



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL EM MICROBIOLOGIA APLICADA**

PHILIPPE DOS SANTOS AUGUSTO

**APLICAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS E BIOSSURFACTANTE NO CONTROLE DE
MICRORGANISMOS E CORROSÃO EM SISTEMAS DE RESFRIAMENTO
INDUSTRIAL**

Belo Horizonte

2025

PHILIPPE DOS SANTOS AUGUSTO

**APLICAÇÃO DE BACTERÍÓFAGOS E BIOSSURFACTANTE NO CONTROLE DE
MICRORGANISMOS E CORROSÃO EM SISTEMAS DE RESFRIAMENTO
INDUSTRIAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Microbiologia Aplicada do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia dos Santos.

Belo Horizonte

2025

043

Augusto, Philipe dos Santos.

Aplicação de bacteriófagos e biossurfactante no controle de microrganismos e corrosão em sistemas de resfriamento industrial [manuscrito] / Philipe dos Santos Augusto. – 2025.

153 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia dos Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada.

1. Microbiologia. 2. Corrosão. 3. Biofilmes. 4. Bacteriófagos. 5. Biossurfactantes. 6. Fagos. I. Santos, Vera Lúcia dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ICB - CURSO MESTRADO PROFISSIONAL EM MICROBIOLOGIA APLICADA - SECRETARIA

**ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL DE
PHILIPPE DOS SANTOS AUGUSTO, matrícula 2023698990**

Às 14 horas do dia 27 de agosto de 2025, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Microbiologia da UFGM, a Comissão Examinadora aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado **"APLICAÇÃO DE BACTERIÓFAGOS E BIOSURFACTANTE NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS E CORROSÃO EM SISTEMAS DE RESFRIAMENTO INDUSTRIAL"**, como requisito final para obtenção do GRAU MESTRE em MICROBIOLOGIA, área de concentração Microbiologia Aplicada. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa. Erna Geessien Kroon, coordenadora do Curso, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Dr. Sergio Pagnin, Petrobras

Dra. Marina Andrada Maria

Prof. Santiago Martin Lattar, UFGM

Profa. Vera Lucia dos santos, ICB - UFGM, orientadora

Pelas indicações o candidato foi considerado APROVADO.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pela Presidente da Comissão.

Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a sessão, da qual foi lavrada a presente ATA que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Dr. Sergio Pagnin

Dra. Marina Andrada Maria

Prof. Santiago Martin Lattar

Profa. Vera Lúcia dos Santos

Profa. Erna Geessien Kroon

Coordenadora

Belo Horizonte, 28 de agosto de 2025.



Documento assinado eletronicamente por Erna Geessien Kroon, Coordenador(a) de curso de pós-graduação, em 28/08/2025, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vera Lucia dos Santos, Servidor(a)**, em 28/08/2025, às 18:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Santiago Martin Lattar, Professor do Magistério Superior**, em 28/08/2025, às 20:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marina Andrade Maria, Usuária Externa**, em 01/09/2025, às 14:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sergio Pagnin, Usuário Externo**, em 08/09/2025, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4503561** e o código CRC **9371FB75**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
APLICADA
MESTRADO PROFISSIONAL
FOLHA DE APROVAÇÃO**

"APLICAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS E BIOSSURFACTANTE NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS E CORROSÃO EM SISTEMAS DE RESFRIAMENTO INDUSTRIAL"

PHILIPPE DOS SANTOS AUGUSTO
Nº matrícula: 2023698990

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em MICROBIOLOGIA APLICADA-MESTRADO PROFISSIONAL, área de concentração Biotecnologia Industrial e de Vacinas, como requisito para a obtenção do grau de MESTRE EM MICROBIOLOGIA.

Aprovada em 27 de agosto de 2025, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Vera Lúcia dos santos -ICB-UFMG - Orientador
Instituto de Ciências Biológicas/ Universidade Federal de Minas Gerais

Dr. Sergio Pagnin
Gerência de PDI em Transição Energética e Sustentabilidade da Petrobras- PETROBRAS

Andrada Maria

Indústrias do Estado de Minas Gerais)

Dra. Marina

FIEMG (Federação das

Prof. Santiago Martin Iattar
Instituto de Ciências Biológicas/ Universidade Federal de Minas Gerais
ICB- UFMG

Profa. Erna Geessien Kroon
Coordenadora

Belo Horizonte, 28 de agosto de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Erna Geessien Kroon, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 28/08/2025, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vera Lucia dos Santos, Servidor(a)**, em 28/08/2025, às 18:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Santiago Martin Lattar, Professor do Magistério Superior**, em 28/08/2025, às 20:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marina Andrade Maria, Usuária Externa**, em 01/09/2025, às 14:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sergio Pagnin, Usuário Externo**, em 09/09/2025, às 16:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4503628** e o código CRC **F86463FD**.

Aos meus pais, Valdir e Maria Regina, por
me apoiarem em todos os momentos. A
todos familiares, amigos e aqueles que já
não estão aqui presentes.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus e Nosso Senhor Jesus Cristo pela oportunidade de cumprir esse desafio e objetivo em minha vida, por me dar forças nos momentos de dificuldade, mostrar qual caminho seguir e o que fazer em cada instante dessa jornada.

A toda minha família, em especial minha mãe Maria Regina, meu pai Valdir, meu irmão Vinícius por toda paciência, apoio, compreensão e por estarem sempre ao meu lado me dando forças para seguir sempre em frente.

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Vera Lúcia dos Santos, pela paciência, apoio e ensinamentos.

À Letícia, por me apresentar ao laboratório, pelo apoio, auxílio nas tarefas e experimentos, além de ser fundamental em todos os momentos ao longo deste desafio. À Aline, por toda ajuda, trabalho e paciência nesta caminhada, pelo apoio durante os dias em que estive presente no laboratório.

A todos os alunos e ex-alunos de iniciação científica, da pós-graduação do LMA, e a todos que ajudaram, em especial, à Ana Carolina, Giovanna, Guilherme e Gabriel, que sempre apoiaram e estiverem presentes ao longo desta caminhada.

A todos os professores do programa de pós-graduação do Departamento de Microbiologia que contribuíram com seus ensinamentos.

Aos técnicos e alunos do Laboratório de Limnologia, Ecotoxicologia e Ecologia Aquática – LIMNEA, e do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – DESA, e demais laboratórios que auxiliaram na realização dos ensaios físico-químicos.

A todos que de alguma forma contribuíram e me incentivaram com a realização deste trabalho;

Este trabalho foi realizado graças ao apoio e à oportunidade única proporcionada pela Petrobras, em especial aos profissionais do Centro de Pesquisas, Desenvolvimento e Inovação Leopoldo Américo Miguez de Mello (CENPES), as Refinarias de Paulínea (REPLAN) e Gabriel Passos (REGAP). Agradeço também à ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), pelo investimento de recursos provenientes das Cláusulas de PD&I, além da Fundação Cristiano Ottoni (FCO) pelo apoio financeiro.

*“A verdade deve ser dita com amor, mas o amor
nunca pode impedir a verdade de ser dita”*

- Santo Agostinho.

