desinfecção com O_3 , dentre elas destacam-se o uso combinado do ozônio com OH^- , radiação UV, H_2O_2 e ultra-som (MAHMOUD & FREIRE, 2007).

1.2 Radiação UV (luz ultravioleta)

Em comparação aos processos de desinfecção por tratamentos químicos, a irradiação da luz ultravioleta (UV) pode obter um maior nível de desinfecção com menor custo e em curto período de tempo (RIZVI et al., 2013). As lâmpadas UV convencionais de baixa pressão (LP) e média pressão (MP) são a fonte artificial de luz ultravioleta mais usadas na atualidade para desinfecção fotocatalítica (NYANGARESI et al., 2019).

Na busca de processos eficazes de desinfecção, historicamente o DNA ou o RNA são o alvo principal em vários organismos, e quando a luz UV é absorvida por estes, acaba causando a morte celular (LI et al., 2019). Por outro lado, a emissão de fótons pode iniciar os radicais hidroxila na presença de catalisadores ou oxidantes, com isso, o rendimento de $OH\cdot$ pode ser significativamente melhorado durante a irradiação UV. Além disso, o $OH\cdot$ pode,

possivelmente, ser produzido por fotólise de H₂O em determinados comprimentos de onda UV (DENG & ZHAO, 2015).

Lâmpadas UV de mercúrio (LP e MP) são utilizadas na desinfecção da água há anos tendo como vantagem o fato de não gerar subprodutos, toxinas ou compostos orgânicos voláteis, não alterando sabor e cheiro da água (GALEZZO & SUSAN, 2021). No entanto, essas lâmpadas possuem a desvantagem de comprimentos de onda fixos, vida útil curta, baixa eficiência energética, fragilidade e poluição ambiental devido ao mercúrio (NYANGARESI et al., 2019).

Nos últimos anos, estudos sobre a utilização de diodo emissor de luz ultravioleta (UV-LED) para desinfecção de água mostraram vantagens e ganharam força na substituição das lâmpadas fabricadas com mercúrio (LI et al., 2017). O diodo emissor de luz ultravioleta é um dispositivo semicondutor de estado sólido que tem como característica a diversidade de comprimentos de onda que variam de 100 a 400 nm (GALEZZO & SUSAN, 2021); e com as vantagens de não necessitar de tempo de estabilidade, sem mercúrio, configuração flexível, variedade de comprimento de onda, vida útil mais longa, baixo consumo de energia e pode ser ligado e desligado em frequências altas e ajustáveis (WANG et al., 2022). Em sistemas utilizando radiação UV como mecanismo de desinfecção microbiana, o comprimento de onda é muito importante e influencia diretamente na eficiência da desinfecção e o comprimento de onda UVC é o que apresenta a máxima absorção de luz UV pelo DNA, no entanto, na maioria dos casos, o pico de absorção varia e é dependente do organismo alvo (LI et al., 2019).

Segundo Galezzo e Susa (2021) a vida útil dos LEDs está ligada diretamente a sua temperatura operacional, pois, a energia elétrica aplicada aos LEDs é transformada em luz e calor e há diminuição da luz emitida com o aumento temperatura.

Os estudos de Li et al. (2019) e Wang et al. (2022) afirmam que, para obter alta eficiência de inativação com consumo mínimo de energia, o ideal é a faixa de comprimento de onda próxima de 280 nm, o que foi determinante na escolha dos LEDs deste estudo.

Muitos trabalhos apresentam discussões sobre o mecanismo de inativação de microrganismos por UV-LEDs e, assim como as lâmpadas UV à base de mercúrio, a radiação UVC-LED provou ser eficiente para a desinfecção (SONG et al., 2016).

Devido a inúmeras vantagens que os LEDs UV apresentam em comparação com as lâmpadas tradicionais UV de vapor de mercúrio, pesquisadores realizam estudos para obter dados e desenvolver métodos para sistemas de tratamento utilizando essa tecnologia (LI et

al., 2019), trazendo a possibilidade de economias significativas nos custos com materiais e gastos energéticos, contribuindo para a miniaturização da configuração (SCHÄFER et al., 2022).

O uso combinados de algumas técnicas tendem a otimizar os sistemas de desinfecção em POAs, assim, a radiação UV combinada com O_3 , pode aumentar a degradação do ozônio para gerar radicais hidroxila através de uma série de reações em cadeia, oferecendo a possibilidade de diferentes formas de oxidação (WANG et al., 2017; SCHÄFER et al., 2022). Os benefícios observados nessa combinação em comparação com a aplicação individual, estão vinculados ao princípio de que a taxa de geração de radicais livres é significativamente aumentada (GOGATE & PANDIT, 2004). Os processos oxidativos avançados (POAs) fornecem uma opção viável e eficaz de atenuação de poluentes em águas devido à oxidação de uma ampla faixa de produtos (MIKLOS et al., 2018).

Além do que, a aplicação de POAs como o deste estudo, tende a melhorar significativamente a degradação de material genético plasmídico presente no efluente, os quais são reconhecidamente os principais envolvidos na transferência de genes de resistência entre cepas bacterianas de origem humana, animal e de peixes, mesmo na ausência de antibióticos (SOMENSI et al., 2015). A degradação do plasmídeo bacteriano é desejada para preservar a saúde humana, uma vez que, a contaminação do meio ambiente por agentes resistentes é uma ameaça como um originador de doenças e como uma fonte para se espalhar facilmente patógenos diversos a partir do material genético plasmídico, podendo aumentar os custos dos sistemas de saúde (DODD, 2012).

Sabidamente o fator econômico muitas vezes é colocado como o mais relevante em uma empresa, e o cálculo da quantidade de energia elétrica consumida para atingir a remoção do poluente desejado se torna uma ferramenta muito importante a ser avaliado (FARKAS et al., 2018).

A energia elétrica por pedido (E_{EO}) é um parâmetro que foi conceituado por Bolton et al. (2001), publicado pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) e, desde então, tem sido muito útil na avaliação do desempenho de métodos de processos oxidativos avançados baseados em radiação UV para a degradação de contaminantes orgânicos (FARKAS et al., 2018).

Conforme Daneshvar et al. (2005), a E_{EO} é definida pela quantidade de energia elétrica em quilowatt-hora (kWh) necessária para reduzir a concentração logarítmica de um poluente

em ordem de grandeza em um (1) metro cúbico (m^3) de água contaminada, e é normalmente aplicado em situações onde a amostra apresente baixas concentrações de poluentes, ideal para este estudo.

O valor da E_{EO} é facilmente afetado pelos parâmetros operacionais, como a concentração do oxidante, a natureza dos compostos alvo e a qualidade da água. Além disso, alguns estudos de escala de bancada, utilizam, de forma equivocada, a E_{EO} para comparação da eficiência de métodos determinando o melhor processo para sua aplicação sem levar em consideração que em escala real o desempenho de cada processo pode ser criticamente afetado (KEEN et al., 2018).

2 INTRODUÇÃO

A ingestão de água não tratada (ou tratada de má qualidade), é a forma com que se transmitem os organismos patogênicos ao ser humano, inclusive se essa ingestão for de forma indireta, como através de alimentos contaminados, contato da pele com a água contaminada e contato da pele com solo contaminado (SOUSA, 2014). Segundo Assirati (2005) as quatro categorias de organismos entéricos humanos causadores de doenças são: as bactérias, os protozoários (cistos e oocistos), os helmintos e os vírus. Pode-se acrescentar também as cianobactérias no grupo de patógenos causadores de doenças de veiculação hídrica.

Os tratamentos de água para o consumo humano e o tratamento de efluentes fazem parte de um conjunto de medidas que visam o controle e distribuição dos recursos básicos, previstos na constituição, para a população (SOUZA & DANIEL, 2008). Esse conjunto de medidas busca melhorar a qualidade de vida e a saúde da população, prevenindo doenças e facilitando o desenvolvimento do país. Conforme dados da Funasa (2000) o saneamento é considerado, universalmente, como uma política que muito contribui para melhoria das condições de saúde e da qualidade de vida. Nesse cenário surge um espaço estimulante para inovadoras formas de gestão, incluindo nesse meio diferentes áreas para balancear os vários interesses e realidades políticas, visando boas práticas de governança, sendo muito importante a participação da população indicando as ações e decisões voltadas à solução de seus problemas na dimensão ambiental (JACOBI et al., 2015). Portanto, é necessário investir e expandir na cobertura do saneamento de maneira assertiva, promovendo pesquisas para otimização de processos, análises de novos produtos e estudos de novas tecnologias.

Percebe-se que nos últimos anos, vestígios de inúmeros produtos de consumo e produtos químicos industriais foram detectados no ambiente aquático, provenientes dos escoamentos urbanos, agrícolas e efluentes das estações de tratamento. Diferentes autores utilizam em seus trabalhos a avaliação de indicadores fecais para estabelecer a melhor eficiência dos processos de desinfecção investigados em seus estudos, e microrganismos como *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* tem sido extensivamente avaliados (GALEZZO & SUSA, 2021).

A avaliação crítica de comparação de eficiência desses processos em relação ao seu consumo de energia, insumos químicos, sustentabilidade e viabilidade geral (por exemplo, formação de subprodutos), representam um grande desafio diante do crescente número de tecnologias e combinações de técnicas (MIKLOS et al., 2018).

Um método rápido utilizado para quantificar as atividades enzimáticas é a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), que entra na membrana celular hidrofóbica e é hidrolisado em fluoresceína, que por sua vez, é retida pela membrana celular (TAKEUCHI & FRANK, 2001).

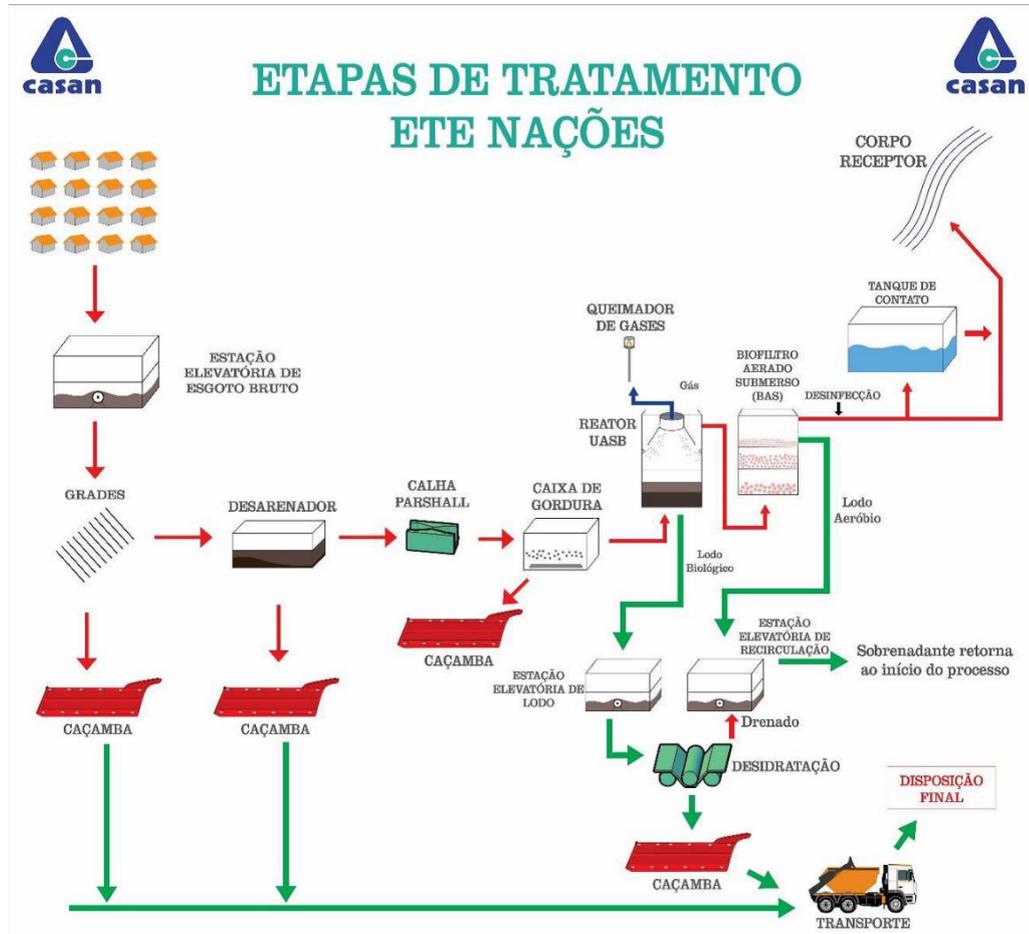
A hidrólise do FDA é amplamente aceita como um método preciso e simples para medir a atividade microbiana total em uma variedade de amostras ambientais (ADAM & DUCAN, 2001). O acúmulo de fluoresceína indica a presença de atividade enzimática e integridade da membrana, e essa atividade pode ser quantificada para populações bacterianas usando espectrofotometria (TAKEUCHI & FRANK, 2001).

