

A desinfecção da água: um estudo usando insumos vegetais que possuem psoraleno em tsa

The disinfection of water: a study using plant inputs that contain psoralene in tsa

DOI:10.34117/bjdv8n1-313

Recebimento dos originais: 07/12/2021

Aceitação para publicação: 18/01/2022

Isabel de Paiva Bastos Belém

Estudante de Bacharelado em Engenharia de Produção
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro [UNIRIO]
Av. Pasteur, 458 - Botafogo - Rio de Janeiro-RJ
E-mail: isabelpbbelem@gmail.com

Beatriz Nascimento Monteiro

Doutorado em Microbiologia
Universidade do Estado do Rio de Janeiro [UERJ] - Instituto Nacional de Câncer – INCA
R. André Cavalcanti, 37 - Centro - Rio de Janeiro-RJ
E-mail: beatriznmonteiro@gmail.com

Annibal José Roris Rodriguez Scavarda do Carmo

Doutor em Engenharia de Produção
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro [PUC-Rio]
Universidade Federal do Estado Do Rio De Janeiro - UNIRIO
Av. Pasteur, 458 - Botafogo - Rio de Janeiro-RJ
E-mail: professorannibal@gmail.com

Ana Claudia Dias

Doutora em Engenharia de Produção
Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca [CEFET-RJ]
Av. Maracanã, 229 - Maracanã - Rio de Janeiro-RJ
E-mail: missdias@gmail.com

Área: 9. ENGENHARIA DA SUSTENTABILIDADE

Sub-Área: 9.5 - PRODUÇÃO MAIS LIMPA E ECOEFICIÊNCIA

RESUMO

A radiação UV é conhecida por alterar a estrutura do DNA. Isso é aproveitado no tratamento da água, por meio da desinfecção solar (SODIS), mas esse método é demorado. Procurou-se então por meios para agilizar a inibição de coliformes fecais pela radiação solar. Na universidade de Hopkins, realizou-se pesquisa sobre as propriedades dos psoralenos. Nela, usaram limas da pérsia, que possuem alta concentração desses compostos. Como essa lima não tem preço acessível no Brasil, este artigo compara a ação antimicrobiana de outros sumos vegetais para a aplicação desse procedimento em terras brasileiras. Para tal, usou-se sucos de lima e de limão; batidas de lima, de limão e de aipo como agentes antimicrobianos para TSA

em exposição à radiação UV-A ou em sombra e amostra padrão de *E. coli* DH5- α . Ainda, testou-se a eficiência dos diferentes sumos, esterilizados ou não. Depois, selecionou-se o mais eficiente para realizar extrações em água destilada, etanol 50% e hexano com ultrassom e rotaevaporador. As extrações foram usadas para novos TSAs. Observou-se que o limão batido apresentou melhor inibição do crescimento dos microrganismos, em especial quando exposto ao sol. Assim, determinou-se uma fonte acessível para sumos que venham auxiliar na SODIS em território brasileiro.

Palavras-chaves: Água, Psoraleno, Tsa, Desinfecção Solar.

ABSTRACT

UV radiation is known to alter the structure of DNA. This is used in the treatment of water through solar disinfection (SODIS), but this method is time consuming. It was then sought by means to expedite the inhibition of fecal coliforms by solar radiation. At Hopkins University, research was conducted on the properties of psoralens. In it, they used lemon files, which have a high concentration of these compounds. As this file is not affordable in Brazil, the following article compares the antimicrobial action of other vegetable juices for the application of this procedure in Brazilian lands. Lime and file juices were used for this; file, lime and celery shake as antimicrobial agents for TSA in exposure to UV-A radiation or in shade and standard sample of *E. coli* DH5- α . Furthermore, the efficiency of the different juices, sterilized or not, was tested. Then, the most efficient was selected to perform extractions in distilled water, 50% ethanol and hexane with ultrasound and rotary evaporator. The extractions were used for new TSAs. It was observed that the blended lime showed better inhibition of the growth of microorganisms, especially when exposed to the sun, so this is the accessible source that can assist SODIS in Brazilian territory.

Keywords: Water, Psoralen, Ast, Solar Disinfection.