RESUMO

A corrosão na indústria petroquímica representa um problema significativo, acarretando perdas consideráveis de equipamentos, materiais e insumos, o que torna indispensável a busca por novas tecnologias de controle. Um tipo específico, a biocorrosão, é frequentemente observada em sistemas de resfriamento industrial. Ela ocorre devido ao contato direto de superfícies metálicas com a água de processo, combinado com condições favoráveis de temperatura e nutrientes que promovem o crescimento microbiano e a formação de biofilmes. Biofilmes são comunidades de microrganismos envoltos em uma matriz polimérica que lhes confere sustentação mecânica e proteção contra antibióticos, biocidas e variações ambientais. Essas estruturas favorecem a formação de depósitos, incrustações e corrosão, resultando em manutenções não planejadas e ineficiência na transferência de calor. O controle convencional, baseado em cloro gás e hipoclorito de sódio, apresenta desvantagens como corrosividade, toxicidade ambiental e seleção de microrganismos resistentes. Uma alternativa sustentável e promissora é a utilização de bacteriófagos e biossurfactantes. Os bacteriófagos, ou fagos, são vírus que infectam exclusivamente bactérias, podendo provocar a lise da célula hospedeira. Os biossurfactantes, por sua vez, são produtos do metabolismo microbiano com propriedades tensoativas e antimicrobianas. Este estudo avaliou a eficácia de bacteriófagos e biossurfactantes como alternativas sustentáveis para o controle de bactérias planctônicas e biofilmes, e sua influência na inibição da corrosão em um reator *rack by-pass*, um sistema que simula as condições encontradas em torres de resfriamento. Os testes foram conduzidos utilizando bactérias da coleção do Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA), isoladas de um sistema de resfriamento industrial, e fagos previamente isolados pelo grupo de pesquisa. Biocupons de aço inoxidável e policloreto de vinila (PVC) foram mantidos no sistema para monitoramento e quantificação de biofilmes em UFC/cm². Amostras de água foram coletadas periodicamente para avaliação da densidade bacteriana (UFC/mL), fagos (UFP/mL) e parâmetros físico-químicos. A corrosividade da água foi avaliada por perda de massa em cupons de aço-carbono e por sondas de resistência de polarização linear (LPR) e resistência elétrica (ER). O emprego de biossurfactantes foi avaliado para inibição e remoção de biofilmes em microplacas e no reator. Os testes foram conduzidos em água sintética e água de bacia de torre de resfriamento industrial demonstraram que os bacteriófagos reduziram significativamente a densidade bacteriana planctônica (62,3% em água sintética, 38,3% em água real) e a formação de biofilmes em cupons de PVC (57,7%) e aço inoxidável (41,7%), com eficácia de remoção de biofilmes de 67,43% em aço inox e 51,3% em PVC. O ramnolipídeo apresentou eficácia limitada no controle bacteriano e na remoção/inibição de biofilmes. Notavelmente, a combinação de fagos com produtos anticorrosivos reduziu a taxa de corrosão em aço-carbono em 95,47% (0,77 mpy), superando o controle com inibidores químicos (1,73 mpy). A radiação UV, avaliada para purga, inativou completamente fagos e bactérias nas doses testadas. Os resultados sugerem que a fagoterapia e a aplicação de biossurfactantes, isoladamente ou em combinação com produtos anticorrosivos, são abordagens promissoras para o controle microbiológico e a prevenção da corrosão sistemas de resfriamento industrial, oferecendo uma solução mais sustentável e eficiente.

Palavras-chave: Corrosão, Biofilmes, Bacteriófagos, Biossurfactantes, Fagos.

ABSTRACT

Corrosion in the petrochemical industry represents a significant problem, leading to considerable losses of equipment, materials, and inputs, which makes the search for new control technologies indispensable. A specific type, biocorrosion, is frequently observed in industrial cooling systems. It occurs due to the direct contact of metallic surfaces with process water, combined with favorable temperature and nutrient conditions that promote microbial growth and biofilm formation. Biofilms are communities of microorganisms enveloped in a polymeric matrix that provides them with mechanical support and protection against antibiotics, biocides, and environmental variations. These structures favor the formation of deposits, scaling, and corrosion, resulting in unplanned maintenance and inefficiency in heat transfer. Conventional control, based on chlorine gas and sodium hypochlorite, presents disadvantages such as corrosivity, environmental toxicity, and the selection of resistant microorganisms. A sustainable and promising alternative is the use of bacteriophages and biosurfactants. Bacteriophages, or phages, are viruses that exclusively infect bacteria, potentially causing the lysis of the host cell. Biosurfactants, in turn, are products of microbial metabolism with surfactant and antimicrobial properties. This study evaluated the effectiveness of bacteriophages and biosurfactants as sustainable alternatives for the control of planktonic bacteria and biofilms, and their influence on corrosion inhibition in a rack bypass reactor, a system that simulates conditions found in cooling towers. Tests were conducted using bacteria from the collection of the Laboratory of Applied Microbiology (LMA), isolated from an industrial cooling system, and phages previously isolated by the research group. Stainless steel and polyvinyl chloride (PVC) biocoupons were kept in the system for biofilm monitoring and quantification in CFU/cm². Water samples were collected periodically for evaluation of bacterial density (CFU/mL), phages (PFU/mL), and physicochemical parameters. Water corrosivity was assessed by mass loss in carbon steel coupons and by linear polarization resistance (LPR) and electrical resistance (ER) probes. The use of biosurfactants was evaluated for biofilm inhibition and removal in microplates and in the reactor. Tests conducted in synthetic water and industrial cooling tower basin water demonstrated that bacteriophages significantly reduced planktonic bacterial density (62.3% in synthetic water, 38.3% in real water) and biofilm formation on PVC (57.7%) and stainless steel (41.7%) coupons, with biofilm removal efficacy of 67.43% on stainless steel and 51.3% on PVC. Rhamnolipid showed limited efficacy in bacterial control and biofilm removal/inhibition. Notably, the combination of phages with anticorrosive products reduced the corrosion rate on carbon steel by 95.47% (0.7721 mpy), outperforming control with chemical inhibitors (1.7289 mpy). UV radiation, evaluated for purge, completely inactivated phages and bacteria at the tested doses. The results suggest that phage therapy and the application of biosurfactants, alone or in combination with anticorrosive products, are promising approaches for microbiological control and corrosion prevention in industrial cooling systems, offering a more sustainable and efficient solution.

Keywords: Corrosion, Biofilms, Bacteriophages, Biosurfactants, Phages.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema simplificado de um sistema de resfriamento industrial.....	25 -
Figura 2 – Sistemas de resfriamento fechado, com circulação de água.....	26 -
Figura 3 – Sistemas de resfriamento de circuitos abertos, sem circulação de água.....	26 -
Figura 4 – Sistemas de resfriamento semiabertos, com recirculação de água.	27 -
Figura 5 – Tipos de torres de resfriamento.	28 -
Figura 6 – Estrutura típica de trocadores de calor tubulares.	29 -
Figura 7 – Etapas da formação do biofilme.....	33 -
Figura 8 – Biofilme sobre a superfície de uma tubulação e formação de células de aeração diferencial.....	36 -
Figura 9 – Bacteriófagos: a) Microscopia do Escherichia phage vB_EcoM_C2-3; b) Representação da estrutura geral de um bacteriófago T4.....	40 -
Figura 10 – Multiplicação de bacteriófagos: ciclos lítico e lisogênico.	43 -
Figura 11 – Reator <i>rack by-pass</i> : a) Esquema representativo do reator rack by-pass; b) Reator rack by-pass com todos os equipamentos e componentes.....	55 -
Figura 12 – Cupons para monitoramento de biofilmes presentes no reator <i>rack by- pass</i> : (1) cupom de PVC e (2) aço inox AISI 316.	60 -
Figura 13 – Suporte com cupons para monitoramento de biofilmes no reator <i>rack by-pass</i>	61 -
Figura 14 – Corpo de prova em aço carbono AISI 1020 para o ensaio de imersão total e taxa de corrosão.....	74 -
Figura 15 – Esquema do sistema de desinfecção por UV. (a) Sistema de desinfecção por ultravioleta PLT1 Aqualight; (b) Dimensões do sistema de desinfecção; (c) Esquema da montagem do experimento.	76 -
Figura 16 – Agrupamento dos dados de densidade celular das diferentes espécies bacterianas e da densidade total presente nas linhas do sistema Rack by-pass utilizando software online Morpheus (https://software.broadinstitute.org/morpheus , Broad Institute).....	94 -
Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos cupons de Inox (10000x aumentada): A) tratamento 1 (sistema L1); B) tratamento 2 (sistema L2); C) tratamento 3 (sistema L3); D) Tratamento 4 (sistema L4).....	99 -
Figura 18 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos cupons de PVC (1000x aumentada): A) tratamento 1 (sistema L1); B) tratamento 2 (sistema L2); C) tratamento 3 (sistema L3); D) Tratamento 4 (sistema L4).....	100 -
Figura 19 – Sonda BioGeorge: a) Controlador do equipamento; b) Sonda de aço inoxidável após utilização no sistema.....	103 -
Figura 20 – Cupons de aço carbono AISI 1020 expostos aos seguintes tratamentos: 1 - Controle sem adição de produtos anticorrosivos; 2 - Controle com adição de produtos anticorrosivos; 3 - Ramnolípideo + produtos anticorrosivos; 4- Fagos + produtos anticorrosivos.	109 -