2.1 Estação de Tratamento de Esgoto Sanitário

A água amostral deste estudo é proveniente de uma Estação de Tratamento de Esgoto Sanitário (ETE) que atualmente conta com o desinfetante cloro na entrega do produto final, porém, a utilização desse produto na desinfecção vem demonstrando pouca eficiência como, por exemplo, na remoção/redução bacteriana, apesar de atender a legislação vigente.

A ETE em questão é do tipo contínua e sua planta atualmente apresenta uma Elevatória de esgoto bruto, unidades de tratamento preliminar (gradeamento, desarenador e caixa de gordura) e unidades de tratamento biológico, anaeróbio e aeróbio em sequência (reator UASB e biofiltro aerado submerso) e posterior desinfecção final como mostra a figura 2.

Figura 2 – Etapas de Tratamento da ETE.



Fonte: Cia. Catarinense de Águas e Saneamento-CASAN, 2020.

A partir da quantificação bacteriana da amostra de efluente, este estudo avaliou os métodos de desinfecção propostos em aplicação solitária e combinados, buscando otimizar as técnicas em processo oxidativo avançado, associando o poder de geração do radical hidroxila ao poder de desinfecção do O_3 e da irradiação UVC-LED que produz danos diretos no DNA dos microrganismos através do seu mecanismo de inativação.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Desenvolver um sistema de desinfecção de águas em escala de bancada, via associação de ozônio e UV LED para obtenção de água isenta de microrganismos.

3.2 Específicos

Aplicar ozônio e UV LED para obtenção de água isenta de microrganismos;

Analisar e comparar a eficiência de desinfecção das técnicas separadamente e combinadas;

Analisar se a radiação UVC-LED é um método adequado para melhorar a reação de desinfecção no processo combinado O_3 + UVC-LED;

Determinar e avaliar a aplicação dos métodos de desinfecção propostos em diferentes pHs;

Avaliar a eficiência dos tratamentos quanto a degradação de plasmídeos bacterianos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo de caso

A água utilizada neste estudo é proveniente de uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a qual é integrante do sistema de águas e saneamento do município de Indaial-SC. As amostras foram coletadas de forma aleatória na saída da Estação logo após o biofiltro aerado e antes da desinfecção, foram armazenadas em frasco opaco, vedado e mantidas sob refrigeração até o início das análises. O monitoramento do efluente a ser analisado resultou na tabela 1.

Tabela 1 – Dados de monitoramento da Estação de Tratamento de Esgoto Sanitário.

Parcelas	Unidade	Quantidade
População atendida	hab	25.624
Índice de atendimento	%	35,61

Parcelas	Unidade	Nº Dados	Média	Mínimo	Máximo
Vazão de Esgoto	m ³ .d ⁻¹	12	2.067,60	1.398,48	3.144,96
DQO afluente	mg.L ⁻¹	12	408,25	75	605
DQO efluente	mg.L ⁻¹	12	138,33	71	276
DBO afluente	mg.L ⁻¹	12	176,32	27	269,5
DBO efluente	mg.L ⁻¹	12	24,98	13,7	39,9
pH UASB	pH a 25°C	12	7,44	6,78	8,04
<i>E. coli</i> Saída	NMP/100mL	12	2,23x10⁷	4,9x10 ⁴	2,4x10 ⁸
Eficiência remoção <i>E. coli</i>	%	12	71,82	0,00	99,71

Fonte: Autor, 2022.

4.2 Atividade Microbiológica - UFC

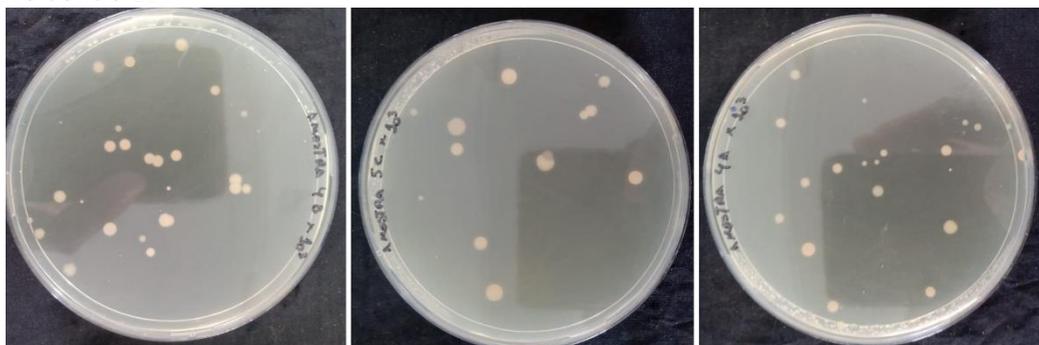
A quantificação da atividade microbiológica da amostra de água foi avaliada pelo método da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) proposto por Adam e Duncan (2001), com pequenas modificações. O experimento foi conduzido no Laboratório de Química e no Laboratório de Biologia, situados no Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari-SC.

A solução de FDA foi preparada a partir de 0,10g de diacetato de fluoresceína para diluição em 100 mL de acetona e armazenada a 4°C no escuro. Em tubos cônicos de 15 mL foram adicionados 3,5 mL de amostra de água (com pH na faixa de 6,5-7,5), 3,5 mL de uma solução tampão de fosfato de potássio (0,06 mol.L⁻¹ e pH 7,6), acrescentado 200 µL da solução de FDA e realizado agitação. A amostra controle foi preparada em mesmo procedimento apenas sem acrescentar a solução de FDA. Após, os tubos foram incubados em estufa por 2 horas a 37°C, e centrifugados a 3600xg por 5 minutos. Para medição da absorbância foi coletada uma alíquota do sobrenadante dos tubos e medido em um espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) no comprimento de onda de 490 nm. A atividade enzimática das amostras foi medida pela diferença das absorbâncias.

Para obtenção da curva padrão das análises, realizou-se a diluição da amostra de água bruta em água destilada nas concentrações de 80%, 60%, 40%, 20% e 10% de amostra.

Uma alíquota de cada concentração foi retirada para quantificação das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) e agitadas em vórtex. Foram retirados 100 µL de amostra de cada concentração e diluído em 900 µL de solução salina 0,85% (p/v) em microtubos de 1,5 mL. Após, prosseguido com diluições seriadas de 10⁻¹ a 10⁻⁴ agitando o microtubo em vórtex para homogeneização da amostra diluída. Ao fim das diluições coletado 100 µL da amostra diluída e transferido ao centro de placas de Petri, contendo previamente o meio de cultura LB sólido (Luria Bertani) preparado de acordo com Döbereiner (1999), realizado o espalhamento da amostra na placa e levado à incubação. Após 24 horas de incubação à 37 °C, realizou-se a contagem das colônias formadas nas placas conforme figura 3. Para cada concentração foi realizado a quantificação da UFC em triplicata (COSTA et al., 2016).

Figura 3 – Unidades formadoras de Colônias (UFC) em placas de Petri contendo meio de cultivo sólido LB.



Fonte: Autor, 2022.

4.3 Geração de Ozônio

O ozônio foi gerado a partir de um equipamento cedido pela Universidade do Vale do Itajaí-SC (figura 4) com potência de trabalho de 43,8 W (0,0438 kW) e sempre operando de forma a produzir residual de ozônio superior a $2 \text{ mg} \cdot \text{min}^{-1}$, garantindo a saturação de O_3 no reator (SANTOS DE PAULA et al., 2021).

Figura 4- Imagem interna do Ozonizador utilizado.



Fonte: Autor, 2023.

Para quantificar e estabelecer a dosagem de ozônio do equipamento empregado para este estudo, foi utilizado o método iodométrico (método de quantificação indireto) de acordo com Clescerl (*Standard Methods for the examination of water and wastewater*, 1999) com pequenas modificações.

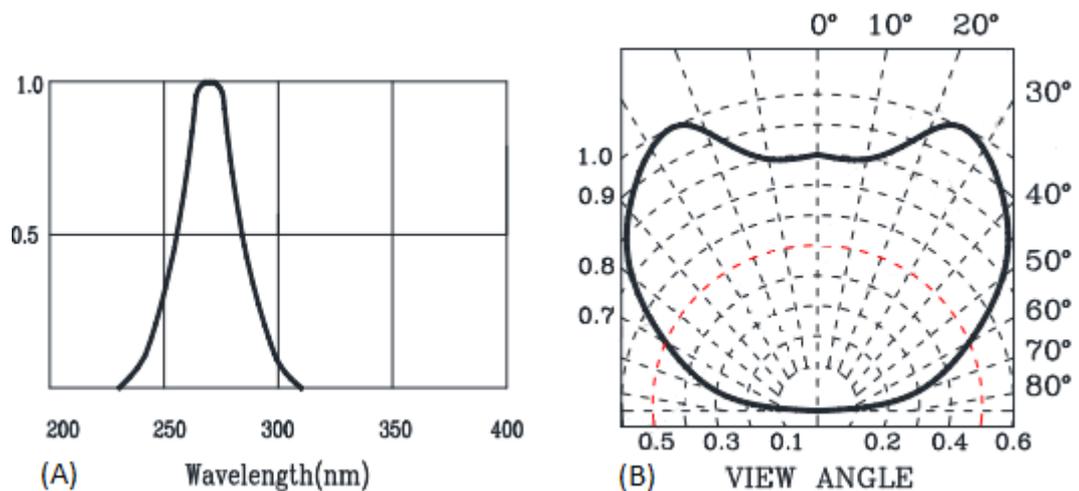
O princípio do método iodométrico é que, o agente oxidante (ozônio) libera o iodo contido em uma solução concentrada de iodeto de potássio (KI), onde $\text{O}_3 + 2\text{KI} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{I}_2 + \text{O}_2 + 2\text{KOH}$. A solução de iodeto de potássio torna-se alcalina rapidamente no processo de ozonização. O iodo liberado (após acidificação) é titulado com solução padrão de tiosulfato de sódio usando solução de amido como indicador. É um método muito bem estabelecido e aceito mundialmente (COSTA, 2003).

A potência de trabalho do ozonizador foi determinada por aparelho de medição de grandezas elétricas específico (Multímetro Digital True-RMS Fluke 87 V).

4.4 LED UVC

Três LEDs UV com comprimentos de onda de 275 nm (Para Light Corp., Ltd.) foram utilizados neste estudo, suas características são apresentadas na figura 5 e na tabela 2.

Figura 5 – (A) Comprimento de onda do LED UVC com pico do fluxo radiante de 275 nm, (B) Ângulo de visão do LED UVC LT5050UVC-XPC, a linha pontilhada em vermelho indica onde 50 % do pico da radiação é atingido, definindo o ângulo do feixe (60 + 60 graus).



Fonte: Para Light, 2022.