1 INTRODUÇÃO

A preocupação mundial com a sustentabilidade e manutenção dos recursos naturais cresce juntamente com a necessidade de medidas imediatas para evitar maiores danos à natureza. A escassez de água potável é um dos maiores problemas da atualidade, que tende a piorar com a poluição proveniente dos setores industriais e domésticos das economias emergentes e devido ao aumento da população mundial (ONU, 2019).

Estudos estimam que mais da metade dos leitos hospitalares do mundo são ocupados por pacientes com doenças de veiculação hídrica (VIEGAS, 2018). A contaminação da água por bactérias, especialmente *Escherichia coli*, é um dos fatores de preocupação. Esse microrganismo habita naturalmente o intestino dos humanos e animais e, embora a maioria das variedades de *E. coli* não sejam patogênicas, outras podem provocar doenças como gastroenterite e infecção urinária (FRAZ, 2021). De acordo com o ministério da saúde, a especificação para água potável é de ausência de UFCs de *E. coli* em 100 mL de amostra (Portaria MS. nº 2.914/2011).

Cientistas de diferentes áreas estudam propriedades de materiais facilmente disponíveis para o tratamento da água de modo eficiente e viável para comunidades carentes com diferentes aplicações (MALLAMPATI, 2015; SILVA, 2016; CASSIVI, 2021). No entanto, todo método de tratamento de água tem uma eficiência limitada, uma vez que cada um garante uma porcentagem da redução da poluição existente.

O psoraleno é uma substância usada para o tratamento de doenças da pele. Pesquisas mostram que no Egito Antigo utilizava-se extrato da planta *Ammi Majus*, constituído por furanocumarinas ou furocumarinas (LUZ; SANTOS; PARTATA, 2014), como anti-inflamatório. Hoje, é largamente utilizado para tratamento de vitiligo e infecções epiteliais por meio da fotoquimioterapia e há estudos que mostram a possibilidade de ser usado para medicamentos contra gliomas (OLIVEIRA et al., 2016).

Sendo da família das furocumarinas, o psoraleno é composto pela junção da cumarina (fusão de anéis benzeno e 1,2-pirona) a um anel furano. As furanocumarinas dividem-se em angulares e lineares, sendo os psoralenos constituintes do segundo grupo ([PubChem Compound Summary, 2021](#)).

Essa substância age sob o efeito de raios UV-A, atuando sobre as bases nitrogenadas presentes no material genético (VAN AELST et al., 2016). É um agente de reticulação, que se intercala no DNA e causa tanto interligações cruzadas de natureza covalente quanto a junção entre pirimidinas após a fotoativação por UV-A (CHATTERJEE, GRAHAM, 2017). Este comportamento impede a transcrição de RNA e conseqüentemente tem impacto sobre toda a maquinaria celular. As reações fototóxicas mais violentas ocorrem com 5-metoxipsoraleno (5-MOP; bergapteno) e 8-metoxipsoraleno (8-MOP; xantotoxina).

Este composto é encontrado em várias plantas da família Rutaceae (gêneros *Fortunella*, *Citrus* e *Poncirus*), *Moraceae* e ainda em vegetais de família *Apiaceae*. Os psoralenos são de difícil síntese artificial devido à formação de isômeros óticos, portanto é mais comum haver sua extração de frutos para então ser usada em meios laboratoriais. As espécies do gênero *Citrus* possuem diferentes concentrações de psoralenos de acordo com sua espécie e parte da planta, sendo mais comum encontrá-los em altas concentrações nas cascas. Por essas razões, foram selecionados o aipo, da família *Apiaceae*; o limão taiti e a lima da pérsia, da família *Citrus*. Importante notar que o local onde são cultivadas as plantas pode interferir significativamente na concentração de psoralenos (SIVA et al., 2015).

Por ser uma família de substâncias fotossensíveis, os psoralenos podem auxiliar na otimização do método de desinfecção solar de água potável, ou SODIS (HARDING, SCHWAB, 2012). O procedimento consiste no despejo de água em garrafas de polietileno

tereftalato ou de vidro seguido de exposição à luz solar por pelo menos 6 horas, podendo ir até 48 horas em tempo nublado (Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology, 2016). O calor e a radiação ultravioleta da luz solar matam bactérias, parasitas e protozoários além de inativar vírus variados. Estudos mostram ótima eficiência da SODIS contra a incidência de diarreia em crianças menores de cinco anos de idade, um alvo extremamente afetado pela falta de água limpa (BITEW, 2018). Embora tenham sido levantadas questões sobre a degradação das garrafas de PET e a ingestão de produtos carcinogênicos provenientes desta, até o momento estudos indicam que o método não transmite qualquer carga incomum de toxinas que venham a desregular o sistema endócrino através da água potável (SOMMERS, 2021).