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Microrganismos encontrados em sistemas de resfriamento industrial.	- 30 -
Tabela 2 – Biocidas: modo de ação, vantagens e desvantagens.	- 38 -
Tabela 3 – Taxonomia dos fagos segundo a antiga classificação do ICTV.	- 41 -
Tabela 4 – Classificação dos biossurfactantes e alguns microrganismos produtores.	- 48 -
Tabela 5 – Descrição dos componentes do reator <i>Rack by-pass</i>	- 55 -
Tabela 6 – Composição química da água sintética.	- 56 -
Tabela 7 – Parâmetros de controle da água sintética utilizada nos ensaios.	- 57 -
Tabela 8 – Relação de produtos desincrustantes e dispersantes comercializados pela KURITA utilizados e dosagem a ser aplicada nos sistemas.	- 57 -
Tabela 9 – Ensaio físico-químico avaliados no reator <i>rack by-pass</i>	- 63 -
Tabela 10 – Índices LSI, RSI e PSI para estabilidade de água.	- 64 -
Tabela 11 – Bacteriófagos utilizados no experimento e os seus respectivos títulos.	- 65 -
Tabela 12 – Relação de bacteriófagos aplicados ao tratamento 4.	- 72 -
Tabela 13 – Relação de bacteriófagos aplicados ao tratamento 4 utilizando bacteriófagos adicionais e alterando-se a MOI dos fagos propostos.	- 73 -
Tabela 14 – Classificação das taxas de corrosão em aço carbono.	- 75 -
Tabela 15 – Relação da dose aplicada ao microrganismo e redução máxima observada	- 76 -
Tabela 16 – Viabilidade celular dos isolados bacterianos submetidos ao ramnolípido na concentração de 256 µg/mL.	- 82 -
Tabela 17 – Análise da Área Sob a Curva (AUC) dos diferentes tratamentos para BHT.	- 91 -
Tabela 18 – Parâmetros diversos usados para cálculo dos índices de estabilidade da água sintética ao início e finalização do experimento.	- 97 -
Tabela 19 – Análise da Área sob a curva (AUC) para o experimento com água da Replan.	- 105 -
Tabela 20 – Média dos parâmetros físico-químicos avaliados para os tratamentos.	- 107 -
Tabela 21 – Quantificação da perda de massa nos cupons de aço-carbono e taxa de corrosão.	- 109 -
Tabela 22 – Densidade das bactérias e título dos fagos utilizadas no ensaio de inativação por UV.	- 110 -

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Títulos dos fagos adicionados nos ensaios de estabilidade inicialmente e após incubação com os produtos anti-corrosivos, anti-incrustantes e biocidas testados.	81 -
Gráfico 2 – Tensão superficial em função da concentração do biossurfactante comercial.	83 -
Gráfico 3 – Monitoramento da remoção da comunidade bacteriana em biofilmes formados em cupons de aço inoxidável (A) e PVC (B) após o tratamento com fagos e cloro.	83 -
Gráfico 4 – Níveis de cloro residual observados no sistema Rack By-pass.	85 -
Gráfico 5 – Monitoramento das densidades de bactérias sésseis aderidas a cupons de PVC nos sistemas controle (L1) e tratados (L2, L3 e L4): A) Densidade de <i>P. aeruginosa</i> LMA-RLI17, B) <i>S. marcescens</i> LMA-PLA5, C) <i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1, D) <i>G. creatinolytic</i> LMA-BTR4, E) <i>S. maltophilia</i> LMA-94 e F) <i>Acinetobacter</i> sp. LMA-112, G) Total de bactérias.	86 -
Gráfico 6 – Monitoramento das densidades de bactérias sésseis aderidas a cupons de aço inoxidável nos sistemas controle (L1) e tratados (L2, L3 e L4): A) Densidade de <i>P. aeruginosa</i> LMA-RLI17, B) <i>S. marcescens</i> LMA-PLA5, C) <i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1, D) <i>G. creatinolytic</i> LMA-BTR4, E) <i>S. maltophilia</i> LMA-94; F) <i>Acinetobacter</i> sp. LMA-112 e G) Total de bactérias.	87 -
Gráfico 7 – Efeito de fagos e cloro no percentual de inibição da formação de biofilmes em cupons de PVC (A) e aço inox (B) em função dos respectivos controles.	89 -
Gráfico 8 – Densidade de bactérias heterotróficas totais (BHT) nos diferentes reatores ao longo de 35 dias do experimento.	91 -
Gráfico 9 – Monitoramento das diferentes espécies de bactérias no sistema controle (L1) e tratamentos (L2, L3 e L4) ao longo do experimento: A) Densidade da <i>P. aeruginosa</i> LMA-RLI17, B) <i>S. marcescens</i> LMA-PLA5, C) <i>G. creatinolyticus</i> LMA-BTR4, D) <i>S. maltophilia</i> LMA-94, E) <i>Acinetobacter</i> sp. LMA-112, e F) <i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1.	92 -
Gráfico 10 – Percentual de redução da densidade das diferentes espécies bacterianas na forma planctônica presentes nas linhas do sistema do Rack by-pass.	93 -
Gráfico 11 – Densidade de bacteriófagos totais nas linhas 2 (A) e linha 4 (B) e a MOI observada ao longo de 35 dias do experimento (C).	95 -
Gráfico 12 – Monitoramento da remoção de bactérias sésseis em cupons de aço inox e PVC: a) Densidade de bactérias sésseis (UFC/cm ²) em cupons de aço inoxidável; b) Densidade de bactérias sésseis (UFC/cm ²) em cupons de PVC.	101 -
Gráfico 13 – Monitoramento da inibição da formação de biofilmes: a) Densidade de bactérias sésseis totais (UFC/cm ²) em cupons de aço inoxidável ao longo do tempo; b) Densidade de bactérias sésseis (UFC/cm ²) em cupons de PVC ao longo do tempo; c) Percentual de redução de	

bactérias sésseis em cupons de aço inoxidável; d) Percentual de redução de bactérias sésseis em cupons de PVC.....	- 102 -
Gráfico 14 – Monitoramento da atividade de biofilmes através da sonda BioGeorge: a) Corrente gerada (μA); b) Corrente aplicada (μA).	- 103 -
Gráfico 15 – Avaliação da atividade de bactérias heterotróficas totais (B.H.T.): a) monitoramento da densidade bacteriana (UFC/mL); b) Percentual de redução da densidade bacteriana nos tratamentos em relação ao controle.	- 105 -
Gráfico 16 – Monitoramento de bacteriófagos em ensaio com água da REPLAN: A) Título dos fagos ao longo do experimento, após o período de recirculação. B) Índice de infecção viral (MOI) real.	- 106 -
Gráfico 17 – Efetividade da desinfecção por UV na inativação de microrganismos em efluente sintético: a) Densidade bacteriana (UFC/mL) presente no efluente sintético após exposição a diferentes doses de radiação ultravioleta; b) Títulos dos fagos (UFP/mL) presentes no efluente sintético após exposição a diferentes doses de radiação ultravioleta.	- 111 -