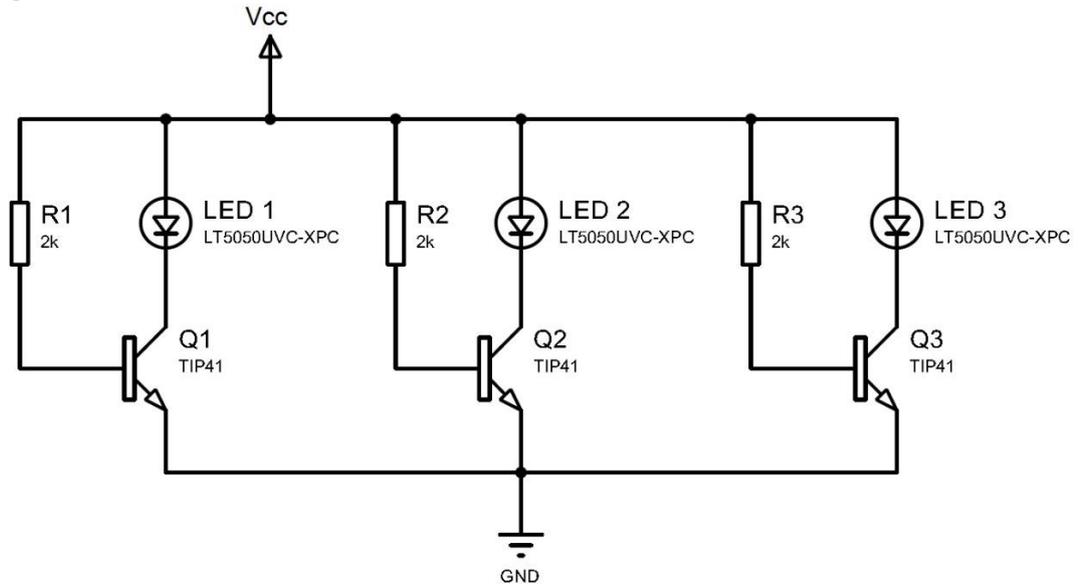
Tabela 2 – Características do LED UVC.

Especificação	Corrente Teste	Intensidade Radiante	Comprimento de Onda	Ângulo visão
LED SMD LT5050UVC-XPC	300 mA	40 mW	275 nm	120°

Fonte: Para Light, 2022.

O circuito de acionamento foi confeccionado em placa eletrônica de fenolite, com dissipadores de calor, composto por fonte de alimentação (Vcc) de 7,4 V, Transistor TIP41C (Q) e resistores de 2 k Ω (R), conforme circuito apresentado na figura 6. A placa com os LEDs, de potência total de 8,88 W, foi colocada ao lado do reator para irradiação UVC durante os ensaios.

Figura 6- Circuito de acionamento dos LEDs UVC.



Fonte: Autor, 2022.

4.5 Influência do pH

Para avaliar a influência do pH nos métodos de desinfecção propostos, foram conduzidos experimentos abrangendo diferentes pH (ácido pH 5, neutro pH 7 e alcalino pH 9). Segundo Preethi et al. (2009), o pH da amostra afeta diretamente a decomposição do ozônio. A partir dessa decomposição em pH mais alto os radicais hidroxila são formados, enquanto em pH baixos, o ozônio molecular permanece como o principal oxidante.

Alguns autores consideram que a ozonização em pH elevado é um processo oxidativo avançado (POA) por favorecer intencionalmente a geração do radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$). O pH da água a ser tratada influencia diretamente a eficiência da ozonização, até mesmo pela abundância de ânion hidroxila influenciando a ozonização indireta (MIKLOS et al., 2018).

Embora não seja a abordagem mais eficiente, a variação do pH costuma ser a mais simples para se obter a geração de radicais hidroxila a partir do ozônio (MAHMOUD & FREIRE, 2007).

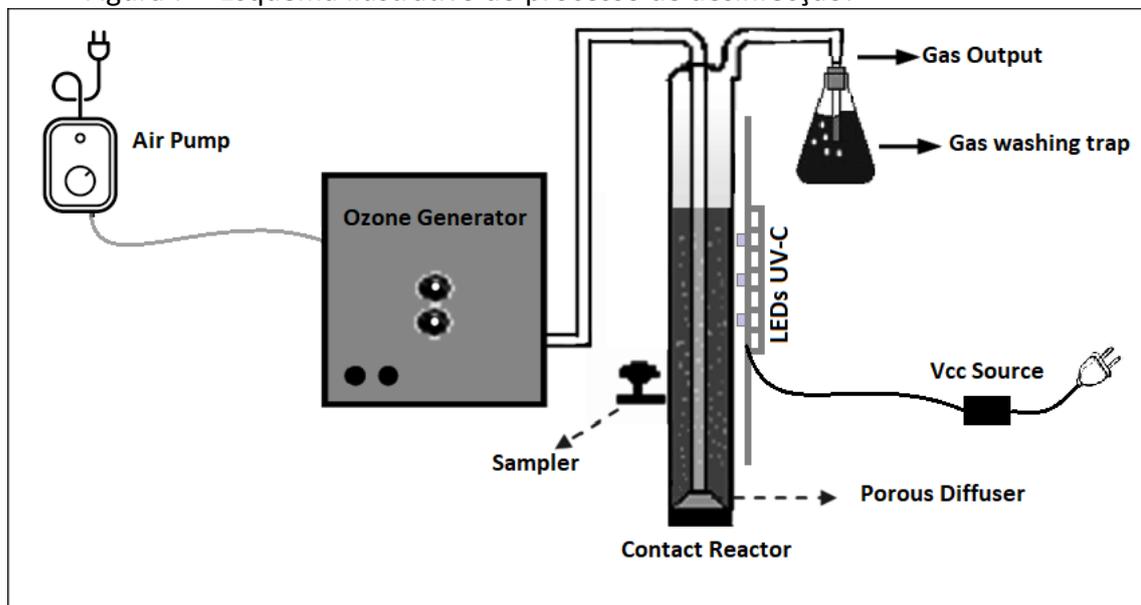
O ozônio molecular é mais seletivo para destruição de determinados grupos, como no caso dos cromóforos, enquanto os radicais hidroxila são menos seletivos e possuem um maior potencial de oxidação. Geralmente, sob condições ácidas o mecanismo direto predomina, em condições básicas as reações radicalares predominam e ele se torna indireto (PREETHI et al., 2009).

4.6 Análises laboratoriais

As análises laboratoriais deste trabalho foram realizadas nos Laboratórios de Química e Biologia do Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari-SC entre agosto de 2022 e fevereiro de 2023. A cada coleta as amostras eram armazenadas em frascos opacos e mantidas refrigeradas até o início das análises. A partir de agosto se iniciou o processo para determinação dos melhores métodos para desinfecção das amostras utilizando Ozônio (O_3) e radiação ultravioleta (UVC-LED) em diferentes tempos, diferentes pH e diferentes volumes amostrais. Todas as coletas e armazenamentos que se seguiram foram realizadas da mesma forma tendo como base a norma da ABNT/NBR 9898. Os resultados foram determinados por diversas coletas e análises, todas em triplicata.

Após o período de testes e a determinação da curva padrão, se estabeleceu o processo ideal para aplicação do método proposto neste estudo. A figura 7 apresenta o esquema ilustrativo da configuração do processo utilizado para desinfecção das amostras.

Figura 7 – Esquema ilustrativo do processo de desinfecção.



Fonte: Adaptado pelo Autor, 2023.

Conforme descrito anteriormente, as coletas amostrais foram realizadas em ETE do município de Indaial-SC, logo após o biofiltro aerado antes da desinfecção. Essas amostras foram transportadas até Araquari-SC onde foram realizadas as análises. Em sequência, foram aplicados os métodos de desinfecção propostos nas amostras em temperatura ambiente. Os métodos de desinfecção foram aplicados separadamente (O_3 e UVC), em conjunto (O_3 +UVC),

em diferentes pHs (ácido pH 5, neutro pH 7 e alcalino pH 9) e em tempos de aplicação de 10, 20 e 30 minutos.

Posterior à aplicação dos métodos de desinfecção, foram iniciadas as análises de atividade enzimática microbiológica por FDA conforme Adam e Duncan (2001). Em tubos cônicos de 15 mL foram adicionados 3,5 mL de amostra de água desinfetada (corrigido pH para faixa de 6,5-7,5 quando necessário), 3,5 mL de uma solução tampão de fosfato de potássio ($0,06 \text{ mol.L}^{-1}$ e pH 7,6), acrescentado 200 μL da solução de FDA e realizado agitação. A amostra de controle foi preparada no mesmo procedimento apenas sem acrescentar a solução de FDA. Após, os tubos foram incubados em estufa por 2 horas a 37°C , e centrifugados a $3600 \times g$ por 5 minutos. Para medição da absorbância foi coletada uma alíquota do sobrenadante dos tubos, apresentados na figura 8, e medido em um espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) no comprimento de onda de 490 nm. Essas análises de FDA foram realizadas em triplicatas para cada alíquota amostral (bruta, 10 min., 20 min. e 30 min.) e em três (3) repetições de aplicação de cada método.

Figura 8 – Tubos cônicos de 15 mL contendo amostras de reagente após aplicação do método FDA.



Fonte: Autor, 2022.

4.7 Análises estatísticas

Os dados de UFC foram analisados através do procedimento NPAR1WAY (Kruskal Wallis) e as médias foram comparadas pelo teste de *Dwass Steel Critchlow Fligner* (DSCF). As análises

foram realizadas no programa SAS (*Statistical Analysis System Inst. Inc.*, Cary, NC, versão 9.4) e diferenças estatísticas significativas foram consideradas quando $P < 0,05$.

4.8 Preparação, Extração de DNA Plasmídico e Eletroforese

A preparação de plasmídeos foi feita em pequena escala por hidrólise alcalina, baseada no método descrito por Birnboim & Doly (1979) e Sambrook et al. (1989). Um volume amostral de 100 mL do efluente bruto e dos efluentes tratados, nas diferentes condições de pH em 30 min de aplicação, foram centrifugadas a $5.000 \times g$, durante 15 minutos, à temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspensão em 200 μL de GET (glucose 50 mmol.L^{-1} , EDTA 10 mmol.L^{-1} pH 8,0, Tris-HCl 25 mmol.L^{-1} pH 8,0) e transferido para um tubo de microcentrífuga. A essa suspensão bacteriana foi adicionado 400 μL de solução de lise (SDS 1%, NaOH $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$), homogeneizado por inversão e mantido em gelo por 5 minutos. Transcorrido esse período de tempo foram adicionados 400 μL de acetato de potássio $3,0 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 5,2. O lisado bacteriano foi homogeneizado por inversão algumas vezes e mantido em gelo por 10 minutos, seguido pela adição de 100 μL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1), agitação vigorosa e centrifugação a $13.000 \times g$ por 10 minutos. A fase aquosa foi transferida para outro tubo e o ácido nucléico precipitado pela adição de 1,5 volumes de etanol 96% (v/v) à temperatura ambiente. O precipitado foi coletado por centrifugação a $13.000 \times g$ por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 500 μL de etanol 80% (v/v) e centrifugado nas mesmas condições descritas. O sobrenadante foi novamente descartado e o DNA seco a temperatura ambiente e dissolvido em 40 μL de água ultrapura.

A separação de fragmentos de DNA ou plasmídeos íntegros foi feita por eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v) em tampão TBE (Tris base 90 mmol.L^{-1} ; ácido bórico 90 mmol.L^{-1} ; EDTA 20 mmol.L^{-1} pH 8,0), contendo brometo de etídeo $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A corrida eletroforética foi realizada no mesmo tampão e na mesma concentração descrita acima. Para aplicação em gel as amostras de DNA foram misturadas a 0,2 volume de solução corante FSUDS (azul de bromofenol 0,08% (p/v); SDS 1% (p/v), EDTA $1,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ pH 8,0; Tris-HCl 65 mmol.L^{-1} pH 8,0, Ficoll 400 10% (p/v) e xileno cianol 0,4% (p/v)), e a corrida realizada a 5 V.cm^{-1} de gel por 1-2 horas (SAMBROOK et al., 1989). As bandas foram visualizadas sob luz ultravioleta (312 nm) em transiluminador.

