

Potabilização de águas portadoras da bactéria *Escherichia coli* por meio de membranas poliméricas

Rosa Maria Ribeiro^{1*}, Rosângela Bergamasco¹, Marcelino Luiz Gimenes¹ e Benedito Prado Dias Filho²

¹Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ²Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, 87090-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: rosamr@deq.uem.br

RESUMO. Neste trabalho membranas poliméricas foram fabricadas visando a potabilidade de águas pela remoção da bactéria *Escherichia coli*. A escolha desta bactéria deveu-se por esta ser comumente encontrada em águas contaminadas e seu controle indicado pelo Ministério de Saúde. O processo para o preparo das membranas foi a Inversão de Fase e as membranas foram preparadas a partir de uma solução polimérica usando ora o polímero polisulfona (PSF) ora o fluoreto de polivililideno (PVDF) e como solvente, o N,N-dimetilformamida, seguindo um planejamento fatorial 2³. Amostras de água deionizada foram contaminadas com uma massa bacteriana (*E.coli*) em torno de 10⁷-10⁸ UFC (unidade formadora de colônias) por ml, sendo esta uma carga bacteriana bastante elevada e de difícil remoção. Os resultados mostram uma remoção da *E.coli* acima de 95%, com fluxos permeados em torno de 300 kg/h.m².

Palavras-chave: água potável, *Escherichia coli*, preparo de membranas.

ABSTRACT. Drinkableness of waters contaminated by *Escherichia coli* bacteria using polymeric membranes. In this work polymeric membranes were produced seeking the drinkableness of waters contaminated by the *Escherichia coli* bacteria removal. This bacterium was chosen because it is commonly found in polluted water and its control indicated by the Ministry of Health. The process for preparing the membranes was the Phase Inversion and the membranes were prepared from a polymeric solution using either the polysulfone (PSF) or poly(vililidene fluoride) (PVDF) polymers and as solvent N,N-dimethylformamide, in accordance with a factorial planning 2³. Samples of deionized water were contaminated with bacterial mass (*E.coli*) around 10⁷-10⁸ CFU (colony unit formation) for ml, being this quite high bacterial load and of very difficult removal. The results show an *E.coli* removal above 95%, with a permeated flux around 300 kg/h.m².

Key words: drinking water, *Escherichia coli*, membranes synthesis.

Introdução

A água potável considerada própria para o consumo humano deve atender aos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos estabelecidos pela Portaria nº 518 (de 25 de março de 2004) – Ministério da Saúde. Com relação ao controle bacteriológico, deve haver ausência da bactéria *Escherichia coli* ou das bactérias termotolerantes em 100 mL de água analisada, sendo que a detecção de *E.coli* deve ser preferencialmente adotada, por ser essa bactéria comumente encontrada em águas contaminadas.

O Brasil é um país de dimensão continental e com fartura de água, possuindo 16% do total das

reservas de água doce do planeta (Abes, 2000). Em terras brasileiras encontra-se parte do aquífero Guarani, que se constitui em uma das maiores reservas de água doce subterrânea do mundo. A disponibilidade de água no mundo para uso direto está escasseando dia após dia, devido à explosão demográfica, ao desmatamento próximo às nascentes, à poluição proveniente do esgoto industrial e do doméstico, à degradação de diversos corpos hídricos como rios, reservatórios subterrâneos, lagos, entre outros. A Comissão Mundial para a Água no século XXI alerta que até o ano 2025 a necessidade de água será 17% a mais que o total disponível na atualidade. Caso mudanças não sejam feitas, a demanda será 56% superior à

disponibilidade atual. Essa mudança envolve o respeito ao meio ambiente, uso racional de águas e tratamento adequado dessas águas (ABES, 2000).

A água constitui fator essencial para todo o ser vivo, mas é também um veículo de doenças parasitárias e infecciosas, aumentando a frequência de moléstias crônicas, segundo Franco e Cantusio Neto (2002). Atualmente, 80% das enfermidades contraídas são devido à águas poluídas, sendo que a cada minuto perece uma criança por doenças relacionadas à água, como desintéria e cólera (Folha de São Paulo, 02/07/99).

A tecnologia usual de tratamento de águas contaminadas envolve, geralmente, a coagulação com sais de ferro ou alumínio, a sedimentação, a filtração e a desinfecção com cloro. A combinação desses tratamentos visa à remoção de organismos patogênicos (Schneider e Tsutiya, 2001). Desde os anos 60, quando as membranas de acetato de celulose foram desenvolvidas, descobriu-se o seu potencial para emprego no tratamento de águas naturais e residuais (Cheryan, 1986).