LISTA DE ABREVIATURAS

APHA	American Public Health Association
B.H.T	Bactérias Heterotróficas Totais
BFe	Bactérias Oxidantes de Ferro
BOE	Bactérias Oxidantes de Enxofre
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CI	Carbono Inorgânico
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLS	Lignossulfonato de Cálcio
CMC	Concentração Micelar Crítica
COT	Carbono Orgânico Total
cPVC	Policloreto de Vinila Clorado
CT	Carbono Total
D.O.	Densidade Óptica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EPS	Substância Polimérica Extracelular
ER	Resistência Elétrica
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
IQR	Intervalo Interquartil
LMA	Laboratório de Microbiologia Aplicada
LIMNEA	Laboratório de Limnologia, Ecotoxicologia e Ecologia Aquática
LPR	Resistência de Polarização Linear
LSI	Índice de Saturação de Langelier
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MIC	Corrosão Induzida Microbiologicamente (Microbiologically Influenced Corrosion)
MLM	Modelo Linear Misto
MOI	Multiplicidade de Infecção
NF/RO	Nanofiltração e Osmose Reversa
ORP	Potencial de Oxirredução
PSI	Índice de Incrustação de Puckorius
PVC	Policloreto de Vinila

REGAP	Refinaria Gabriel Passos
REPLAN	Refinaria de Paulínia
RSI	Índice de Estabilidade de Ryznar
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
TC	Taxa de Corrosão
TRH	Tempo de Retenção Hidráulica
UV	Ultravioleta
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFP	Unidades Formadoras de Placa
W	Perda de Massa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	- 22 -
2. JUSTIFICATIVA E PROBLEMA	- 24 -
3. REFERENCIAL TEÓRICO	- 25 -
3.1. SISTEMAS DE RESFRIAMENTO INDUSTRIAL	- 25 -
3.2. MICRORGANISMOS PRESENTES EM SISTEMAS DE RESFRIAMENTO.....	- 29 -
3.3. BIOFILMES	- 31 -
3.4. CORROSÃO MICROBIOLÓGICA EM SISTEMAS DE RESFRIAMENTO	- 34 -
3.5. CONTROLE MICROBIOLÓGICO – MÉTODOS CONVENCIONAIS	- 37 -
3.5.1. Biocidas oxidantes e não-oxidantes	- 37 -
3.6. CONTROLE MICROBIOLÓGICO – MÉTODOS ALTERNATIVOS.....	- 39 -
3.6.1. Fagoterapia.....	- 39 -
3.6.2. Biossurfactantes	- 47 -
3.6.3. Outros métodos alternativos de controle microbiológico.....	- 50 -
4. OBJETIVOS	- 53 -
4.1. OBJETIVO GERAL	- 53 -
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	- 53 -
5. METODOLOGIA.....	- 54 -
5.1. OPERAÇÃO DO REATOR <i>RACK BY-PASS</i>	- 54 -
5.1.1. Aparato experimental e operacionalidade do sistema	- 54 -
5.1.2. Composição da água sintética	- 56 -
5.1.3. Emprego de produtos anticorrosivos	- 57 -
5.1.4. Inóculo bacteriano, propagação e titulação de bacteriófagos	- 58 -
5.1.5. Parâmetros microbiológicos avaliados nos ensaios	- 59 -
5.1.6. Monitoramento de parâmetros físico-químicos do sistema.....	- 62 -
5.2. EFEITO DA ESTABILIDADE DOS BACTERIÓFAGOS UTILIZADOS NOS ENSAIOS DE CONTROLE MICROBIANO FRENTE AOS PRODUTOS ANTICORROSIVOS, DISPERSANTES E BIOCIDA (HIPOCLORITO DE SÓDIO) UTILIZADOS EM TORRE DE RESFRIAMENTO.....	- 65 -
5.3. ENSAIOS DE AÇÃO ANTIMICROBIANA E DETERMINAÇÃO DA CURVA MICELAR CRÍTICA – (CMC) DO BIOSSURFACTANTE RAMNOLIPÍDEO.....	- 66 -
5.3.1. Avaliação de efeito inibitório em microplaca de 96 poços e em reator <i>rack by-pass</i>	- 66 -
5.3.2. Determinação da concentração micelar crítica – CMC.....	- 66 -

5.4. OPERAÇÃO DO REATOR RACK BY-PASS COM USO DE ÁGUA SINTÉTICA: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE BACTERIÓFAGOS E CLORO NO CONTROLE BACTERIANO, REMOÇÃO E INIBIÇÃO DO BIOFILME.	67 -
5.4.1. Delineamento e procedimento experimental.....	67 -
5.4.2. Microrganismos utilizados no experimento	68 -
5.4.3. Avaliação de fagos e cloro na remoção de biofilmes formados em cupons de aço inox e de PVC.	68 -
5.4.4. Avaliação de fagos e cloro na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e de PVC.	69 -
5.4.5. Análise microscópica do biofilme formado em cupons de aço inox e de PVC.....	70 -
5.5. OPERAÇÃO DO REATOR EM ESCALA PILOTO COM O USO DE ÁGUA DE BACIA DA TORRE DE RESFRIAMENTO DA REPLAN: TESTE DA EFICÁCIA DE FAGOS E RAMNOLIPÍDEO NO CONTROLE BACTERIANO, REMOÇÃO E INIBIÇÃO DO BIOFILME; AVALIAÇÃO DA CORROSÃO NOS TRATAMENTOS.....	70 -
5.5.1. Delineamento e procedimento experimental.....	70 -
5.5.2. Avaliação de fagos e biossurfactantes na remoção de biofilmes formados em cupons de aço inox e cupons de PVC.....	71 -
5.5.3. Avaliação de fagos e biossurfactante na inibição de biofilmes em cupons de aço inox e cupons de PVC.	72 -
5.5.4. Avaliação da corrosão: Ensaio de imersão total e taxa de corrosão.	73 -
5.6. AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DA INATIVAÇÃO DE FAGOS E BACTÉRIAS PRESENTES NA ÁGUA SINTÉTICA PURGADA DO SISTEMA POR MEIO DA EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV).....	75 -
5.6.1. Aparato experimental e parâmetros operacionais	75 -
5.4.1.1 Cálculo das doses e operação do reator.....	77 -
5.7. TESTES ESTATÍSTICOS	79 -
6. RESULTADOS	81 -
6.1. EFEITO DE PRODUTOS DOSEADOS EM TORRE DE RESFRIAMENTO NA ESTABILIDADE DE FAGOS EM USO NOS ENSAIOS DE CONTROLE MICROBIANO	81 -
6.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DO BIOSURFACTANTE EM PLACA DE 96 POÇOS E DEFINIÇÃO DA CURVA MICELAR CRÍTICA – CMC.....	82 -
6.2.1. Avaliação do biossurfactante em placa de 96 poços	82 -
6.2.2. Determinação da curva micelar crítica (CMC) do ramnolipídeo comercial.....	82 -

6.3. AVALIAÇÃO DO USO DE BACTERÍOFAGOS E CLORO NO CONTROLE MICROBIANO EM REATOR <i>RACK BY-PASS</i> ALIMENTADO COM ÁGUA SINTÉTICA.....	- 83 -
6.3.1. Avaliação de fagos e cloro na remoção de biofilmes	- 83 -
6.3.2. Avaliação de fagos e cloro na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e de PVC	- 85 -
6.3.3. Monitoramento de bactérias planctônicas e fagos no sistema.....	- 90 -
6.3.4. Parâmetros físico-químicos e índices de estabilidade da água.	- 96 -
6.3.5. Análise microscópica do biofilme formado em cupons de aço inox e PVC.....	- 98 -
6.4. TESTE DA EFICÁCIA DE FAGOS E RAMNOLIPÍDEO NO CONTROLE BACTERIANO NO REATOR <i>RACK BY-PASS</i> COM O USO DE ÁGUA DE BACIA DA TORRE DE RESFRIAMENTO DA REPLAN.	- 101 -
6.4.1. Avaliação de fagos e biossurfactante na remoção de biofilmes formado em cupons de aço inox e cupons de PVC.	- 101 -
6.4.2. Avaliação de fagos e biossurfactante na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e cupons de PVC.....	- 101 -
6.4.3. Monitoramento da atividade do biofilme através da sonda BioGeorge.	- 102 -
6.4.4. Monitoramento de bactérias planctônicas e bacteriófagos no sistema rack by-pass utilizando água da bacia da torre REPLAN.....	- 104 -
6.4.5. Monitoramentos dos parâmetros físico-químicos dos tratamentos propostos	- 107 -
6.4.6. Avaliação da corrosão e perda de massa nos sistemas tratados por bacteriófagos e para o sistema sem tratamento.	- 108 -
6.5. EFETIVIDADE DA RADIAÇÃO UV NA INATIVAÇÃO DE FAGOS E BACTÉRIAS PRESENTES NA ÁGUA DE PURGA DO REATOR <i>RACK BY-PASS</i>	- 110 -
7. DISCUSSÃO.....	- 112 -
8. CONCLUSÃO.....	- 122 -
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	- 124 -
APÊNDICE – RESULTADOS ESTATÍSTICOS	- 142 -