Entre as dificuldades para a realização do SODIS está a turbidez da água, que deve ser reduzida por meio da filtração e retirada de resíduos sólidos, além da agilidade do processo. Este último pode ser resolvido com a adição de sumos psoralênicos à água, visto que os agentes patogênicos ficarão mais sensíveis à radiação solar devido à natureza química do composto. Com a adição de sumo de lima da Pérsia por exemplo, que possui muitos compostos fototóxicos, há redução de 6 horas de exposição para 30 minutos (HARDING, SCHWAB, 2012). Cabe agora analisar a possibilidade de outras plantas com presença de compostos desta natureza serem agentes antimicrobianos, sendo alternativas para locais onde a fruta citada não é facilmente encontrada.

No estudo realizado, são usados: aipo batido, sumos de lima e limão com casca, suco de lima e de limão para a análise de qual o mais eficiente em testes antimicrobianos usando bactérias *E. coli* com e sem exposição à radiação UV-A. Assim, o processo poderá ser agilizado em locais que a lima da pérsia não é acessível, como o Brasil. Este artigo está dividido em cinco seções: introdução, materiais e procedimentos, resultados, discussão e conclusão.

2. MATERIAIS E PROCEDIMENTOS

2.1. AMOSTRA BACTERIANA DE *E. COLI*

As análises foram feitas utilizando a amostra padrão de *E. coli* DH5- α . A amostra encontrava-se mantida a -20°C em solução de leite desnatado a 10% (Skim Milk, BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ, EUA) acrescido de 10% de glicerol e integra a coleção de culturas do Laboratório de *E. coli*, do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. A partir dos estoques, as amostras foram reativadas após semeadura em meio ágar EMB (Plast-Labor Ind. e Com., Rio de Janeiro, RJ) e incubação por 18 h – 24 h a $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, para avaliação da pureza e viabilidade das culturas.

2.2 OBTENÇÃO DOS SUMOS

2.2.1 Sumos de lima, limão e de aipo

Lavou-se, para a realização de cada TSA com os respectivos insumos, os frutos cítricos com esponja e detergente, enquanto utilizou-se água sanitária e água da pia para deixar o aipo de molho por 15 minutos, seguido de enxague. Os vegetais foram comprados em um estabelecimento comercial, no bairro de Botafogo no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Após o enxágue dos vegetais, estes foram secos com centrífuga secadora de verduras e então utilizou-se de uma centrífuga extratora de sucos de alimentos, frutas e verduras, também chamada de juicer. O aparelho foi limpo com esponja, detergente e água após a centrifugação de cada vegetal. Os sumos foram utilizados em sua concentração de centrífuga. Para os sucos de lima e de limão, foi usado um espremedor de plástico. Estes sumos foram utilizados em sua concentração de extração como agentes antimicrobianos para o teste em placas de Petri.

2.2.2 Obtenção dos Extratos da Casca de Limão

Este procedimento foi realizado no Laboratório de Produtos Naturais, no Instituto de Química, dentro do Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Foi realizado sob orientação da Dra. Bianca Nascimento Monteiro da Silva. Foram descascados 3 limões taiti, comprados em estabelecimento comercial no bairro de Botafogo no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. As cascas, cujo peso somava 83 g, foram divididas em três grupos de massa igual (27,6 g cada). Cada grupo foi cortado em pedaços de aproximadamente 1,5 cm x 0,5 cm. Os grupos foram transferidos para erlenmeyers de capacidade de 125 mL, e preenchidos, o 1º com 100 mL de água destilada, o 2º com 100 mL de etanol 50%, e o 3º com 100 mL de hexano. Cada erlenmeyer foi posto em ultrassom Branson por 20 minutos, com o auxílio de um suporte universal, de modo que a mistura de casca e solvente ficasse parcialmente coberta. Este método é realizado visando maior solubilização dos compostos da casca de limão de modo mais eficiente que o soxhlet (Ultrasonic Dissolving of Solids in Liquids; KUNENE, MAHLAMBI, 2020).