4.9 Energia elétrica por pedido (E_{EO})

Para determinação da energia elétrica por pedido (E_{EO}) foi aplicado a formula da E_{EO} ($\text{kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$) que é dada conforme Bolton (2001):

$$E_{EO} = \frac{P \cdot t \cdot 1000}{V \cdot \lg\left(\frac{c_i}{c_f}\right)}$$

Onde P é a potência nominal (kW), V é o volume (L) da água no reator, t é o tempo (h) necessário para diminuir a concentração do poluente (c_i e c_f) são os valores iniciais e finais das concentrações do poluente, e lg é o símbolo para o logaritmo decádico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por tratar-se de uma aplicação nova e na literatura não apresentar um protocolo padrão para uso em desinfecção, encontrou-se dificuldade na aquisição dos LEDs no país. Por esse motivo houve a necessidade de adquirir os UV-LEDs por importação.

Inicialmente neste estudo, procurou-se estabelecer os melhores tempos e volumes de amostras para aplicação dos métodos de desinfecção. Foram realizados testes com os métodos de desinfecção separados e em conjunto, em uma variação de tempos de 10 a 120 minutos, com volumes de amostra de 100 a 1000 mL e tempos de estufa de 30 a 120 minutos para os testes de FDA.

Todas as amostras eram retiradas da refrigeração e mantidas em temperatura ambiente antes do início das análises, de forma a equalizar as temperaturas em todos os testes realizados.

Para melhores resultados de absorvância nas análises de FDA, seguindo Adam e Duncan (2001), optou-se por um tempo de estufa de 120 minutos (2 horas). O Volume utilizado nas análises foi de 1000 mL, visando preencher todo o reator em busca da otimização do processo. Em tempos muito longos de aplicação da desinfecção, se tornava muito difícil as leituras de absorvância por resultarem em um valor baixo de atividade enzimática. Dessa forma, se padronizou os tempos de 10, 20 e 30 minutos para aplicação dos métodos de desinfecção deste estudo.

5.1 Aplicação Método FDA

Seguindo para aplicação do método FDA (descrito no item 4.2) para leitura de absorvância em cada concentração, igualmente em triplicata, resultou nos dados da tabela 3.

Tabela 3 – Dados de absorvância média e número de UFC média da amostra de água bruta diluída para elaboração da curva padrão.

Diluições Amostra	Absorvância média	UFC média x 10 ⁴
Bruta 80%	0,3642	3,00

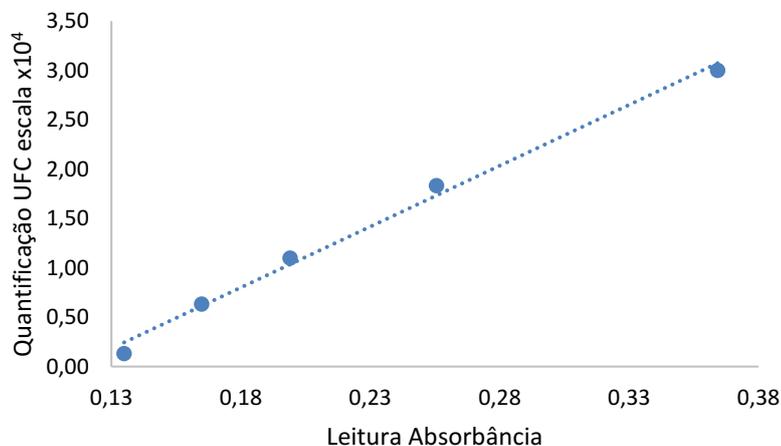
Bruta 60%	0,2555	1,83
Bruta 40%	0,1990	1,10
Bruta 20%	0,1649	0,63
Bruta 10%	0,1349	0,13

Fonte: Autor, 2023.

A hidrólise do FDA (solução incolor) libera fluoresceína com coloração verde podendo ser quantificada por espectrofotometria. A diferença de absorbância obtida por essa análise espectrofotométrica entre amostras foi usada para medir a atividade enzimática da água. Verificando os dados da tabela 2, se evidencia que quanto maior o valor da absorbância obtida, maior a atividade microbiológica na amostra.

Os dados plotados no gráfico 1, vinculados a tabela 2, resultaram na equação da reta $y=12,338x - 1,4199$ e no $R^2=0,9935$, indicando forte interação entre a quantificação de UFC e a leitura da absorbância do método de análise proposto.

Gráfico 1 - Linha de Tendência da relação entre absorbância e o número de UFC.



Fonte: Autor, 2023.

5.2 Aplicação LED UVC

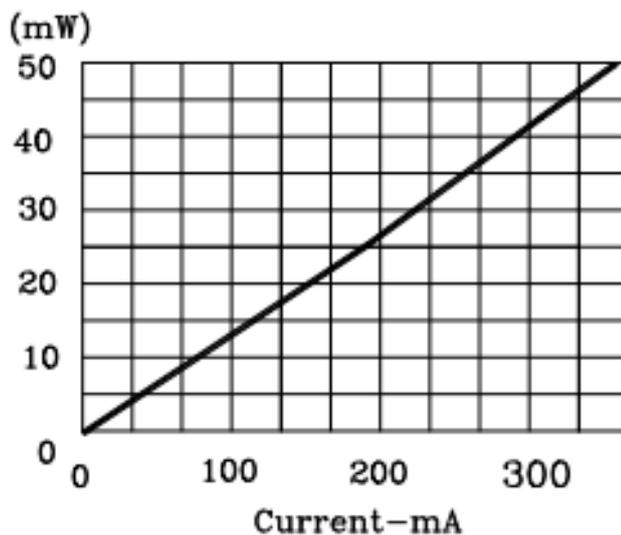
Em 2000, a US Food and Drug Administration aprovou a desinfecção ultravioleta (UV) como um método eficaz que pode inativar a replicação de patógenos e microrganismos deteriorantes em alimentos, água e bebidas. Um processo que não há risco de superdosagens, não gera subprodutos e não tem produtos químicos, sendo assim, uma técnica viável para desinfecção em aplicações de tratamento de água (LI et al., 2019).

Nesta linha de pesquisa em busca de um processo eficaz e com potencial de reprodutibilidade, a aplicação do LED de radiação UVC sozinho na desinfecção das amostras de água foi desenvolvida em volume de um (1) litro em tempos de 40 a 90 minutos. Foram utilizados três (3) LEDs UVC para irradiação, com um comprimento de onda de 275 nm em nosso estudo. De acordo com o estado da arte atual, esses LEDs representam um bom compromisso entre a potência luminosa alcançada e o coeficiente de absorção de ozônio (SCHÄFER, 2022).

A potência radiante dos LEDs (40 mW) foi determinante na escolha dos mesmos e, visando melhor custo benefício, optou-se por LEDs com uma potência mais elevada, se comparado com outros trabalhos.

Os dados obtidos nas medições durante o experimento são corroborados pelo fabricante conforme apresenta a figura 9, que mostra a potência de radiação (em mW) pela corrente (em mA) do LED utilizado nessa pesquisa.

Figura 9 – Comportamento gráfico da potência de radiação x corrente do LED UVC.



Fonte: Para Light, 2022.

Apesar das várias tentativas em diferentes combinações, a aplicação direta individualmente dos LEDs para desinfecção da amostra de água bruta proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto não surtiu efeito conforme apresentado na tabela 4.

Após as análises, esse método de aplicação utilizando apenas a radiação UVC-LED pode ser ignorado por não apresentar qualquer alteração na atividade enzimática e, por

consequência, os valores de UFC não apresentaram diferença estatística significativa. A partir dessa constatação, o sistema LED UVC foi somente aplicado combinado ao ozônio.

Tabela 4 – Resultado da aplicação da radiação UVC-LED em amostra de água proveniente de ETE em diferentes pH. Média das repetições em triplicata.

Parcela	Unidade	Bruta	10 min	20 min	30 min	pH
UFC	x 10 ⁴	2,82	2,84	2,81	2,81	5
UFC	x 10 ⁴	2,91	2,91	2,93	2,90	7
UFC	x 10 ⁴	3,14	3,11	3,14	3,13	9
Eficiência Remoção UFC	%	-	0,0	0,35	0,35	5
Eficiência Remoção UFC	%	-	0,0	0,0	0,34	7
Eficiência Remoção UFC	%	-	0,95	0,0	0,31	9

Fonte: Autor, 2023.

A ineficiência da aplicação direta em nossa configuração, o que é consistente com estudos anteriores como o de Wang et al. (2022), muito provavelmente, está relacionada com a qualidade da amostra de água, volume desejado para tratamento aliado a quantidade pequena de LEDs disponível, que podem afetar diretamente a radiação UV causando seu enfraquecimento por fatores-chave, como turbidez da água ou matéria orgânica dissolvida. O trabalho de Nyangaresi et al., (2019), por exemplo, foi desenvolvido com nove (9) LEDs UVC e um volume de apenas 20 mL de amostra para conseguir uma ótima inativação da bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*), o que em nosso caso não era possível, pois como objetivo deste estudo é a combinação do processo UVC com o ozônio, o volume da amostra precisaria ser maior para efeitos comparativos de eficiência, tendo em vista o ozonizador disponível.

De acordo com Galezzo e Susa (2021), a eficácia da inativação dos LEDs foram relatadas em vários estudos que descobriram ser dependente de vários fatores, incluindo comprimento de onda, tipo de microrganismo, qualidade da água, pH, tempo de exposição a UV, taxa de fluência e condições hidráulicas do sistema. Além disso, Li et al. (2019) corrobora com a ideia que devido às atuais dificuldades técnicas, vários aspectos permanecem pouco desenvolvidos e a maior parte das aplicações UV-LED está no estágio de pesquisa e

desenvolvimento, não há esquemas de medição e descrição padrão que determinam como os UV-LEDs podem atingir o mecanismo de desinfecção.

5.3 Aplicação Ozônio

As atividades de pesquisa sobre o ozônio como desinfetante em tratamentos de água é um assunto muito bem estabelecido no meio acadêmico. Conforme trabalhos como o Preethi et al. (2009) e de Deng e Zhao (2015), o O_3 vem sendo amplamente utilizado nas indústrias de processo em vários níveis para remover poluentes em efluente e é um oxidante forte com alto potencial de oxidação. O ozônio reage com compostos orgânicos presentes no efluente por meio de ataque direto, preferencialmente reage com a forma ionizada e dissociada de compostos orgânicos (reação mais seletiva), ou ataque indireto de radicais livres.

A ozonização é um processo de tratamento promissor, porém, no Brasil, poucas ETAs e ETEs empregam o ozônio em seus processos de tratamento. A principal justificativa são os seus altos custos de produção (FERREIRA FILHO, 2021).

Neste estudo, se buscou investigar a eficácia da aplicação do ozônio e ozônio + UVC-LED na desinfecção de bactérias como polimento final em amostras de água proveniente de uma ETE. Durante todo o processo não houve alteração das doses de ozônio aplicadas, volume e temperatura da amostra, as variáveis analisadas foram o tempo de exposição ao desinfetante (min), o pH e a combinação dos métodos O_3 + UVC-LED. Após vários testes, determinou-se o volume amostral de 1000 mL (1 litro), tempos de aplicação de 10, 20 e 30 minutos, e pH nas faixas de 5, 7 e 9.

Miklos et al. (2018) afirma que o pH da água a ser tratada influencia diretamente na eficiência da ozonização. O que corrobora a ideia que, a decomposição do O_3 sendo diretamente afetada pelo pH da amostra, interfere na formação dos radicais hidroxila que é muito favorecida em pH elevado, enquanto o ozônio molecular permanece como o principal oxidante (ataque direto) em valores de pH baixos (PREETHI et al., 2009).