1. INTRODUÇÃO

Na indústria petroquímica, a corrosão representa uma ameaça significativa para as estruturas e maquinários, incluindo os sistemas de resfriamento industrial, comprometendo a eficiência operacional e onerando custos de produção e manutenção (GENTIL, 1996; KURITA, 1999). Diante desse cenário, e buscando mitigar tais impactos, a busca por novas tecnologias e métodos de controle da corrosão tornaram-se essenciais para otimizar os processos industriais e reduzir custos nesse setor.

Um dos fatores que intensificam os processos corrosivos, particularmente em sistemas de resfriamento industrial, é a propagação microbiana. As condições operacionais das torres de resfriamento, que fazem parte dos sistemas de resfriamento industrial, proporcionam um ambiente propício para o desenvolvimento e proliferação de microrganismos tanto planctônicos quanto sésseis. Fatores como pH, temperatura, luminosidade e disponibilidades de nutrientes favorecem esse processo (VEIGA *et al.*, 2010). Consequentemente, a interação de peças metálicas, presentes nas torres, com água utilizada nos processos de resfriamento pode resultar na formação dos biofilmes. Estes, por sua vez, são aglomerados de microrganismos que coabitam um mesmo ambiente, envoltos numa matriz polimérica composta, principalmente, por polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios secretados por eles, que dá sustentação mecânica a este microecossistema (FLEMMING *et al.*, 2016).

A relevância desses biofilmes reside em sua capacidade de desencadear processos corrosivos nos metais - fenômeno denominado biocorrosão, que é extremamente indesejável nos processos petroquímicos. Tais problemas podem demandar manutenções não programadas, perda de insumos, ineficiência do processo de troca térmica, perda de carga, dentre outros (GENTIL, 1996).

Desse modo, a busca por medidas de controle que impeçam, ou pelo menos dificultem, a formação de biofilmes, é essencial para o correto funcionamento dos sistemas de resfriamento.

Tradicionalmente, nesse setor, o controle da microbiota baseia-se na utilização de biocidas oxidantes, como o cloro gasoso, hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio. Tais produtos são capazes de promover o controle da população bacteriana planctônica, prevenir ou reduzir formação de biofilmes, apresentando

vantagens como o baixo custo, eficácia e baixa toxicidade quando manipulados. Entretanto, também podem apresentar desvantagens, tais como a seleção de microrganismos mais resistentes, o potencial efeito corrosivo, e a necessidade de utilização de inibidores de corrosão (LUCCHESI, 2006).

Como alternativa à utilização de biocidas para o controle microbiológico nas torres de resfriamento, está o emprego de bacteriófagos e biossurfactantes. Os bacteriófagos, ou fagos, são vírus que apresentam como hospedeiras células bacterianas, podendo em seu ciclo de multiplicação promover a lise dessas células. Essa é a base da fagoterapia, tecnologia com aplicações que vão desde o tratamentos de bactérias patogênicas na clínica médica, a controle de patógenos na agropecuária, aquicultura e diversos setores industriais, com a vantagem desses vírus serem inofensivos aos animais e plantas, específicos de seu hospedeiro, serem relativamente baratos e fáceis de produzir e resistirem a condições adversas nos ambientes, dentre outros (BATALHA, 2017; NECA *et al.*, 2022). Já os biossurfactantes são produzidos a partir do metabolismo microbiano, possuindo propriedades tensoativas, antimicrobianas, apresentando baixa toxicidade e biodegradabilidade. São capazes de interagir com a membrana plasmática, podendo desestabilizá-la, ou mesmo causar sua ruptura, apresentando, desta maneira, propriedades antimicrobianas e também possuem ação dispersante contra os biofilme (ARAUJO; FREIRE; NITSCHKE, 2013; BALLEZA; ALESSANDRINI; GARCÍA, 2019; SILVA, 2021).

Desta maneira, busca-se, neste estudo, avaliar a eficácia de duas estratégias biotecnológicas aplicadas a torres de resfriamento da indústria petroquímica: a utilização de bacteriófagos para remoção e inibição de biofilmes, e a aplicação de biossurfactantes com finalidade equivalente. Adicionalmente, propõe-se investigar o potencial dessas abordagens na mitigação de processos corrosivos inerentes a esses sistemas.

2. JUSTIFICATIVA E PROBLEMA

O controle de microrganismos em sistemas de resfriamento industrial é fundamental para a redução da ocorrência de corrosão nas estruturas metálicas desses sistemas. A formação de biofilmes nesse ambiente favorece a biocorrosão, o que pode acarretar problemas, como o aumento no custo operacional, redução na eficiência energética e redução da vida útil dos equipamentos. Tradicionalmente, biocidas convencionais como o hipoclorito de sódio e gás cloro são empregados para controlar a população de microrganismos nas torres de resfriamento, contribuindo, também, para a redução da biocorrosão. No entanto, o uso prolongado desses agentes apresenta limitações importantes: além de favorecerem a seleção de microrganismos resistentes, eles podem agravar a corrosão das estruturas metálicas, mesmo na presença de inibidores de corrosão, e gerar subprodutos tóxicos que demandam tratamento adicional. Neste contexto, a busca por novas tecnologias que possibilitem a redução ou inibição completa da formação dos biofilmes, e, consequentemente, a redução da corrosão, tornaram-se prioridades na indústria petroquímica. Dentre essas tecnologias promissoras, destacam-se a utilização dos bacteriófagos e de biossurfactantes. Os fagos, vírus específicos para bactérias, possuem elevada seletividade e capacidade de lise bacteriana sem impactar negativamente o meio ambiente ou bactérias não-alvo. Já os biossurfactantes, moléculas produzidas por microrganismos com propriedades tensoativas, podem interferir na adesão celular e na formação de biofilmes, além de apresentarem atividade antimicrobiana e são biodegradáveis. O emprego dessas duas abordagens pode oferecer um controle mais eficiente e direcionado das comunidades microbianas, contribuindo para a inibição da formação de biofilmes e, consequentemente, para a mitigação da biocorrosão. Dessa forma, o presente trabalho propõe o uso de fagos e biossurfactantes como uma solução inovadora para o controle microbiológico em torres de resfriamento da indústria petroquímica. Além do potencial de aumentar a vida útil dos equipamentos por meio da redução dos biofilmes e corrosão, bem como a redução dos custos operacionais e paradas para manutenção, essa estratégia representa uma alternativa mais ecológica e menos tóxica em relação aos biocidas tradicionais.