Em seguida separou-se a solução de solvente das cascas, pondo-se o líquido em balões de 250 mL para seguir o tratamento no rotaevaporador IKA RV 10, onde o solvente foi separado. No rotaevaporador, as frações hexânica, alcoólica e aquosa foram aplicadas a pressão interna de 170 mbar e velocidade de 90 rpm de rotação para o balão. Ao final de aproximadamente 60 minutos de extração no aparelho, foi utilizado etanol 50% para rinsar o balão com água como solvente e o mesmo para o que continha o etanol como solvente, enquanto utilizou-se etanol ~90% para rinsar o balão que continha hexano como solvente.

Assim os extratos foram armazenados em vidros cobertos por papel alumínio para evitar a fotodegradação. Foram armazenados semiabertos por 1 semana para evaporação do solvente e cálculo de rendimento em local com temperatura de aproximadamente 28°C. Em seguida foram guardados entre 6 e 10°C.

2.3 EXPERIMENTO

2.3.1 Teste de Susceptibilidade através do Método de Disco Difusão

A atividade antimicrobiana dos extratos e dos sumos foi avaliada frente o cultivo de *E. coli* DH5-alfa. Para tal, a partir de um cultivo recente, foi feita uma suspensão bacteriana em solução salina (0,85% de NaCl) estéril, ajustada para uma turbidez equivalente a escala de 0,5 McFarland, correspondente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Com auxílio de swabs, as suspensões foram semeadas em ágar Müeller-Hinton (MHA, Müeller-Hinton Agar, BD Diag.), para obtenção de crescimento semi-confluente. Discos de papel de filtro impregnados com os extratos e/ou sumos foram colocados sobre o inóculo. A leitura dos halos de inibição foi feita após incubação por 24h a 37°C na presença ou ausência de luz (ANVISA, 2003).

2.3.2 TSAs e suas especificidades

2.3.2.1 Maio 2018

Realizou-se o procedimento do Teste de Susceptibilidade através do método do disco de difusão, com a diferença que fez-se um spread-plate, com o uso de uma alça bacteriológica ao invés de uma semeadura com swab. Foram feitos testes com os extratos esterilizados e in natura.

Os sumos foram esterilizados em panela de pressão ao ficarem à temperatura de 120°C por 25 minutos, visando a averiguação do impacto de microrganismos presentes nos sumos na atividade antimicrobiana. Para cada teste houve uma placa exposta ao sol e outra guardada, para averiguar a fotossensibilidade dos sumos.

Acompanhou-se o crescimento das bactérias durante 4 dias (dos dias 29 de maio de 2018 a 01 de junho de 2018).

Foram medidos os potenciais hidrogeniônicos de cada sumo, estéril ou não.

2.3.2.2 Junho 2018

Foram utilizados os mesmos sumos não estéreis do experimento de maio para um novo TSA. Desta vez, assim como nas seguintes, realizou-se *spread-plate* com o uso de um swab. O experimento foi realizado em duplicata, em dias diferentes (19 e 20 de junho de 2018), e a

observação foi interrompida com a formação de tapete bacteriano, após 24 horas. Houve erro no controle do experimento do 1º dia, pois a pinça usada para dispôr o controle estava suja da batida de limão. Diferentemente de maio, utilizou-se uma lâmpada de radiação UV-A para substituir a ação solar.

2.3.2.3 Agosto 2018

Usando sumos frescos, repetiu-se o TSA com e sem exposição à lâmpada. O experimento foi realizado em duplicata e a observação foi interrompida após 48 horas. Houve interrompimento da exposição a radiação UV-A da lâmpada após tempo indeterminado, portanto não é possível levar em consideração o halo inibitório produzido.

2.3.2.4 Setembro 2018

2.3.2.4.1 TSA com sumos

Foi repetido o procedimento de agosto. Após o uso, os sumos foram armazenados em congelador por uma semana. As placas com SODIS foram expostas à luz solar, com intervalo de 8 horas de escuridão devido à noite. O experimento foi realizado em duplicata e a observação foi interrompida após 24 horas.