Os processos de separação por membranas (PSM) têm sido utilizados nos mais diferentes setores de atividades; como na indústria química, como a queda de azeótropos, de misturas de solventes orgânicos, e na área médica, como a hemodíalise e a dosagem controlada de remédios, passando pela biotecnologia, indústria alimentícia e farmacêutica e tratamentos de águas industriais e municipais (Nóbrega *et al.*, 1997). Os PSM também têm sido empregados para a purificação de águas. Os sistemas de microfiltração, e ultrafiltração são empregados para a remoção de material particulado e coloidal de águas. A osmose inversa é empregada para a dessalinização de águas salgadas e salobras. Esses processo diferem no tamanho dos poros das membranas e na força motriz empregada.

A filtração por meio de membranas é um processo no qual a membrana desempenha o papel de uma barreira seletiva que restringe a passagem de certos componentes, entre os quais os microorganismos, íons, compostos orgânicos, entre outros, que são poluentes de águas (Schneider e Tsutiya, 2001). A principal finalidade de se produzir membranas com estruturas microporosas assimétricas é obter uma barreira seletiva que promova a separação de fases distintas com base nas dimensões dos poros, e que promova um fluxo permeado satisfatório (Ribeiro, 2001). As membranas sintéticas comerciais são produzidas a partir de duas classes distintas de material: os orgânicos (polímeros) e os inorgânicos (metais e cerâmicos).

O objetivo geral deste trabalho foi o preparo de membranas poliméricas, avaliando sua eficiência de remoção da *E.coli*, *Escherichia* e fluxo permeado.

Material e métodos

Para o preparo das membranas poliméricas, foi realizado um planejamento fatorial 2³. Os fatores fixados foram três: tipo do polímero, concentração do polímero e concentração do sal, e trabalhou-se em dois níveis: máximo (+) e mínimo (-). Esses níveis foram pesquisados em fase anterior do trabalho, denominada fase preliminar.

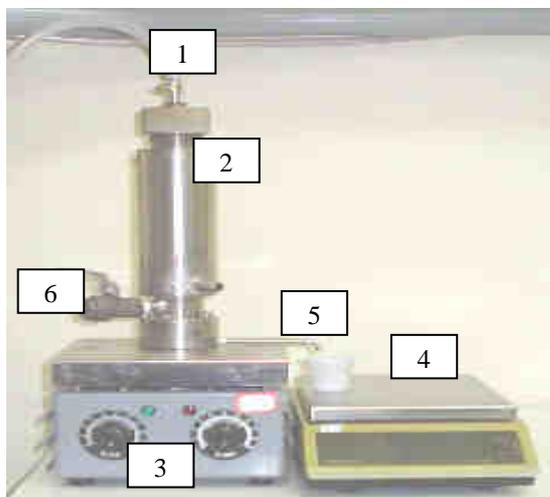
A técnica da precipitação por imersão foi a utilizada no processo de inversão de fase para o preparo das membranas. Nessa técnica, um filme da solução polimérica é imerso em um banho de precipitação. Esse banho contém um não-solvente (água) para o polímero (Ribeiro, 2001). Cada membrana preparada partiu de uma solução polimérica (p/p), usando-se dois tipos de polímeros, ora a PSF, ora o PVDF e um sal, cloreto de potássio (KCl). Como suporte, foram usadas folhas de poliéster-polipropileno.

A solução polimérica foi espalhada na forma de um fino filme sobre a folha de poliéster-polipropileno que se encontrava presa em uma placa de vidro (15x24 cm). Em seguida, esse filme/solução era imerso em um banho de água (não-solvente), por quatro horas e mantido a uma temperatura de 20°C. O não solvente era então absorvido pela solução, promovendo, assim, uma separação de fases ao longo da espessura da solução/filme, dando origem à estrutura e aos poros da membrana (Nóbrega *et al.*, 1997). Foram utilizadas diferentes soluções poliméricas para o preparo de diferentes membranas, sendo estas resultados de diferentes combinações de concentrações dos polímeros, sal e solvente, pois se trabalhou com três fatores e dois níveis (- mínimo e + máximo) do planejamento na ordem 2³, resultando no preparo de oito membranas, sendo quatro no nível mínimo e quatro no nível máximo. O objetivo de se trabalhar inicialmente com um planejamento experimental foi o de agilizar o preparo das membranas. Isto é, foram feitos ensaios laboratoriais à procura dos níveis máximo e mínimo, cujos resultados estivessem dentro dos objetivos deste trabalho.