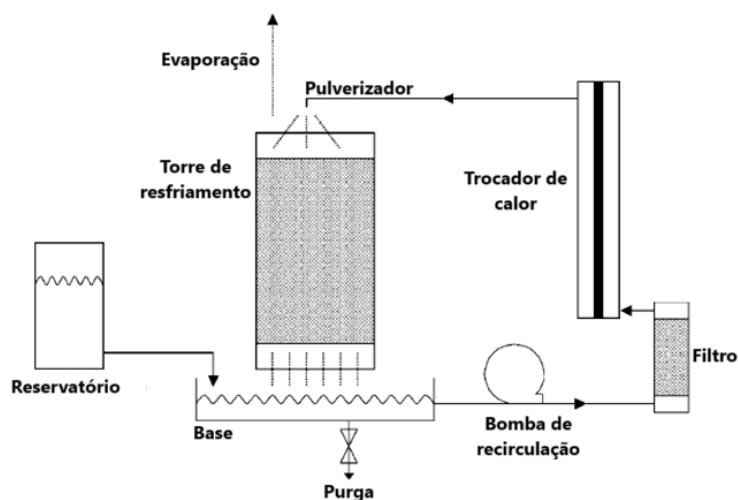
3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Sistemas de resfriamento industrial

Os sistemas de resfriamento industrial (Figura 1) são caracterizados por um conjunto de constituintes essenciais, tais como controladores de temperatura, bombas de recirculação, reservatórios, e mais proeminentemente, as torres de resfriamento e trocadores de calor. Esses equipamentos são utilizados para promover a troca térmica, isto é, a remoção de calor de um fluido e sua transferência para outro. Nas operações industriais o fluido mais comumente utilizado para a absorção do calor gerado nos processos é a água, uma vez que apresenta elevada condutividade térmica, baixa viscosidade, podendo absorver elevadas quantidades de calor por unidade de volume (GENTIL, 1996; VEIGA, 2010).

Os sistemas de resfriamento podem ser classificados em três categorias distintas: abertos, fechados e semiabertos. A aplicação de cada categoria depende do tipo de processo empregado; temperatura, qualidade, custo e disponibilidade da água; limitações ambientais para descarte de efluentes; dentre outros (MACHADO, 2004).

Figura 1 – Esquema simplificado de um sistema de resfriamento industrial.

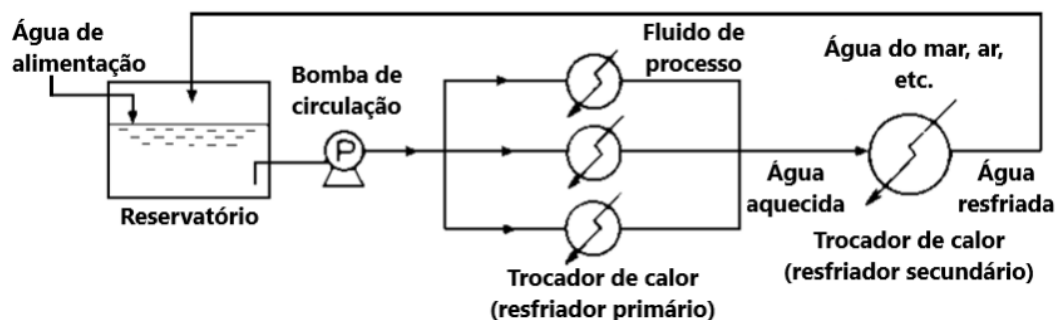


Fonte: MEESTERS; VAN GROENESTIJN; GERRITSE, 2003.

Os sistemas fechados (Figura 2) são caracterizados, como o próprio nome sugere, por uma circulação de água em uma estrutura vedada, sem exposição à atmosfera e, conseqüentemente, sem a ocorrência do processo evaporativo. Esses sistemas demandam um volume menor de água na operação e há uma quantidade reduzida de perdas, sendo a principal delas atribuída a vazamentos. Além disso,

apresentam a vantagem de não haver concentração de sais, requerem uma reposição menor de produtos químicos, e não apresentam problemas significativos de depósitos e incrustações (MACHADO, 2004; BOTT, 2011; VICENTE, 2018).

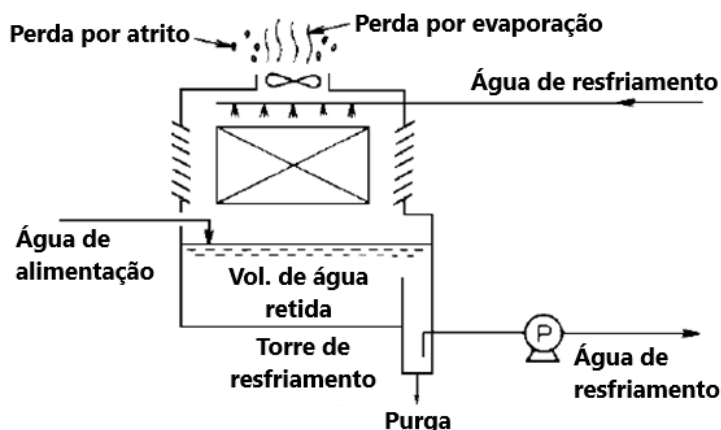
Figura 2 – Sistemas de resfriamento fechado, com circulação de água.



Fonte: adaptado de KURITA, 1999.

Em sistemas abertos de resfriamento industrial (Figura 3), a água utilizada no processo é descartada imediatamente após a realização da troca térmica, resultando em um alto volume de água demandado. Além do alto consumo de água, esses sistemas apresentam desvantagens relacionadas a elevada quantidade de produtos químicos para o tratamento da corrosão e incrustação; impactos ambientais negativos decorrentes do descarte excessivo de água e desequilíbrio térmico nos sistemas aquáticos receptores (MACHADO, 2004; VICENTE, 2018).

Figura 3 – Sistemas de resfriamento de circuitos abertos, sem circulação de água.

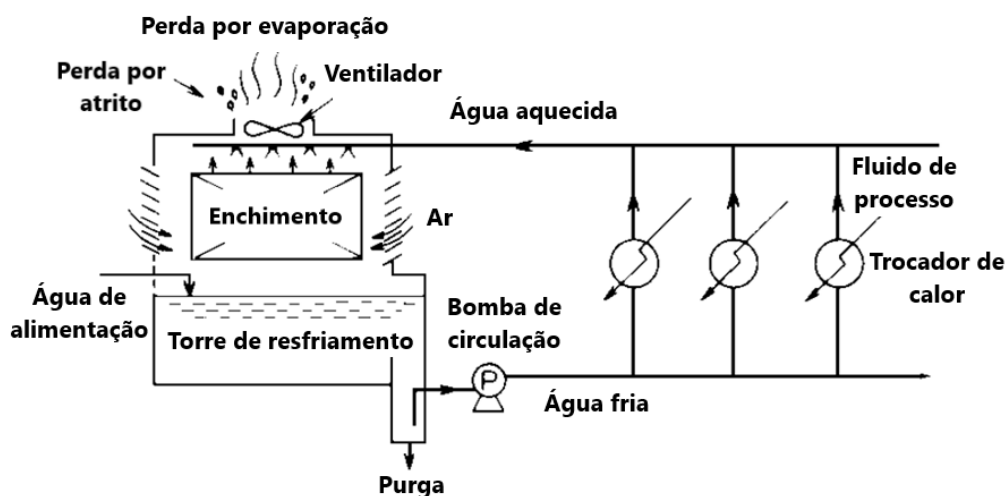


Fonte: adaptado de KURITA, 1999.

Os sistemas semiabertos, também denominados sistemas abertos com recirculação de água, como o ilustrado na Figura 4, otimizam o uso do recurso hídrico,

uma vez que a água aquecida nos trocadores de calor cede seu calor às torres de resfriamento, liberando energia térmica. A água resfriada então retorna aos trocadores de calor, reiniciando o ciclo de forma eficiente e sustentável. Essa configuração é particularmente vantajosa quando há uma alta demanda por água, podendo resultar em uma economia de até 47,5% do consumo em comparação com sistemas abertos (MACHADO, 2004; VEIGA, 2010).