2.3.2.4.1 TSA com extratos e antibiótico industrial

No mesmo dia, foi realizado TSA utilizando os extratos da casca de limão, extraídos na UFRJ como descrito anteriormente. As placas de Petri foram divididas em 5, com um setor controle; outro para o extrato hexânico; para o extrato aquoso; para o extrato etanólico; e por último para o antibiótico cefoxitina. Um grupo de placas com foi exposta à luz solar, com intervalo de 8 horas de escuridão devido à noite. O outro ficou o período todo sem exposição.

2.3.2.5 Outubro 2018

Repetiram-se os experimentos de setembro, adicionando-se, no entanto, placas com os antibióticos oxacilina e penicilina, sem a exposição ao sol, pois não são substâncias fotossensíveis.

3 RESULTADOS

3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DA CASCA DE LIMÃO

Não foi possível haver total evaporação dos solventes, resultando no peso de 2,61 g de extrato aquoso; 3,53 g de extrato etanólico e 2,58 g de extrato hexânico.

3.2 ANÁLISE DO PRINCÍPIO ATIVO POR TSA E PH DOS SUMOS

A tabela 1 mostra o pH dos sumos de vegetais usados nos TSAs.

TABELA 1 – pH dos Sumos estéreis e in natura

Sumo	Suco de lima	Suco estéril de lima	Aipo batido	Aipo batido estéril	Lima batida	Lima batida estéril	Limão batido	Limão batido estéril
pH	2	2	6	6	5	5	2	2

Fonte: Autores (2021)

As tabelas 2, e 3 mostram os resultados dos TSAs, sendo os valores negativos referentes ao crescimento exagerado das bactérias.

TABELA 2 - Média de halos dos TSAs com sumos de limão, lima e aipo

Média do Diâmetro dos halos (mm)

Sumo	Junho		Agosto		Setembro		Outubro	
Batida de lima	-3.35	-7.2	-5	-9.5	-7.65	-11.3	0	0
Batida de limão	11.54	5	-5	-9.5	7.25	0	3.5	2.8
Suco de lima	-3.4	-3.2	-8	-8.5	7.55	7.6	0	0
Suco de limão	5.01	0	7	7.5	6.75	5.6	-7.55	-3.55
Batida de aipo	-3.65	-7.1	-7	-7.8	-4	-7.45	2.27	0

Fonte: Autores (2021)

TABELA 3 - Média do Tamanho dos halos dos TSAs com extratos e antibióticos

	H2O	Etanol	Hexano	Cefoxitina	Penicilina	Oxacilina
SODIS	0,99	2,32	1	0	0	0
s/ SODIS	0	0	6,6	0	0	0

Fonte: Autores (2021). DISCUSSÃO

Os resultados obtidos levam à conclusão que o impacto da esterilização dos sumos é presente na rapidez de crescimento das bactérias, que é mais lenta nas primeiras 24 horas nas placas em que os sumos tiveram tratamento. Como a temperatura de fusão do psoraleno é de 161°C (Pubchem Compound Database, 2021), a autoclave não interferiu em suas propriedades. Observa-se que o sumo autoclavado de lima batida e limão batido sem SODIS não desenvolveu um fungo no disco de papel, diferente do sumo sem tratamento, o que leva a crer que o sumo

continha um esporo em dormência que desenvolveu-se quando observou a oportunidade de obter nutrientes do meio Mueller-Hinton.

O pH dos sumos não alterou o crescimento de bactérias, que possuem como característica sobreviver a choques com ácidos (JAIN et al., 2013)

Em junho, observou-se que nos discos controle que ficaram expostos ao sol houve a formação de um tênue halo de inibição. Isso se deveu ao fato de estes discos terem sido postos ao final do experimento, com a pinça não devidamente higienizada, contendo ainda vestígios de extrato de limão, que havia sido o último sumo a ser utilizado. Os controles foram dispostos, os que estavam guardados na sombra, antes do uso de outros sumos (início do experimento), enquanto os que ficaram expostos ao sol foram postos ao final do preparo do experimento. Este erro não anula, portanto, os resultados obtidos nos outros setores das placas analisadas.