A eficiência das membranas preparadas foi avaliada pela remoção da bactéria *E.coli* de águas contaminadas com carga bacteriana em torno de 10⁷-10⁸ UFC/mL (unidade formadora de colônias) e do fluxo permeado.

Os testes para a avaliação das membranas fabricadas foram realizados em um módulo de

filtração perpendicular do tipo perpendicular, construído em aço inox e que continha um orifício interno de metal o que suportava as membranas. Esse módulo pode ser visto na Figura 1.



1-Ar 2- Módulo 3- Agitador magnético
4-Balança 5- Permeado 6-Descarte

Figura 1. Módulo de Filtração Perpendicular.

O módulo era mantido em agitação magnética, para evitar desde a deposição de material na superfície da membrana, o que implica redução de fluxo permeado, até o entupimento da mesma. A capacidade desse módulo era de 230 mL, tendo uma área de filtração de 9,0 cm². Trabalhou-se à temperatura ambiente (25°C).

Controle microbiológico

A metodologia usada para a realização da contagem da *E.coli* foi de acordo com a de Milles e Misra (1938). Foram preparadas soluções de caldo nutriente de soja (TSB) a 0,8% e soluções de salinas a 0,85%, ambas em água destilada. Tomou-se um volume de solução TSB e adicionou-se a essa, 2% de Agar-Agar (solidificante); passando a se chamar TSA, e foi levada à aquecimento para a sua fusão. As três soluções (TSB, salinas e TSA) foram autoclavadas a 127°C, por 15 minutos, para a esterilização das mesmas. Placas de Petri foram vazadas com a solução TSA e foram à estufa por 24 horas, mantidas a 36°C.

Uma placa com a solução TSA foi inoculada a partir de cultura estoque de *E.coli*, com uma alçada da cultura padrão. Após a incubação da cultura a 37°C por 24 horas, foram preparados os inóculos em TSB com carga bacteriana de aproximadamente 1-5 x 10⁸ por comparação com a turvação do tubo n^o 5 da escala McFarland (1-5 x 10⁸ UFC/mL). O inóculo

preparado foi utilizado para contaminar um volume de água deionizada, ficando com carga bacteriana de aproximadamente 10⁶-10⁷ UFC. Essa água deionizada contaminada pela bactéria foi então filtrada pela membrana que foi preparada. Deixou-se um volume água contaminada sem passar pela membrana para controle da contagem de bactérias. A amostra filtrada por meio da membrana foi em seguida diluída em salinas de 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ até 10⁻⁴ e o controle, de 10⁻¹ até 10⁻⁵.

As diluições das amostras e do controle foram semeadas em quatro quadrantes de placa pela técnica de gota (20 µl) e incubadas por 24 horas a 37°C. A contagem foi realizada no quadrante no qual o número de colônias está entre 30 e 60. Calculou-se a porcentagem de remoção por meio da seguinte equação:

$$R\% = \{ 1 - [(\text{UFC filtrado}) / (\text{UFC contaminado})] \} \times 100 \quad (1)$$

Limpeza das membranas preparadas

Após cada teste realizado com duração em torno de 3 horas, a membrana em teste era limpa com a solução A, a 50°C, por 30 minutos e enxaguada abundantemente com água destilada. Depois, limpa com a solução B também a 50°C, por 30 minutos e finalmente enxaguada com água destilada. A seguir, foi realizada a assepsia com álcool hidratado a 70%.

A- Solução alcalina – NaOH 0,5% - pH 12,94. Após esse tempo, enxaguada abundantemente com água destilada;

B- Solução ácida – HNO₃ 0,5% - pH 1,31, aquecida a 50°C, por 30 minutos.

Após a limpeza das membranas, esperava-se o fluxo permeado pelas membranas ser restabelecido para se colocar as membranas em uso novamente.

Resultados e discussão

Foram feitas oito diferentes membranas (Tabela 1).

Tabela 1. Composição dos reagentes utilizados no preparo das membranas.

N ^o Membrana	Polímero	Concentração polímero na solução polimérica	Concentração sal (KCl) na solução polimérica
M1	A	12%	0%
M2	B	12%	0%
M3	A	17%	0%
M4	B	17%	0%
M5	A	12%	3%
M6	B	12%	3%
M7	A	17%	3%
M8	B	17%	3%

A= PVDF e B= PSF

Após o preparo das membranas, foi estabelecida qual a melhor pressão transmembrana de trabalho. Foram feitos ensaios em pressões de 1 a 7 atm e as

Figuras 2 e 3 mostram esses ensaios do fluxo permeado para as membranas, nas concentrações poliméricas de 12% e 17%, (A) e (B), respectivamente.