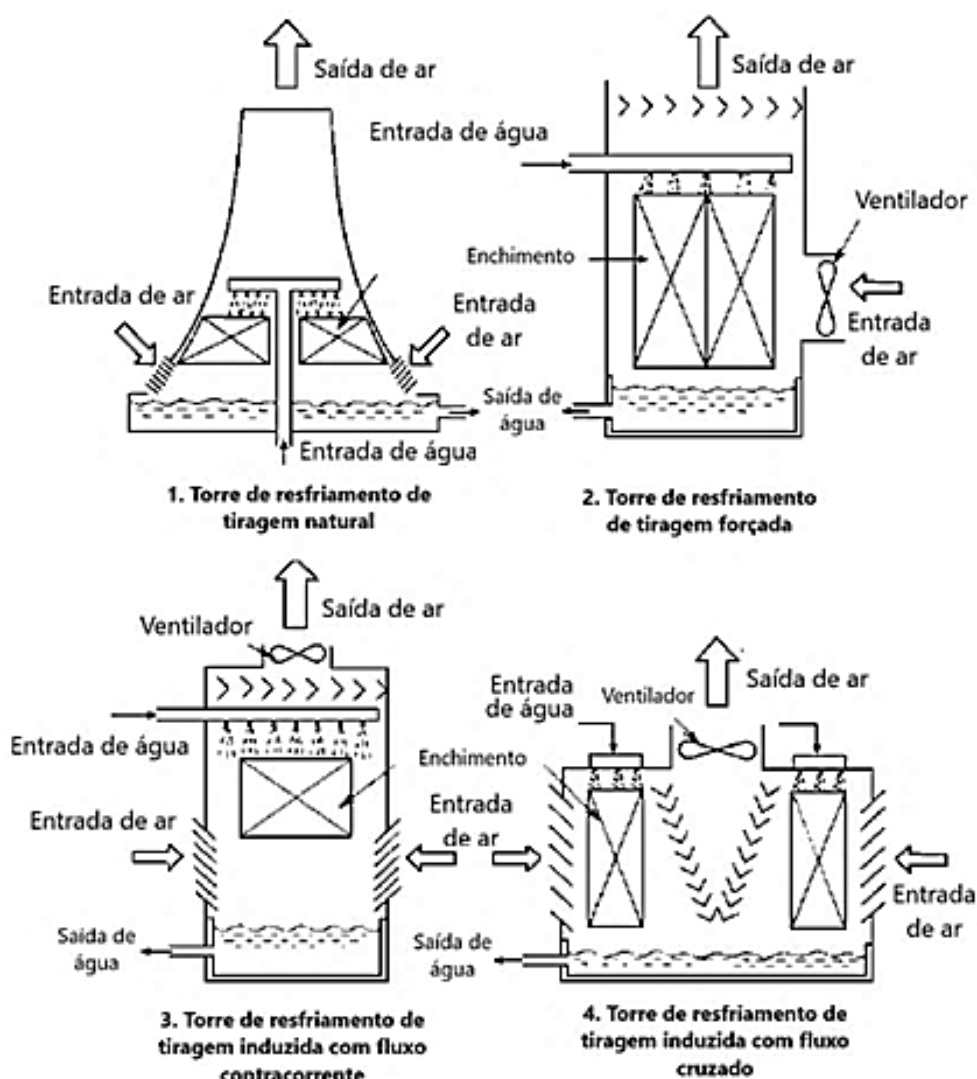
Figura 4 – Sistemas de resfriamento semiabertos, com recirculação de água.



Fonte: adaptado de KURITA, 1999.

Na indústria petroquímica, as torres de resfriamento são empregadas para a refrigeração da água utilizada em processos de troca térmica, que após a passagem por trocadores de calor necessita de uma redução de sua temperatura para serem reintegradas ao sistema (VICENTE, 2018). Esses equipamentos podem ser categorizados em dois grupos principais (Figura 5), sendo eles: torres de resfriamento de tiragem natural, onde o ar que alimenta o sistema é fornecido por convecção natural e torre de resfriamento de tiragem mecânica, onde o ar é fornecido mecanicamente para o sistema (KURITA, 1999). A categoria de tiragem mecânica abrange as torres de tiragem forçada, nas quais o sistema de ventilação está localizado na entrada do ar, e as de tiragem induzida, onde o ventilador é posicionado na zona de descarga do ar (VEIGA, 2010). Ainda podem ser classificadas em contracorrente, na qual o ar se move em oposição ao fluxo descendente de água e de corrente cruzada, onde o ar flui horizontalmente através do fluxo descendente de água (KURITA, 1999; COSTA *et al.*, 2020).

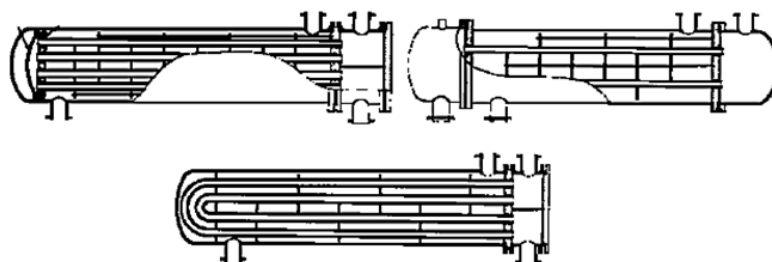
Figura 5 – Tipos de torres de resfriamento.



Fonte: adaptado de KURITA, 1999.

Os trocadores de calor, por sua vez, operam o processo de troca térmica entre dois fluidos que estão em diferentes temperaturas e se encontram separados por uma parede sólida (VICENTE, 2018). Os trocadores de calor presentes nos sistemas de resfriamento podem ser produzidos em diversos materiais, como o aço e cobre; e em diferentes configurações, sendo os tipos mais comuns os tubulares (Figura 6), tubo duplo, compactos, casco e tubos, placa e quadro, e regeneradores (KURITA, 1999; COSTA *et al.*, 2020).

Figura 6 – Estrutura típica de trocadores de calor tubulares.



Fonte: adaptado de KURITA, 1999.

3.2. Microrganismos presentes em sistemas de resfriamento

Os microrganismos comumente encontrados em sistemas de resfriamento correspondem as algas, bactérias e fungos (SAMIMI, 2013). Normalmente, nos sistemas abertos, as bactérias aeróbias estritas e facultativas são tipos predominantes; embora bactérias anaeróbias podem ser encontradas em nichos específicos, como o interior de biofilmes (MITSUYA, 2018; TEWARI; MEHTA; VAISHNAV, 2019). Os sistemas de resfriamento industrial fornecem um ambiente oportuno para o desenvolvimento de microrganismos devido a aeração da água, exposição à luz solar, estagnação de água, pH e temperatura favoráveis (GENTIL, 1996).

Os microrganismos têm acesso aos sistemas de resfriamento por duas vias: carregados pelo fluxo de ar que atravessa o sistema e pela água de abastecimento (SAMIMI, 2013; MITSUYA, 2018). Além disso, os produtos químicos utilizados no tratamento da água utilizada nesses sistemas, como desincrustantes e inibidores de corrosão a base de zinco, podem fornecer nutrientes que aceleram o crescimento microbiano (LIU *et al.*, 2009).

Em estudos conduzidos por Kokilaramani e colaboradores (2024), foi identificada uma comunidade microbiana diversificada na água utilizada em sistemas de resfriamento, incluindo representantes dos gêneros *Pseudomonas*, *Aerogenes*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*, *Streptomyces*, *Collinsella*, *Olsenella*, *Eggerthella*, *Baekduia*, *Clostridioides*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Xanthobacter*, *Erythrobacter*, *Sulfuritalea*, *Acinetobacter*, *Sulfurivermis*, *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfotomaculum*, *Geobacter*, *Bacteroides*, *Fibrobacter*, *Pseudorhodoplanes*, *Nitrospira*, *Fimbriimonas*, *Flavobacterium*, *Clostridium* e *Staphylococcus*. Adicionalmente, bactérias do gênero *Legionella* são comumente

relatadas nas torres de resfriamento, demandando uma atenção especial, pois diversas espécies bacterianas deste gênero, como a *Legionella pneumophila*, apresentam relevante interesse clínico, por serem associadas à doença do legionário, uma forma grave de pneumonia (MOUCHTOURI *et al.*, 2010). Outras bactérias encontradas nas torres de resfriamento e que podem ocasionar problemas operacionais incluem, além dos gêneros já mencionados, *Desulfovibrio*, *Aerobacter*, *Arthrobacter*, *Proteus*, *Nitrobacter* e *Massilia* (BOTT, 2011; ARULIAH; TING, 2014; MITSUYA, 2018).