A falta de acurácia para a medição dos halos por conta do interrompimento da exposição ao UV não impede a observação da ação inibitória do limão em meio afótico, observada em todos os experimentos, decorrente de outra substância que não o psoraleno (SAMADIAN et al., 2016).

A análise da quantidade de bactérias proliferadas excessivamente, expressa nos gráficos pelos números negativos, indica que há menor crescimento quando há SODIS em quase todos os sumos testados. Há, no entanto, um resultado significativamente melhor no teste com o limão batido, o que leva a crer que seus psoralenos sejam mais fotorreativos ou que ataquem melhor nas condições apresentadas, visto que a literatura em sua maioria apresenta outras condições de exposição, em outros locais do mundo (SIVA et al., 2015). Esse resultado, expresso especialmente em setembro, somado aos anteriores, levou a crer que devesse haver um estudo mais aprofundado acerca das propriedades do limão na morte de bactérias. Crença essa que levou ao estudo das substâncias de diferentes polaridades no laboratório de Laboratório de Produtos Naturais UFRJ.

As características parcialmente polares do psoraleno demonstram que o etanol a 50% é o melhor solvente para sua concentração. Desse modo, os resultados expressam a presença de apolares presentes na casca do limão que podem atuar contra bactérias *E. coli* assim contra demais coliformes fecais. Todavia, essa substância não poderia ser usada para a desinfecção da água, visto que é imiscível em água.

É provável que haja flavonoides no extrato obtido por hexano, cujo solvente ideal é a acetona, devido à apolaridade do composto. Essas substâncias possuem ação antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (HSOUNA, 2017).

5 CONCLUSÃO

Os compostos provenientes do limão batido podem ser usados em concentração de extração seguido de exposição ao sol como antimicrobiano para a inibição de soluções com até $1.5 \cdot 10^8$ UFC/mL de *E. coli*.

Uma vez comprovada a ação de substâncias fotossensíveis na inibição microbiana, cabe a realização de um teste de concentração inibitória mínima do suco de limão e limão batido em água contaminada, onde a concentração de bactérias é em muito inferior a 0,5 McFarland, sendo de $25 \cdot 10^3$ coliformes por litro (RESOLUÇÃO CONAMA N° 357).

Desta forma, o projeto foi bem sucedido na determinação de uma fonte acessível para sumos que venham auxiliar na desinfecção solar da água em território brasileiro. Para estudos futuros, crê-se ser necessário realizar testes em tubos de ensaio com a *E. coli* à concentração mínima de $25 \cdot 10^3$ coliformes por litro (sendo desejado realizar com outras concentrações pouco maiores) e diferentes concentrações de limão batido, visando avaliar a eficiência das propriedades para a SODIS. É importante que nesses testes a quantidade de limão usado não interfira significativamente no sabor da água.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição.** 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_opasm2-a8.pdf> Acessado em: 25 de ago. 2018

BITEW, B. et al., **The effect of SODIS water treatment intervention at the household level in reducing diarrheal incidence among children under 5 years of age: a cluster randomized controlled trial in Dabat district, northwest Ethiopia** *Trials* 19, 412. 2018.

CASSIVI, A. et al., **Household practices in accessing drinking water and post collection contamination: A seasonal cohort study in Malawi.** *Water research (Oxford)*, Vol. 189, 2021

CHATTERJEE, N.; WALKER, G. **Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis.** *Environmental and Molecular Mutagenesis*, Vol. 58, no. 5, p. 235–263, 2017.

Desinfecção Solar da Água: Guia de Aplicações do SODIS. no EAWAG (Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology). Dübendorf, 2016. Disponível em: <https://www.sodis.ch/methode/anwendung/ausbildungsmaterial/dokumente_material/sodismanual_2016_lr.pdf> Acessado em: 25 jul. 2021

FRAZ, A. **Tudo sobre a Escherichia coli.** *Tua Saúde*, 2021. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/escherichia-coli/>. Acessado em: 28 jul. 2021

HARDING, A.; SCHWAB, K. **Using Limes and Synthetic Psoralens to Enhance Solar Disinfection of Water (SODIS): A Laboratory Evaluation with Norovirus, Escherichia coli, and MS2.** *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 86, no. 4, p. 566–572, 2012.