Para verificar a influência do pH nas amostras estudadas, foram realizados testes nos diferentes níveis propostos. Após aplicação do ozônio, algumas amostras tiveram seu pH corrigido para aplicação do método FDA (6,5 – 7,5). A tabela 5 apresenta o resultado da aplicação descrita acima.

Tabela 5 – Resultado da aplicação de O₃ em amostra de água proveniente de ETE em diferentes pH. Média das repetições em triplicata.

Parcela	Unidade	Bruta	10 min	20 min	30 min	pH
UFC	x 10 ⁴	2,51 ^a	0,26 ^b	0,001 ^c	0,001 ^c	5
UFC	x 10 ⁴	3,07 ^a	0,68 ^b	0,001 ^c	0,001 ^c	7
UFC	x 10 ⁴	3,07 ^a	1,13 ^b	0,001 ^c	0,001 ^c	9
Eficiência Remoção UFC	%	-	89,74 ^A	≥99,9	≥99,9	5
Eficiência Remoção UFC	%	-	77,99 ^B	≥99,9	≥99,9	7
Eficiência Remoção UFC	%	-	63,22 ^C	≥99,9	≥99,9	9

*Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna diferem em 5% pelo método e Dwass Steel Critchlow Fligner - DSCF (p < 0,05).

Fonte: Autor, 2023.

Nota-se que a eficiência do tratamento atinge sua condição ótima a partir de 20 minutos de aplicação independente do pH da amostra, porém, analisando o tratamento em 10 minutos, a eficiência vai diminuindo com o aumento do pH, tendo registrado sua maior eficiência em desinfecção da amostra (89,74%) em pH 5. Esse fato é explicado por Ferreira Filho (2021) que discorre sobre o assunto do favorecimento da presença do ozônio na fase líquida em amostras com valores de pH mais ácidos e próximos da neutralidade, fator esse que influencia a um tempo de contato maior com o meio aquoso provocando maior inativação de microrganismos. Essa informação é muito importante e está ligada diretamente a nosso estudo que busca a utilização do ozônio molecular como desinfetante, uma vez que, a velocidade da reação direta (mais seletiva) é mais lenta que a reação indireta e vai proporcionar maior tempo de concentração do O₃ na fase líquida, retardando o processo de decomposição do ozônio e obtendo maior eficiência na desinfecção (GOGATE & PANDITA, 2004). Outros estudos corroboram essa informação, como é o caso do estudo de Khadre et al. (2001) que afirma que a inativação de microrganismos ocorre principalmente por meio da reação com o ozônio molecular quando o pH é baixo, e o estudo de Jung et al. (2017) que determina que o valor de concentração do desinfetante x tempo de contato (Ct) afeta diretamente a eficiência no processo de desinfecção uma vez que, se a degradação do ozônio for muito rápida, a concentração de ozônio no meio será sempre baixa.

Já para aplicações que buscam utilizar o ozônio como agente oxidante, a formação de radicais livres ($\text{OH}\cdot$) é desejada por ter um poder de oxidação muito maior que o ozônio molecular, o que é muito utilizado em oxidação de determinadas classes de compostos orgânicos sintéticos e naturais. Nesses casos o pH elevado favorece esse processo (MIKLOS et al., 2018; FERREIRA FILHO, 2021).

A determinação da E_{EO} é uma importante ferramenta para analisar a quantidade de energia elétrica (kWh) consumida para redução desejada da concentração do poluente da água contaminada. Para essa aplicação a variação da E_{EO} nas configurações utilizadas sofreu influência direta da maior carga elétrica, o ozonizador (43,8 W) e das reduções de UFC durante o tempo do processo. Comparando a E_{EO} nas diferentes eficiências obtidas no menor tempo de aplicação (10min), se pode analisar o efeito do pH no consumo de energia do método de desinfecção. Desse modo, observa-se em pH 5 o menor valor de $E_{EO \text{ pH}5} = 7,41 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$, $E_{EO \text{ pH}7} = 11,26 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$ frente ao maior valor encontrado de $E_{EO \text{ pH}9} = 16,82 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$ registrando a mais baixa redução de UFC (pH 9), que foi aproximadamente 2,3 vezes mais elevada. Nesse caso, em situações com efluentes alcalinos, a alteração de pH se tornaria muito interessante para melhorar a eficiência na desinfecção e o consumo de energia elétrica.

5.4 Combinação O_3 + UVC LED

Diferente da tecnologia de aplicação do ozônio como desinfetante, que já está muito bem estabelecida, a aplicação em desinfecção de diodos emissores de luz (LED) de radiação UV é uma tecnologia recente e vem despertando interesse em várias partes do mundo no campo de pesquisa e desenvolvimento (LI et al., 2019).

O desenvolvimento de novas e eficazes tecnologias de tratamento de água é de extrema importância para a saúde humana e a desinfecção fotocatalítica está entre as emergentes e tem chamado muita atenção na inativação de bactérias, protozoários, vírus, fungos e algas, bem como na degradação de poluentes químicos (NYANGARESI et al., 2019).

Algumas pesquisas fazem análise da aplicação dessa tecnologia UV-LED para remoção de contaminantes específicos, como é o caso das pesquisas de Nyangaresi et al., (2019), Kim et al., (2020) e Wang et al., (2022) que apresentam bons resultados, melhorando a qualidade da água analisada. Segundo Schoenell et al. (2022), a combinação de ozonização com um

sistema de oxidação fotocatalítica, em comparação a aplicação direta do ozônio, pode aumentar muito a taxa de degradação, dependendo do poluente e da fonte de radiação.

Indo ao encontro com a ideia que a aplicação de processos oxidativos avançados (POAs), como por exemplo o processo de fotólise $O_3 + UV$, podem produzir vários tipos de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o radical hidroxila, radicais superóxidos e oxigênio simples para decompor e mineralizar contaminantes em águas residuais (WANG et al., 2022).

Um dos principais objetivos dessa pesquisa é analisar se a radiação UVC-LED é um método adequado para melhorar a reação de desinfecção da amostra no processo combinado $O_3 + UVC-LED$ através de sua capacidade de poder inibir a transcrição e replicação de genes das células. A escolha do comprimento de onda UVC (275 nm) é resultado de pesquisas que demonstram que essa faixa de radiação fornece geralmente sobreposições significativamente melhores entre os espectros de emissão e absorção UV (SCHOENELL et al., 2022).

Assim como feito com a aplicação direta do ozônio, no processo combinado $O_3 + UVC-LED$, igualmente foi observado a influência do pH nas amostras para efeitos comparativo e para reprodutibilidade dos resultados.

Após aplicação do processo combinado, algumas amostras tiveram seu pH corrigido, assim como ocorreu com a aplicação direta do ozônio. A tabela 6 apresenta os resultados dessa aplicação, e o que se percebe inicialmente é que, similar a aplicação do O_3 , o tratamento combinado atinge sua condição ótima a partir de 20 minutos de aplicação independente do pH da amostra. Porém, diferente da aplicação direta do ozônio no tempo de 10 minutos, em que a eficiência observada na redução do número de UFC foi diminuindo gradualmente com o aumento do pH, na aplicação combinada a eficiência em pH 7 e em pH 9 é estatisticamente a mesma (83,29% e 84,47% respectivamente), inclusive tendo uma melhora considerável na redução do número de UFC (aproximadamente 21% mais eficiente) em pH 9 quando comparado à aplicação do O_3 (63,22%).

Tabela 6 - Resultado da aplicação de $O_3 + UVC-LED$ em amostra de água proveniente de ETE em diferentes pH. Média das repetições em triplicata.

Parcela	Unidade	Bruta	10 min	20 min	30 min	pH
UFC	$\times 10^4$	3,68 ^a	0,24 ^b	0,001 ^c	0,001 ^c	5
UFC	$\times 10^4$	3,35 ^a	0,56 ^b	0,001 ^c	0,001 ^c	7
UFC	$\times 10^4$	3,72 ^a	0,58 ^b	0,001 ^c	0,001 ^c	9

Eficiência	%	-	93,54 ^A	≥99,9	≥99,9	5
Remoção UFC						
Eficiência	%	-	83,29 ^B	≥99,9	≥99,9	7
Remoção UFC						
Eficiência	%	-	84,47 ^B	≥99,9	≥99,9	9
Remoção UFC						

*Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna diferem em 5% pelo método e Dwass Steel Critchlow Fligner - DSCF ($p < 0,05$).

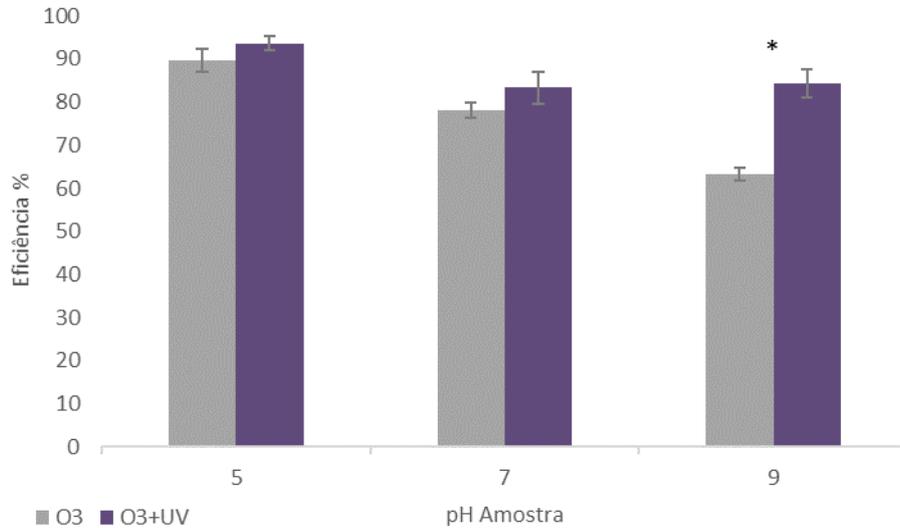
Fonte: Autor, 2023.

Na configuração desse processo combinado ($O_3 + UVC-LED$) a potência elétrica ativa passa ser de 52,68 W, fruto da adição da placa de LEDs (8,88 W) somados ao ozonizador (43,8 W). Portanto, determinar a quantidade de energia elétrica consumida para obtenção da diminuição do poluente desejado, faz-se necessário. Como, no tempo 10 min, o pH 5 se mostrou novamente o mais eficiente na desinfecção das amostras, o consumo de energia elétrica por pedido acompanhou a resposta de eficiência onde, em ordem decrescente, restou que $pH\ 5 > pH\ 7 = pH\ 9$. Trazendo a informação em números, o valor encontrado em pH 5 foi de $E_{EO\ pH5} = 7,40\ kWh.m^{-3}.order^{-1}$, seguido de $E_{EO\ pH9} = 10,87\ kWh.m^{-3}.order^{-1}$ e $E_{EO\ pH7} = 11,19\ kWh.m^{-3}.order^{-1}$, sendo que, comparando os métodos de desinfecção estudados neste trabalho, o consumo de energia elétrica é mais vantajoso no processo combinado, alcançando melhores índices de desinfecção com menores gastos de energia.

A influência do pH da amostra e do tempo de aplicação do método foram determinantes na eficiência no processo de desinfecção, conforme gráfico 2, o pH mais ácido (pH 5) em processo combinado foi o que conseguiu atingir a eficiência de >90% em menor tempo de processo (10 min), enquanto os pHs neutro e alcalino (pH 7 e pH 9) conseguiram atingir essa eficiência somente a partir do tempo de 20 min.

Outro fato importante constatado é que, em ambas configurações dos métodos de desinfecção, o pH 5 demonstrou ser mais eficiente, contudo, foi em pH alcalino que observou-se a maior diferença entre os tratamentos. Isso nos remete a acreditar que, além da formação do radical OH, a aplicação do UV-LED também está otimizando o ataque da radiação UVC, possivelmente por induzir expressivas lesões mutagênicas no DNA dos microrganismos. Resultados semelhantes são encontrados nas pesquisas de Miklos et al. (2018) e Schoenell et al. (2022).