Observa-se, nas Figuras 2 e 3, que para as linhas que representam a água deionizada, permeando as membranas preparadas a partir de concentrações de 12% e 17% (linha acima do fluxo 600 Kg/hm²), à medida que se aumentou a pressão, também houve um incremento no fluxo permeado. Esse fenômeno se explica no fato de que para água pura somente a resistência intrínseca da membrana se opõe ao fluxo permeado, sendo este diretamente proporcional à pressão aplicada.

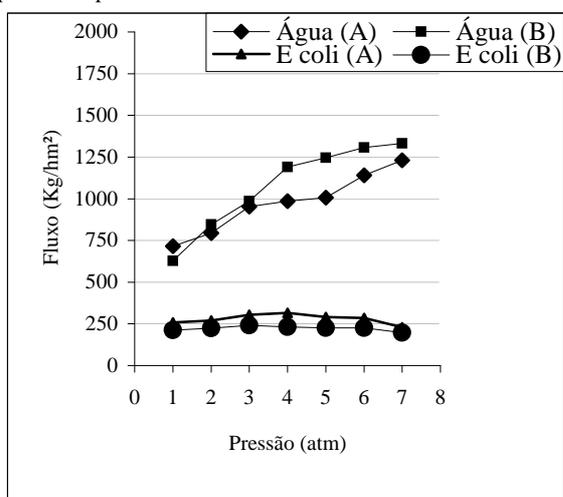


Figura 2. Membranas feitas com o polímero PSF e testadas com água deionizada e com água contaminada com *E.coli*, em pressões de 1 a 7 atm.

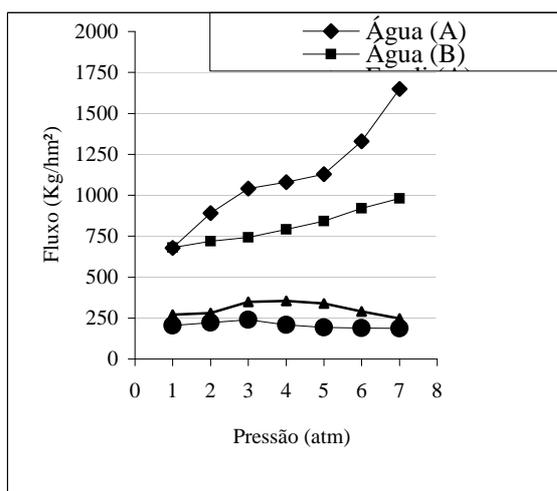


Figura 3. Membranas feitas com o polímero PVDF e testadas com água deionizada e com água contaminada com *E.coli* em pressões de 1 a 7 atm.

Na Figura 2 (membranas de PSF), para a linha

que representa a água contaminada com a bactéria *E.coli*, tanto para as membranas que partiram de uma concentração de 12% quanto a de 17%, a melhor pressão de trabalho foi a pressão em três atmosferas. Acima desta, houve uma diminuição visível que foi se acentuando à medida que se aumentou a pressão. Isto se deve ao fato de estar se trabalhando com uma carga bacteriana bastante elevada, o que leva a formação de um biofilme na superfície da membrana. E com o incremento da pressão, a membrana foi compactada, aumentando a resistência da membrana ao fluxo permeado. Esse biofilme aderido passa a agir como uma segunda membrana (Nóbrega *et al.*, 1997).

Na Figura 3 (membranas de PVDF) as duas linhas que representam o fluxo da água contaminada com a bactéria *E.coli* (localadas abaixo do fluxo de 600 kg/h.m²), mostram que para as duas condições de preparo das membranas (12% e 17%), o melhor fluxo permeado esteve entre três e quatro atmosferas, pois acima dessas pressões o fluxo passou a diminuir. Isto se deve ao fato da formação de biofilme na superfície da membrana, o que a compacta (Flemming *et al.*, 1997). Para se diminuir prováveis avarias nas membranas devido à pressão exercida sobre a sua superfície, entre as duas melhores pressões foi escolhida a menor, três atmosferas como pressão de trabalho para todas as membranas.

Assim, a pressão de trabalho para este estudo de preparo de membranas foi estabelecida em três atmosferas, pressão esta na faixa da ultrafiltração.