HSOUNA, A. et al., **Citrus Lemon Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities with Its Preservative Effect against Listeria Monocytogenes Inoculated in Minced Beef Meat.** *Lipids in Health and Disease* 16 (2017): 146. PMC. Disponível em<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5543433/>> Acessado em: 15 out. 2018

JAIN, P. et al., **Evaluation on the responses of succinate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase to acid shock generated acid tolerance in Escherichia coli.** *Advanced Biomedical Research*, Vol. 2, 2013

KUNENE P., MAHLAMBI P. **Optimization and application of ultrasonic extraction and Soxhlet extraction followed by solid phase extraction for the determination of triazine pesticides in soil and sediment.** *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Vol. 8 Issue 2, 2020.

LUZ, L.; SANTOS, S.; PARTATA, A. **Vitiligo e seu tratamento.** *Revista Científica do ITPAC*, Araguaína, Vol.7, n.3, Pub.5, 2014

MARTINS, H., MIGUEL, V. **Água potável: Monitoramento, controle de processos e ações**

corretivas. Revista Técnica do Farmacêutico, 2013 Manual prático de análise de água 2 p. 28-29

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION Psoralen. PubChem Compound Database. Disponível em: <pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Psoralen#section=Computed-Properties>. Acessado em: 24 jun. 2018

NAKAGAKI, R.; KITAMURA, N.; KOHTANI, S. **Molecular aspects of furocoumarin reaction: Photophysics, photochemistry, photobiology, and structural analysis.** Journal of Photochemistry and Photobiology. Vol. 6, p. 168-185, 2005.

OLIVEIRA, E. et al., **The classical photoactivated drug 8-methoxypsoralen and related compounds are effective without UV light irradiation against glioma cells.** Neurochemistry International, Science Direct., 2016.

ONU, **Centro Regional de Informação para a Europa Ocidental. Água.** Disponível em: <https://unric.org/pt/agua/> Acessado em: 28 de jul. 2021

PLACIDINA, L. **Estudo do ultra-som como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poliaromáticos.** UFRGS, Pós Graduação em Química, 2021.

RESOLUÇÃO CONAMA N° 357, de 17 de março de 2005

ROCHA, T.; LELES, M. **Estudo do perfil termoanalítico de furanocumarinas através de TG e DSC para a pré-formulação de um medicamento para a terapêutica do vitiligo.** Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás.

SABESP. **PORTARIA N° 2.914, 2011** Disponível em <http://site.sabesp.com.br/site/uploads/file/asabesp_doctos/PortariaMS291412122011.pdf> Acessado em: 19 mar. 2018.

SAMADIAN, F. et al., **Effect of Essential Oils of Peppermint, Lemon, Thyme and Ajwain on Performance, Blood Metabolites and Hepatic lipogenic Gene Expression of Broilers.** Pizhūhishhā-yi ‘ulūm-i dāmī-i Īrān, Vol. 7 (3), pp.329-339, 2016,

SCHONBERG, A. **Präparative Organische Photochemie Springer-Verlag,** 2013

SILVA, J. et al., **Uso de destiladores solares para fornecer água potável no semiárido Paraibano.** Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável, Vol. 11, 2016

SIVA, G. et al., **Optimization of elicitation condition with Jasmonic Acid, characterization and antimicrobial activity of Psoralen from direct regenerated plants of Psoralea corylifolia L,** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Vol. 4, Issue 4, 2015.

SOMMERS, M. **Limitations of Solar Disinfection (SODIS) Water Treatment in Low-Income Communities.** Disponível em: <https://jayscholar.etown.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1005&context=eng-physstu> Acessado em: 21 jul. 2021

Ultrasonic Dissolving of Solids in Liquids. Disponível em: [.hielscher.com/ultrasonic-dissolving-of-solids-in-liquids.htm](https://www.hielscher.com/ultrasonic-dissolving-of-solids-in-liquids.htm)>. Acessado em: 05 nov. 2018

VIEGAS, E. **Não podemos ter acesso à água ou à justiça apenas eventualmente.** *Coluna Ambiente Jurídico*, Conjur, 2018 Disponível em: <https://www.conjur.com.br/2018-abr-07/ambiente-juridico-nao-podemos-acesso-agua-ou-justica-eventualmente> Acessado em: 21 de jul. 2021