Gráfico 2 - Comparação dos métodos em relação a eficiência de desinfecção x pH da amostra (tempo 10min).



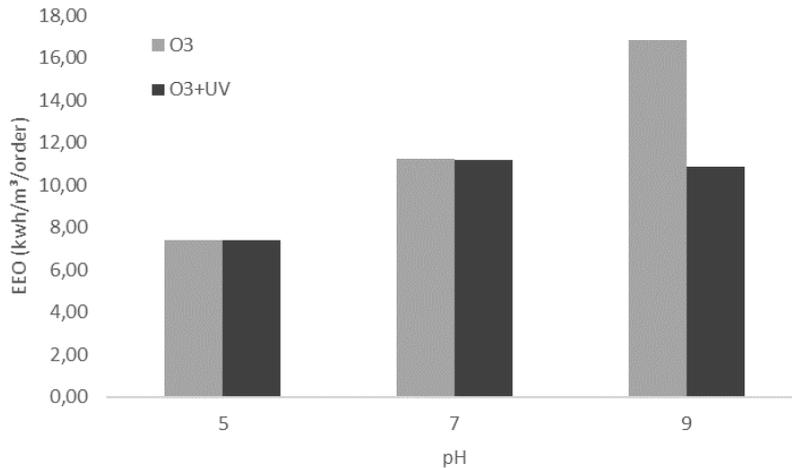
*Diferença estatisticamente significativa
 Fonte: Autor, 2023.

A aplicação do método combinado apresentou uma melhora evidente e expressiva em pH 9, onde a redução do número de colônias UFC foi 21% mais eficiente do que na aplicação do O₃ diretamente sozinho. Podemos igualmente afirmar que, em todos os pH, houve uma melhora na desinfecção quando o processo combinado foi aplicado, apesar de, estatisticamente apenas em pH 9 ter apresentado diferença significativa entre os tratamentos, é notório que, mesmo discretamente, houve diferença no número de colônias bacterianas formadas em todas as configurações em tempo 10 min.

A determinação da demanda do consumo de energia elétrica por pedido E_{EO} , foi essencial para avaliar e auxiliar na escolha do melhor método de desinfecção no estudo proposto. Visando sempre o menor consumo de energia para atingir os melhores índices de desinfecção, o gráfico 3 apresenta as informações da E_{EO} obtidas para cada configuração de tratamento nos diferentes pH.

O tempo de aplicação é determinante para a eficiência energética do processo de desinfecção e para efeito de comparação e reprodutibilidade dos estudos, analisou-se o consumo de energia elétrica de todas as configurações em tempo de 10 minutos.

Gráfico 3 - E_{EO} de cada tratamento nos diferentes pH em tempo 10 min.



Fonte: Autor, 2023.

Nota-se que o processo combinado dos tratamentos foi sempre igual ou mais eficiente no consumo de energia e, levando em conta que a aplicação deste sempre apresentou resultados melhores na desinfecção da amostra, se pode concluir que dentre os métodos analisados neste estudo, a aplicação combinada O₃ + UVC-LED seria o método mais indicado para desinfecção do efluente em nossa configuração em tempo 10 min.

Apesar do efluente analisado apresentar pH naturalmente neutro, em situações de tratamentos em que o pH da água é alcalino ou ácido, igualmente a aplicação do método de desinfecção combinado se apresenta como uma solução possível e com consumo energético menor, se comparado com a aplicação do ozônio sozinho.

5.5 Eletroforese: Resposta dos tratamentos sobre o plasmídeo bacteriano

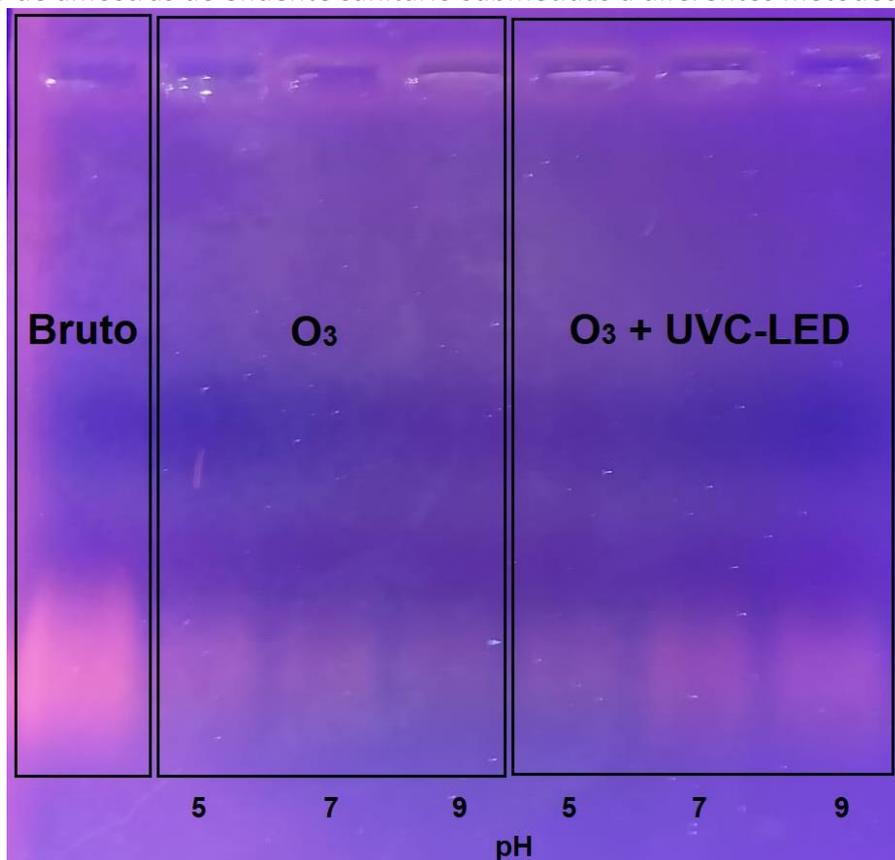
A transferência gênica entre bactérias ocorre através da passagem de material genético para indivíduos da mesma espécie, de espécies diferentes e até mesmo de gêneros diferentes (BENNETT, 2008). Nesse mecanismo os plasmídeos tem papel importante, através do processo de conjugação (SOMENSI et al., 2015). O ambiente poluído por efluentes sanitários pode ser favorável à manifestação desses plasmídeos, propiciando troca de material genético entre as bactérias devido à grande presença de matéria orgânica (DODD, 2012).

Ambos os tratamentos propostos neste trabalho podem levar a ruptura celular e possivelmente a liberação dos plasmídeos, os quais, segundo Somensi et al. (2015), podem carregar genes passíveis de transmitirem a informação genética com relação à sobrevivência

dos microrganismos. Sendo assim, a percepção da degradação do material genético (nuclear ou dos plasmídeos) foi efetuada na intenção de verificar se os tratamentos propostos influenciam esse processo de degradação plasmídica.

Realizou-se então, a análise do efeito dos tratamentos sobre a integridade do material genético com possíveis genes de resistência existentes na amostra do efluente bruto e após 30 minutos de aplicação dos métodos de desinfecção, conforme apresentado na figura 10.

Figura 10 – Eletroforese em gel de agarose 0,8 % de amostras de plasmídeos extraídos a partir de amostras de efluente sanitário submetidas a diferentes métodos de desinfecção.



Fonte: Autor, 2023.

Em todas as condições testadas, é clara a diminuição de células viáveis após o tempo (30 min) de tratamento em comparação com o efluente bruto. Dessa forma, pode-se afirmar que todos os métodos e condições de desinfecção analisados apresentaram sinergia positiva na degradação de DNA plasmídico, possivelmente devido a elevação na concentração de radicais (SOMENSI et al., 2015).

Assim como a aplicação do UVC-LED para desinfecção de efluente sanitário, a análise de plasmídeo bacteriano em processo combinado com UV-LED, é um trabalho inovador que demonstra um campo promissor para o desenvolvimento de novos estudos.

Vale aqui ressaltar que, mesmo que o processo de desinfecção tenha atingido o ponto ótimo de eficiência (>99,9%) em 30 minutos em todas as configurações analisadas, percebe-se que, mesmo apresentando diminuição, ainda é presente o DNA plasmídico na análise de eletroforese apresentada na figura 10. Isso mostra que a desinfecção não está diretamente ligada a degradação de material genético, porém, os processos aqui apresentados demonstraram resultados promissores nessa degradação, diferentemente do cloro. Segundo Dodd (2012), a cloração não é um bom processo quando se busca a degradação de material genético e, através dos dados disponíveis sobre a degradação de DNA extracelular e intracelular por cloro, o autor relata que, provavelmente somente será alcançável níveis mensuráveis de degradação de plasmídeo bacteriano por meio da cloração com concentrações dez vezes (10x) superiores daquelas comumente aplicadas nos tratamentos. O que leva a outras preocupações relacionadas à qualidade do corpo receptor como, a quantidade de cloro residual lançado e a formação excessiva de subprodutos.

5.6 Conclusão

Recentemente, fontes de luz ultravioleta (LED) foram investigadas para fins de desinfecção para se tornarem uma fonte viável na substituição às lâmpadas de mercúrio (SONG et al., 2016). Seguindo a ideia desse contexto, por meio da análise da aplicação do ozônio sozinho e combinado com radiação UVC-LED, foi possível avaliar a eficiência desses processos na desinfecção de amostra proveniente do sistema de tratamento de esgoto sanitário (ETE) com reator UASB, através da determinação e quantificação de unidade formadora de colônia (UFC) estabelecida pela curva padrão.

Em nossa avaliação o melhor tratamento em tempo 10 minutos foi o processo combinado em pH 5, em ordem de eficiência na desinfecção: $(O_3 + UVC-LED)_{pH5} > O_{3pH5} > (O_3 + UVC-LED)_{pH9} > (O_3 + UVC-LED)_{pH7} > O_{3pH7} > O_{3pH9}$. Tendo apresentado maior diferença entre a aplicação do ozônio sozinho ao processo combinado em pH 9. Todavia, na análise de consumo de energia elétrica por pedido E_{EO} em 10 minutos de processo, a ordem de eficiência

resultou em: $(O_3 + \text{UVC-LED})_{\text{pH5}} = O_{3\text{pH5}} > (O_3 + \text{UVC-LED})_{\text{pH9}} > (O_3 + \text{UVC-LED})_{\text{pH7}} = O_{3\text{pH7}} > O_{3\text{pH9}}$.

O processo combinado ($O_3 + \text{UVC-LED}$) demonstra ser indicado para processos de desinfecção de efluentes sanitários, até mesmo por apresentar (ainda que discreta) uma eficiência maior na inativação de bactérias com o mesmo consumo de energia elétrica por pedido que a desinfecção por ozônio sozinho. Porém, levando em consideração todas as informações apresentadas somadas ao fato de o efluente analisado apresentar normalmente pH neutro, sugere-se que, tendo a empresa interesse em replicar este trabalho para escala real, maiores estudos e análises, para complementação deste trabalho, sejam desenvolvidos para determinar a quantificação das lâmpadas de LED UVC e do consumo do O_3 , objetivando o desenvolvimento de um sistema de desinfecção com menor tempo e consumo de ozônio e de energia elétrica. E a partir disso, realizar análises constantes com o intuito de verificar a possibilidade de alteração do pH do efluente para alcançar uma maior eficiência em menor tempo de processo avaliando o melhor custo benefício. Chama-se atenção também para o fato que, os processos analisados neste estudo, se mostram mais eficientes que a cloração, hoje empregada na planta de tratamento usada como referência neste trabalho, conforme os resultados de eficiência de remoção de *E.coli* da tabela 1.