A Figura 4 mostra o fluxo permeado das membranas preparadas à base do polímero PVDF e a Figura 5 o fluxo permeado das membranas fabricadas à base do polímero PSF. Em ambos os casos, foi utilizada água contaminada com *E.coli*, com carga bacteriana de 10⁸ UFC/mL.

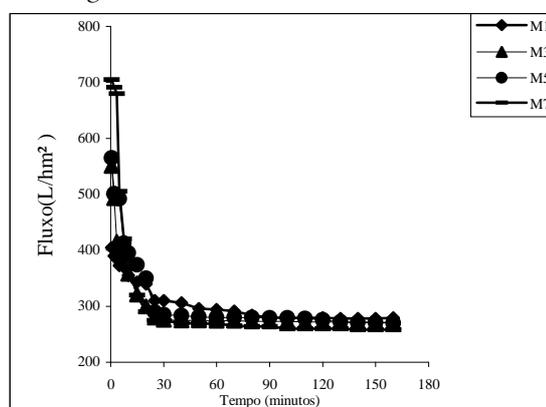


Figura 4. Fluxo das membranas preparadas com o PVDF e testadas com *E.coli*.

Para todas as membranas preparadas o fluxo permeado estabilizou-se entre 25 e 30 minutos.

Para os fluxos permeados das membranas preparadas com o polímero PVDF, pode-se constatar que a membrana M1 apresentou o melhor fluxo permeado, de 321 kg/hm². O fluxo das membranas M5 e M7 ficaram bastante próximos (285 e 287 kg/h.m², respectivamente).

As composições do polímero das membranas M1 e M5 foram as mesmas (12%), diferenciando-se na composição polimérica na concentração do sal KCl: M1 0% e M5 3%. Teoricamente a membrana M5 teria que ter um leve aumento no fluxo permeado, com a introdução do sal, porém isto não ocorreu (Figura 4).

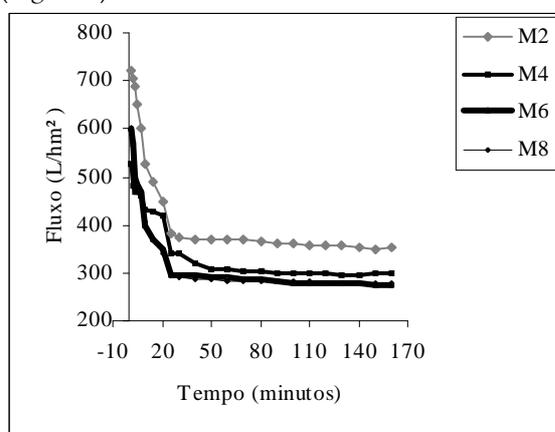


Figura 5. Fluxo das membranas preparadas com o PSF e testadas com *E.coli*.

Os fluxos permeados das membranas feitas à base do polímero PSF mostram que a membrana M6 (12%) foi a que apresentou o melhor fluxo permeado, com 353 kg/hm². Entre todas as membranas fabricadas (PVDF e PSF), foi a que apresentou o melhor fluxo. A membrana M2, que também teve uma concentração de 12% de PSF, apresentou um fluxo satisfatório, menor, mas próximo ao da M6, que partiu de uma solução polimérica com 3% de KCl, enquanto que a M2 não continha o sal em sua composição (Figura 5).

As membranas M8 (262 kg/hm²) e M4 (212 kg/hm²), preparadas a partir de concentração de PSF a 17% comportaram de maneira similar a M6 e M2. Isto é, a M8, com 3% de sal, teve um fluxo maior que a M4, produzida sem sal.

Para as membranas preparadas com o polímero PSF, a adição do sal KCl parece ter influenciado nos poros da membrana, pois com a introdução do mesmo houve um aumento no fluxo permeado. E, como discutido acima, com as membranas feitas à base do PVDF, isto não se verificou. Esses resultados

mostram que ainda não existe uma afirmação definitiva de como os sais (aditivos poliméricos) agem sobre as propriedades reológicas da solução polimérica e na cinética da coagulação dos polímeros e estão de acordo com Petrus (1997).

Os testes microbiológicos realizados para todas as membranas preparadas indicaram um bom desempenho dessas membranas. Na Figura 6 estão apresentados os resultados dos testes microbiológicos da remoção da bactéria *E.coli*.