Ademais, é importante frisar que, conforme a figura 10, todos os tratamentos apresentaram poder de degradação de plasmídeos bacterianos carecendo de estudos mais aprofundados nessa questão, até mesmo com a quantificação dessa degradação para cada configuração utilizada. Portanto, é evidente que para cada aplicação deve-se avaliar os objetivos a se alcançar com o método de desinfecção desejado, uma vez que, segundo Somensi et al. (2015), desinfecção não é sinônimo de degradação de material genético.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gerenciamento e o controle da contaminação dos efluentes sanitários é uma questão importante no âmbito mundial, mas para maioria dos países em desenvolvimento e áreas rurais, onde milhões de pessoas não têm acesso a uma fonte segura de água potável e estão expostas todos os dias a doenças transmitidas pelo meio hídrico, o desenvolvimento de tecnologias eficientes, especialmente para inativação de microrganismos patogênicos, é de suma importância (SONG et al., 2016).

No Brasil, conforme dados da Funasa (2000), a presença de patologias como a cólera, febre tifóide e leptospirose, interligadas à escassez de acesso a saneamento básico, refletem a história de uma política de saneamento vinculada ao desenvolvimento institucional do Estado, à economia, ao modo de produção, ao desenvolvimento tecnológico e à distribuição de renda.

A preocupação com a desinfecção dos efluentes lançados nos diversos corpos hídricos receptores tem aumentado no Brasil e na maioria dos casos em que já há um processo de desinfecção, produtos a base de cloro são os mais utilizados. Estudos enumeram diversas limitações no processo de cloração e, aliado a parâmetros de análises ainda mais restritivos para emissão de efluentes, tem-se buscado novas tecnologias alternativas para desinfecção de águas. Para desinfecção de esgoto sanitário a ozonização e processos combinados com ozônio, aparecem como métodos promissores (SILVA & DANIEL, 2015).

O processo de fotólise (UV/O₃) é considerado uma técnica POA igualmente promissora para tratamento de água potável e efluentes. As lâmpadas UV de mercúrio são a principal fonte de radiação UV e geralmente são eficazes em estações de tratamento. No entanto, as desvantagens, como desperdício de energia, longo tempo de pré-aquecimento e possível contaminação por mercúrio, restringem sua aplicação (WANG et al., 2022). No tocante a contaminação, a Convenção de Minamata/2013 sobre o mercúrio, propôs interromper gradualmente o uso desse elemento em certos produtos e processos, restringindo seu comércio para preservar a humanidade e a saúde ambiental.

Esse pacto foi aprovado pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e ratificado no Brasil pelo decreto Nº 9.470/2018, estabelecendo que fontes alternativas precisarão ser utilizadas para eliminação do mercúrio, o qual está proibido a manufatura, importação ou exportação desde o ano de 2020 (KIM e KANG, 2021).

Nos últimos anos, um novo método foi desenvolvido para gerar luz UV, os diodos emissores de luz UV (UV-LEDs) e recentes estudos comprovam a eficácia de alguns comprimentos de onda como um método ideal e que podem funcionar efetivamente para desinfecção bacteriana (SCHÄFER, 2022). Como o DNA bacteriano absorve principalmente a radiação UV de 200 a 300 nm, os UVC-LEDs tem demonstrado que são mais eficientes para a inativação de microrganismos. Além disso, esse comprimento de onda pode ajudar a danificar as enzimas de reparo e impedir o reparo do DNA, já que o espectro de absorção da proteína tem um pico em torno de 280 nm (SONG et al., 2016).

Neste estudo buscamos avaliar e unir esses dois processos (O_3 e radiação UV-LED), na esperança de melhorar a eficiência de ambos na combinação de seus efeitos desinfetante, pois assim como relata Farkas et al. (2018), técnicas de desinfecção combinadas e baseadas em emissão de luz podem ser usadas com sucesso no processo de pós-tratamento quando o objetivo é a decomposição de compostos orgânicos que não podem ser eliminados facilmente por processos biológicos.

Por ser uma tecnologia em desenvolvimento, a desinfecção por UVC-LED vem abrindo vários caminhos para área da pesquisa e colhendo bons resultados em desinfecção de água.

No desenvolvimento dessa pesquisa conseguimos comparar os métodos através das variáveis tempo de aplicação e pH da amostra, além da combinação dos processos de desinfecção, alvo deste trabalho.

Acabou-se por ignorar os efeitos da aplicação solitária do UVC-LED por não apresentar modificações significativas na desinfecção da amostra no processo e configuração do reator proposto. A esse fato se pode atribuir a influência direta na qualidade da amostra como um dos fatores, pois, a desinfecção por UV depende da qualidade das águas residuais a serem tratadas. Os sólidos suspensos e as gorduras superficiais, óleos e compostos coloridos reduzem a intensidade de radiação recebida por microrganismos (RIZVI et al., 2013).

Em primeiro momento, o O_3 sozinho desempenhou bem o processo de desinfecção da nossa amostra, porém, à medida que variamos o pH no tempo de 10 min, se percebeu que a eficiência do tratamento diminui tanto quanto aumentava-se o pH da amostra. A isso foi

atribuído o fato que, em pH alcalino, há uma forte tendência de acelerar o processo de decomposição do O_3 favorecendo a formação dos radicais hidroxila, que são menos seletivos, diminuindo o tempo de contato e concentração do ozônio no meio aquoso.

Em busca de melhores resultados em nossa análise de UFC, foi elaborado a combinação dos processos O_3 + UVC-LED, e os resultados evidenciaram uma melhora significativa estatisticamente na eficiência de desinfecção quando a amostra foi tratada em pH alcalino (>21%), apresentando igualmente resultados melhores em pH neutro e ácido, porém com diferença mais discreta entre os tratamentos (>3% e >5%) em pH 5 e pH7 respectivamente. A resposta do consumo de energia elétrica por pedido (E_{EO}) acompanhou de maneira similar o resultado da eficiência em desinfecção, onde a maior diferença em gastos energéticos dos processos se deu em pH 9.

Ao fato da diferença entre a eficiência dos processos O_3 e O_3 + UVC-LED em pH alcalino (pH 9), atribui-se a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) otimizando a oxidação de várias formas de poluentes e alta efetividade da radiação do comprimento de onda UVC possivelmente causando lesões mutagênicas no DNA dos microrganismos. Segundo Song et al. (2016) a radiação UVC tem efeitos germicidas diretos agindo no DNA dos microrganismos diretamente, formando dímeros de pirimidina e impedindo a reprodução destes sem etapas intermediárias.

Ainda segundo Wang et al. (2022), com a combinação desses processos, acredita-se que a taxa de decomposição do O_3 pode ser aumentada pela radiação UV, acelerando a produção de grandes quantidades de radicais livres e promover a eficiência de degradação.

Essa informação é importante quando se busca utilizar esses processos de desinfecção no pós-tratamento de água residuárias com pH alcalino ou levemente alcalino, combinado a situações onde o tratamento preliminar não elimina todos os poluentes, principalmente quando esses compostos persistentes são substâncias tóxicas, cancerígenas ou desreguladoras do sistema endócrino (FARKAS et al., 2018).

Nesse tipo de situação a formação dos radicais OH é desejada, e é favorecida pelo tratamento combinado O_3 + UVC-LED, aperfeiçoando a eficiência da desinfecção.

Assim, de acordo com Ferreira Filho (2021) quando o objetivo é especialmente na oxidação de determinadas classes de compostos orgânicos sintéticos e naturais, é importante que sejam favorecidas as reações ditas indiretas, ou seja, reações onde se predomina a formação dos radicais hidroxila.

Nos resultados da análise de eletroforese, todos os processos de desinfecção também apresentaram sinergia positiva na degradação de DNA plasmídico, notadamente, através da diminuição de células viáveis após o tempo (30 min) de tratamento.

A eficiência dos distintos processos para desinfecção de microrganismos e desnaturação de plasmídeo bacteriano é um fator importante a ser analisado na percepção de quais métodos (individualmente ou em combinação), nos diferentes pH, podem fornecer tratamento eficaz a um custo aceitável para determinada aplicação. Nesse caso, pode-se tanto trabalhar com os processos de desinfecção no pH natural da água avaliada ou até mesmo promover investimento na modificação do pH, buscando o ponto de maior eficiência do método proposto, tornando o investimento de todo processo viável economicamente.

Claro que, para cada processo de tratamento, deve-se realizar estudos detalhados com amostras próprias para determinar o melhor método, mas a aplicação do O₃ + UVC-LED mostra um ambiente fértil e promissor para o desenvolvimento de novas pesquisas. Além do mais, Song et al. (2016) alerta que, muitos dados incomparáveis e inconsistentes foram publicados em alguns estudos, isso reforça a importância de se estabelecer um protocolo padrão para a inativação de microrganismos por UV-LED. Esses fatos mostram que, para uma melhor compreensão da resposta de desinfecção UV-LED aos diversos microrganismos, há a necessidade de maior investigação em diferentes sensibilidades UV para LEDs e lâmpadas tradicionais em processos combinados com ozônio.

7 REFERÊNCIAS

ADAM, G.; DUNCAN, H. **Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils.** *Soil Biology & Biochemistry*, vol. 33, p. 943-951, 2001.

ASSIRATI, DORALICE MELONI. **Desinfecção de efluentes de ETE com ozônio para uso agrícola.** Dissertação (Mestrado), Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Departamento de Saneamento e Ambiente, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 152 p., 2005.

AUGUSTO, FABIO. **Sub-produtos de desinfecção de águas potáveis: antigos e novos desafios.** *Scientia Chromatographica*, vol.2, p. 59-69, 2010.

AKRAM A.C.; NOMAN S.; MONIRI-JAVID R.; GIZICKI J.P.; REED E.A.; SINGHS.B.; BASU A.S.; BANNO F.; FUJIMOTO M.; RAM J.L. **Development of an automated ballast water treatment verification system utilizing fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of treatment efficacy.** *Water Research*, vol. 70, p. 404-413, 2015.

BENNETT, P.M. **Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria.** *British Journal of Pharmacology*, vol. 153, p. 347-357, 2008.

BIRNBOIM, H. C; DOLY, J. **A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA.** *Nucleic Acids Research*, vol. 7, n. 6, p. 1513–1523, 1979.

BOLTON, JAMES R., BIRCHER, KEITH G., TUMAS, WILLIAM AND TOLMAN, CHADWICK A.. **Figures-of-merit for the technical development and application of advanced oxidation technologies for both electric- and solar-driven systems (IUPAC Technical Report).** *Pure and Applied Chemistry*, vol. 73, n. 4, p. 627-637, 2001.

BEATTIE, R. E.; SKWOR, T.; HRISTOVA, K. R. **Survivor microbial populations in post-chlorinated wastewater are strongly associated with untreated hospital sewage and include ceftazidime and meropenem resistant populations.** *Science of the Total Environment*, vol. 740, 2020.

CAMBOIM, LAÉRCIO FERRO; NASCIMENTO, FABIANO ALMEIDA; CALVACANTI, LUIZ ANTÔNIO PIMENTEL. **Construção de um protótipo gerador de ozônio de baixo custo.** *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, vol. 8, n. 1, p. 171- 187, 2019.

CAMEL, V. BERMOND, A. **The use of ozone and associated oxidation processes in drinking water treatment.** *Water Research*, vol. 32, ed. 11, p. 3208-3222, 1998.

CLARKE, JOANNE M.; GILLINGS, MICHAEL R.; ALTAVILLA, NANDA; BEATTIE, ANDREW J. **Potential problems with fluorescein diacetate assays of cell viability when testing natural**

products for antimicrobial activity. Journal of Microbiological Methods, vol. 46, n. 3, p. 261-267, 2001.

CLESCERL, LENORE S.; GREENBERG, ARNOLD E.; EATON, ANDREW D.. **Standard Methods for the examination of water and wastewater.** American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, ed. 20, Washington, 1999.