As membranas M1A e M5A (Tabela 1) que partiram da mesma concentração do PVDF (12%) e variando na concentração do KCL (0 e 3%), apresentaram a mesma retenção bacteriana, ou seja, 98,9%. As membranas M3A e M7A partiram de uma mesma concentração do polímero (17%), porém em concentração maior que as membranas M1A e M5A (12%), e que também diferiram na concentração do sal, apresentaram praticamente a mesma redução bacteriana (99,9% e 100% respectivamente).

As membranas M4B (17% e 0%) e M6B (12% e 3%) que partiram do PSF e diferiram completamente na composição polimérica, apresentaram a mesma redução de *E.coli*, ou seja, 99,9%. A membrana M2B (12% e 0%) foi a que apresentou a menor retenção bacteriana, 99%. A membrana M8B (17% e 3%) zerou a presença bacteriana do fluxo permeado, como aconteceu com a sua similar, membrana M7A, feita com o polímero PVDF.

Assim, em termos da retenção bacteriana, à medida que se concentraram os polímeros, PVDF e PSF, conseguiu-se chegar a um dos objetivos principais deste trabalho. Ou seja, zerar a presença de *E.coli* de uma água altamente poluída com esta bactéria, tornando a água, uma água potável, de acordo com a Portaria n^o 518 de 25 de março de 2004 – Ministério da Saúde-MS.

E os resultados estão de acordo com o trabalho de Bechtel *et al.* (1998) os quais trabalhando com membrana de ultrafiltração testaram-na com água contaminada com *E.coli* a 10³ UFC/mL e conseguiram uma remoção 100%. Também Madaeni *et al.* (1995) trabalharam com membranas de ultrafiltração e testaram o desempenho da membrana com vírus na presença de biomassa (*E.coli*). E as membranas de ultrafiltração conseguiram a completa rejeição de microorganismos.

Conclusão

Para as condições experimentais deste trabalho, pôde-se concluir:

- A adição do sal KCl parece ter influência na

composição polimérica preparada à base da PSF, pois houve um acréscimo no fluxo permeado. Com o PVDF, não se constatou esse aumento.

- As membranas preparadas mostraram bons resultados, uma vez que as mesmas foram testadas com uma carga bacteriana (*E.coli*) bastante elevada, sendo de difícil remoção. Mesmo assim, o emprego de todas as membranas preparadas tornou as águas contaminadas bem próximas do grau de potabilidade.

A membrana M7, feita à base do polímero PVDF perfazendo um fluxo permeado de 284 kg/hm² e removendo completamente a presença da bactéria *E.coli*, foi a melhor membrana preparada.

Referências

- ABES-Informativo da Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000 – Seção Paraná, nº 28, Set. de 2000.
- BECHTEL, M. K. A. et al. *Virus removal or inactivation in hemoglobin solutions by ultrafiltration or detergent/solvent treatment*. Biomater, Artificial Cells Artificial Organs, p. 123-128, 1988.
- SCHNEIDER, R.P.; TSUTIYA, M.T. *Membranas Filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reuso*. São Paulo: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – Capítulo Nacional da AIDIS, 2001.
- CHERYAN, M. 1986. *Ultrafiltration Handbook*. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc. 1986.
- FLEMMING, H. C. et al. Biofouling - The Achilles heel of membrane processes. *J. Desalination*, v. 13, p. 215-225, 1997.
- FOLHA DE SÃO PAULO. Ano 2000, Água, Comida e Energia. São Paulo, 2 jul. 1999, Caderno Especial, p. 2, 2000.
- FRANCO, R. M. B; CANTUSIO NETO, R. Ocorrência of cryptosporidial oocysts and *Giardia* cysts in bottled mineral water commercialized in the Campinas, State of São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 92, p. 205-207, 1997.
- MADAENI S.S. et al. Virus removal from water and Wastewater using membranes. *J. Memb. Sci.*, Amsterdam, 1995.
- MILLES, A. A.; MISRA, S. S. *Estimation of the bactericide power of the bloods*. *J. Hyg.*, Cambridge, v. 38, p. 732-749, 1938.
- NÓBREGA, R. et al. 1997, Apostila do Curso de Processos de Separação com Membranas. Rio de Janeiro: COPPE – Escola Piloto em Engenharia Química, UFRJ, 1997.
- PETRUS, J. C. C. *Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para clarificação de suco de frutas*, Campinas. 1997. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)- Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- PORTARIA Nº 518, de 25 de março de 2004, Ministério da Saúde
- RIBEIRO, R. M. *Preparação de membranas para tratamento de efluente têxtil*. 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2001.

Received on July 28, 2004.

Accepted on December 08, 2004.