COSTA, HERLANE DOS SANTOS. **Estudo do comportamento do processo de ozonização como pós-tratamento anaeróbio de águas residuárias domiciliares.** Tese (Doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

COSTA, KARINE A. D.; FERENZ, MARIANE; SILVEIRA, SHEILA; MILLEZI, ALESSANDRA. **Formação de biofilmes bacterianos em diferentes superfícies de indústrias de alimentos.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, vol. 71, n. 2, p. 75-82, Juiz de Fora, 2016.

DANESHVAR, N.; ALEBOYEH, A.; KHATAEE, A.R. **The evaluation of electrical energy per order (EEo) for photooxidative decolorization of four textile dye solutions by the kinetic model.** Chemosphere, vol. 59, ed. 6, p. 761-767, 2005.

DENG, Y.; ZHAO, R. **Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment.** Current Pollution Reports, vol. 1, ed. 3, p. 167–176, 2015

DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. de O.; BALDANI, V.L.D. **Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 38p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 110).

DODD, M. C. **Potential impacts of disinfection processes on elimination and deactivation of antibiotic resistance genes during water and wastewater treatment.** Journal of Environmental Monitoring, vol. 14, 1754-1771, 2012.

FARKAS, JÁNOS; NÁFRÁDI, MÁTÉ; HLOGYIK, TAMÁS; PRAVDA, BARTUS CORA; SCHRANTZ, KRISZTINA; HERNÁDI, KLARA; ALAPI, TÜNDE. **Comparison of advanced oxidation processes in the decomposition of diuron and monuron – efficiency, intermediates, electrical energy per order and the effect of various matrices.** Environmental Science: Water Research & Technology, vol. 4, p. 1345–1360, 2018.

FERREIRA FILHO, SIDNEY SECKLER. **Princípios, fundamentos e processos em engenharia ambiental.** ed. 1, Santana de Parnaíba (SP): SGuerra Design, 938p., 2021.

FUNASA. **Sistema de informações hospitalares fonte complementar na vigilância e monitoramento das doenças de veiculação hídrica.** Informe Epidemiológico do SUS, Brasil, 2000.

GALEZZO, MARÍA-ANGÉLICA; SUSAN, MANUEL RODRÍGUEZ. **Effect of single and combined exposures to UV-C and UV-A LEDs on the inactivation of Klebsiella pneumoniae and**

Escherichia coli in water disinfection. Journal of Water, Sanitation, and Hygiene for Development, vol. 11, ed. 6, p. 1071-1082, 2021.

GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. **A review of imperative technologies for wastewater treatment II: Hybrid methods.** Advances in Environmental Research, vol. 8, ed. (3–4), p. 553–597, 2004.

GONÇALVES, RICARDO. **Desinfecção de efluentes sanitários.** ABES, RiMa, Projeto PROSAB, p. 169-207, 2003.

JACOBI, PEDRO ROBERTO; FRACALANZA, ANA PAULA; SILVA-SÁNCHEZ, SOLANGE. **Governança da água e inovação na política de recuperação de recursos hídricos na cidade de São Paulo.** Cadernos Metrôpole, vol. 17, n. 33, p. 61–81, 2015.

JARMEY-SWAN, CLAIRE; GIBBS, R. A.; HO, G. E.; BAILEY, I. W.; HOWGRAVE-GRAHAM, A. **A novel method for detection of viable Giardia cysts in water samples.** Water Research, vol. 34, p. 1948-19511, 2000.

JUNG, YOUMI; HONG, EUNKYUNG; KWON, MINHWAN; KANG, JOON-WUN. **A kinetic study of ozone decay and bromine formation in saltwater ozonation: Effect of O₃ dose, salinity, pH, and temperature.** Chemical Engineering Journal, vol. 312, p. 30-38, 2017

KEEN, OLYA; BOLTON, JAMES; LITTER, MARTA; BIRCHER, KEITH; OPPENLÄNDER, THOMAS. **Standard reporting of Electrical Energy per Order (EEO) for UV/H₂O₂ reactors (IUPAC Technical Report).** Pure and Applied Chemistry, vol. 90, n. 9, p. 1487-1499, 2018.

KHADRE, M.A.; YOUSEF, A.E.; KIM, J.-G. **Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review.** Journal of Food Science, vol. 66, p. 1242-1252, 2001.

KIM, DO-KYUN; KANG, DONG-HYUN. **Investigation of a new UVC LEDs array continuous type water disinfection system for inactivating Escherichia coli O157:H7 according to flow rate and electrical energy efficiency analysis.** Food Control, vol. 119, 2021.

KIM, TAE-KYOUNG; KIM, TAEYEON; PARK, HYOIN; LEE, INHYE; JO, AREUM; CHOI, KYUNGHO; ZOH, KYUNG-DUK. **Degradation of ciprofloxacin and inactivation of ciprofloxacin resistant E. faecium during UV-LED (275 nm)/chlorine process.** Chemical Engineering Journal, vol. 394, 2020.

LI, GUO-QIANG; WANG, WEN-LONG; HUO, ZHENG-YANG; LU, YUN; HU, HONG-YING. **Comparison of UV-LED and low pressure UV for water disinfection: Photoreactivation and dark repair of Escherichia coli.** Water research, vol. 126, p. 134-143, 2017.

LI, X.; CAI, M.; WANG, L.; NIU, F.; YANG, D.; ZHANG, G. **Evaluation survey of microbial disinfection methods in UV-LED water treatment systems.** Science of The Total Environment, vol. 659, p. 1415-1427, 2019.

MAHMOUD, AMIRA; FREIRE, RENATO S. **Métodos emergentes para aumentar a eficiência do ozônio no tratamento de águas contaminadas.** Química Nova, vol. 30, n. 1, p. 198-205, São Paulo, 2007.

MIKLOS, D. B.; REMY, C.; JEKEL, M.; LINDEN, K. G.; DREWES, J. E.; HÜBNER, U. **Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review.** Water Research, vol. 139, p. 118-131, 2018.

NYANGARESI, PAUL ONKUNDI; QIN, YI; CHEN, GUOLONG; ZHANG, BAOPING; LU, YINGHUA; SHEN, LIANG. **Comparison of UV-LED photolytic and UV-LED/TiO₂ photocatalytic disinfection for Escherichia coli in water.** Catalysis Today, vol. 335, p. 200-207, 2019.

PARA LIGHT. Datasheet. Disponível em: <<https://www.paralightusa.com/product/lt5050uvc-xpc/>>. Acessado em: 11 nov. 2022.

PREETHI, V.; PARAMA KALYANI; K. S.; IYAPPAN, K.; SRINIVASAKANNAN, C.; BALASUBRAMANIAM, N.; VEDARAMAN, N. **Ozonation of tannery effluent for removal of cod and color.** Journal of Hazardous Materials, vol. 166, ed. 1, p. 150–154, 2009.

RIZVI, H.; AHMAD, N.; YASAR, A.; BUKHARI, K.T.; KHAN, H. **Disinfection of UASB-Treated Municipal Wastewater by H₂O₂, UV, Ozone, PAA, H₂O₂ /Sunlight, and Advanced Oxidation Processes: Regrowth Potential of Pathogens.** Polish Journal of Environmental Studies, vol. 22, ed. 4, p. 1153-1161, 2013.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning a laboratory manual.** New-york: Cold Spring Harbor, ed. 2, 1989.

SANTOS DE PAULA, K. J.; MILQUIADES IRRAZABAL URRUCHI, W.; DE SOUZA FREIRE, M. H. **Determinação da concentração de ozônio em diferentes tipos de soluções aquosas para uso na prática clínica.** Global Academic Nursing Journal, vol. 2, n. 1, p. 64, 2021.

SCHÄFER, S.H.; VAN DYK, K.; WARMER, J.; SCHMIDT, T.C.; KAUL, P. **A New Setup for the Measurement of Total Organic Carbon in Ultrapure Water Systems.** Sensors, vol.22, ed. 5, 2022.

SCHOENELL, EK.; OTTO, N.; RODRIGUES, MAS; METZGER, JW.. **Removal of Organic Micropollutants from Treated Municipal Wastewater by O₃/UV/H₂O₂ in a UVA-LED Reactor.** Ozone: science & engineering, vol. 44, ed. 2, p. 172-181, 2022.

SILVA, EDNA LUCIA DA; MENEZES, ESTERA MUSZKAT. **Metodologia da Pesquisa e Elaboração de Dissertação.** ed. 4, rev. Atual, Florianópolis: UFSC, 2005.

SILVA, GUSTAVO HENRIQUE RIBEIRO DA; DANIEL, LUIZ ANTONIO. **Desinfecção de efluente anaeróbio com o uso de ozônio/cloro.** Engenharia Sanitária Ambiental, vol. 20, n. 2, p. 279-288, 2015.

SOMENSI, CLEDER A.; SOUZA, ANDRÉ L.F.; SIMIONATTO, EDÉSIO L.; GASPARETO, PATRICK; MILLET, MAURICE; RADETSKI, CLAUDEMIR M. **Genetic material present in hospital wastewaters: Evaluation of the efficiency of DNA denaturation by ozonolysis and ozonolysis/sonolysis treatments.** Journal of Environmental Management, vol. 162, p. 74-80, 2015.

SONG, KAI; MOHSENI, MADJID; TAGHIPOUR, FARIBORZ. **Application of ultraviolet light-emitting diodes (UV-LEDs) for water disinfection: A review.** Water Research, vol. 94, p. 341-349, 2016.

SOUSA, C. P. DE. **Vigilância à Saúde e Prevenção na Transmissão de Patógenos.** Revista De Cultura e Extensão USP, vol. 11, p. 60-72, 2014.

SOUZA, JEANETTE BEBER DE. **Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e processo de desinfecção combinado ozônio/cloro.** Tese (Doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

SOUZA, JEANETTE BEBER DE; DANIEL, LUIZ ANTONIO. **Inativação dos microrganismos indicadores Escherichia coli, colifagos e Clostridium perfringens empregando ozônio.** **Ambiência.** Ambiência, vol. 4, ed. 2, p. 265-273, Guarapuava, 2008.

TAKEUCHI, KAZUE; FRANK, JOSEPH F. **Confocal Microscopy and Microbial Viability Detection for Food Research.** Journal of Food Protection, vol. 64, ed. 12, p. 2088–2102, 2001.

THERMOMIXBRASIL. **O ozônio.** Disponível em: <http://thermomixbrasil.com.br/enviromix/o-ozonio/>. Acesso em: 06 maio 2018.

UHR, JÚLIA GALLEGRO ZIERO; SCHMECHEL, MARIANA; UHR, DANIEL DE ABREU PEREIRA. **Relação entre saneamento básico no Brasil e saúde da população sob a ótica das internações hospitalares por doenças de veiculação hídrica.** RACEF – Revista de Administração, Contabilidade e Economia da Fundace, v. 7, n. 2, p. 01-16, 2016.

XAVIER, MANOEL DAS VIRGENS SOUZA; QUADROS, HELENITA COSTA; DA SILVA, MONIQUE SANTOS SARLY. **Parâmetros de potabilidade da água para o consumo humano: uma revisão integrativa.** Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, v. 11, n. 1, 2022.

WANG, H.; WEI, LI, X.; YUE, HAO, Z.; PENG; SUN, Y.; JIE; WANG, Y.; NAN, LI, W.; HUA; TSANG, Y. F. **Transformation of dissolved organic matter in concentrated leachate from nanofiltration during ozone-based oxidation processes (O₃, O₃/H₂O₂ and O₃/UV).** Journal of Environmental Management, vol. 191, 244–251, 2017.

WANG, J.; LIU, H.; WANG, Y.; MA, D.; YAO, G.; YUE, Q.; GAO, B.; XU, X. **A new UV source activates ozone for water treatment: Wavelength-dependent ultraviolet light-emitting diode (UV-LED).** Separation and Purification Technology, vol. 280, 119934, 2022.