As algas, por sua vez, são encontradas nas bacias das torres de resfriamento *top deck*, que apresentam alta incidência de luz, sendo seus representantes mais comuns os gêneros *Cladophora*, *Chorella*, *Cosmarium* e outros (LUDENSKY, 2005; TEWARI; MEHTA; VAISHNAV, 2019). Já os fungos são encontrados com menor frequência nesses ambientes, em comparação aos grupos citados (SAMIMI, 2013). Foi relatada a presença de fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Lenzites* e *Fusarium* além das leveduras dos gêneros *Saccharomyces* e *Torula* (KADAIFCILER; DEMIREL, 2017). A presença desses fungos no sistema de resfriamento pode contribuir para o acúmulo de matéria orgânica e outras substâncias com potencial de impactar significativamente a qualidade da água (WANG *et al.*, 2023). A Tabela 1 apresenta alguns microrganismos encontrados em sistemas de resfriamento industrial, correlacionando com as suas condições de crescimento, como pH e temperatura, e sua implicação nos sistemas.

Tabela 1 – Microrganismos encontrados em sistemas de resfriamento industrial.

Microrganismo	Grupo	Exemplos	Condições de crescimento		Implicação
			Temp. (°C)	pH	
Bactéria	Formadoras de biofilme	<i>Aerobacter</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Pseudomonas</i>	15 – 65	4,0 – 9,0	Formação de biofilme, redução da troca térmica, corrosão
	Oxidantes de enxofre	<i>Thiobacillus</i>	15 – 40	1,0 – 6,0	Produção de ácidos, corrosão
	Redutoras de sulfato	<i>Desulfovibrio</i>	25 – 60	5,5 – 8,5	Corrosão
	Oxidantes de ferro	<i>Galionella</i> <i>Crenothrix</i> <i>Leptothrix</i>	10 – 30	5,5 – 8,0	Formação de depósitos
	Formadoras de esporos	<i>Bacillus</i>	15 – 65	5,0 – 9,0	Formação de esporos de difícil eliminação

Algas	Filamentosas	<i>Sphaerotilus</i>	15 – 45	5,5 – 9,0	Redução da taxa de transferência de calor
	Cianobactérias	<i>Oscillatoria</i> <i>Phormidium</i> <i>Lyngbya</i>	20 – 55	5,5 – 9,5	Redução da taxa de transferência de calor
	Verdes	<i>Stigeoclonium</i> <i>Ulotrix</i> <i>Chorella</i>	15 – 50	5,5 – 9,5	Problemas com a distribuição de água
	Diatomáceas	<i>Nitzshia</i> <i>Navicula</i> <i>Fragilaria</i>	10 – 45	5,5 – 9,5	Adsorção de biocidas
Fungos	Basidiomicetos	<i>Lenzites</i>	0 – 40	2,0 – 8,0	Danos estruturais em estruturas de madeira
	Filamentosos	<i>Aspegillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Fusarium</i>	0 – 40	2,0 – 8,0	Formação de Biofilme
	Leveduras	<i>Saccharomyces</i> <i>Torula</i>	0 – 40	2,0 – 8,0	Formação de Biofilme

Fonte: adaptado de LUDENSKY, 2005; XU *et al.*, 2012; MITSUYA, 2018.

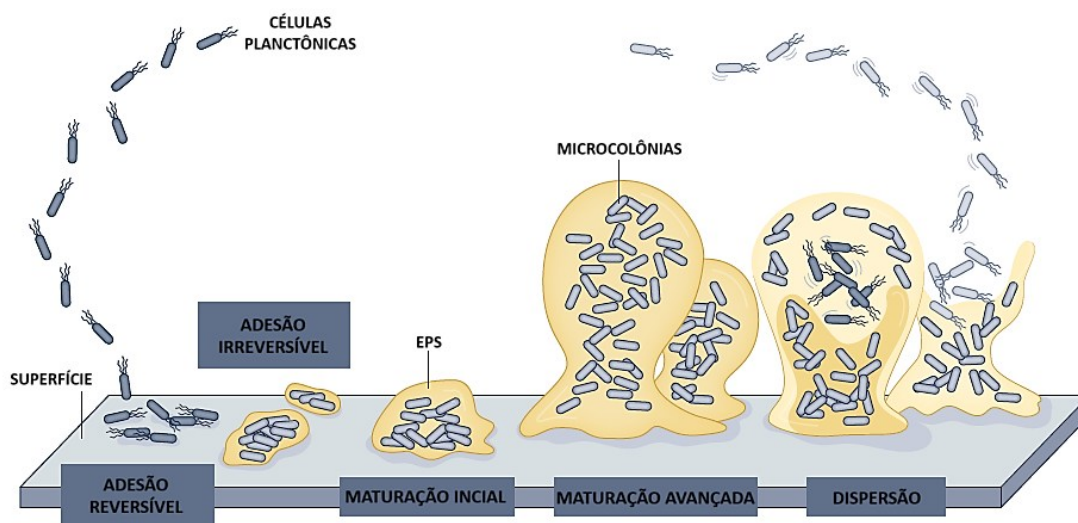
3.3. Biofilmes

Os biofilmes podem ser definidos como comunidades microbianas formadas, principalmente, por espécies de bactérias, protozoários e fungos, incorporadas em uma matriz autogerada composta sobretudo por substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substance* – EPS), geralmente aderidas a um substrato (RAO, 2015; FLEMMING *et al.*, 2016). Os EPS consistem em longas cadeias de polissacarídeos, DNA, proteínas e outras macromoléculas, que formam matrizes de hidrogel (FLEMMING, 2002). A matriz possui como principais propriedades a captura e retenção de substâncias solúveis e particuladas, a imobilização de enzimas extracelulares, além de funcionar como um reservatório de nutrientes, provendo uma fonte de carbono, nitrogênio e fósforo para a comunidade do biofilme (TOTÉ *et al.*, 2010; FLEMMING *et al.*, 2016). Fornece também, proteção aos microrganismos contra uma série de condições desfavoráveis como a presença de detergentes, antibióticos, e outros fatores prejudiciais à microbiota (VERT *et al.*, 2012; HARPER *et al.*, 2014; KANEMATSU; BARRY, 2020).

Os biofilmes consistem em comunidades complexas e dinâmicas cuja composição pode-se alterar no decorrer do tempo (DAVEY; O'TOOLE, 2000; APARNA; YADAV, 2008). Tal mudança pode ser ocasionada por fatores como a disponibilidade de nutrientes, variações de temperatura e pH, que resultam na ocorrência de vários tipos de interações microbianas, como mutualismo, comensalismo, amensalismo, parasitismo, predação e neutralismo (LUDENSKY,

2005; BOTT, 2011; TOLKER-NIELSEN, 2015; KANEMATSU; BARRY, 2020). Além disso, a motilidade bacteriana desempenha um papel essencial no desenvolvimento dos biofilmes, principalmente nas fases iniciais, auxiliando as células a migrarem para locais favoráveis à adesão. Durante a maturação do biofilme, essa motilidade tende a diminuir, enquanto se intensifica a produção da matriz polimérica. Além disso, a motilidade pode contribuir para modificações estruturais na matriz do biofilme, permitindo que microrganismos migrem em resposta a variações nas condições nutricionais ou ambientais (TEUGHEL *et al.*, 2006; TOLKER-NIELSEN, 2015). O desenvolvimento de biofilmes é característico de espécies específicas e influenciado por condições ambientais, podendo ser estabelecido por múltiplos mecanismos metabólicos e estruturais (TOLKER-NIELSEN, 2015). Em geral, a formação dos biofilmes tem início com o contato de bactérias planctônicas com uma superfície, seguido por uma série de etapas sequenciais (Figura 7). A primeira delas, a adesão inicial, consiste no condicionamento da superfície, ocorrendo alterações que facilitam a adesão e colonização microbiana, podendo ser um processo reversível (SAUER *et al.*, 2022). Nessa etapa, as bactérias planctônicas presentes no meio são transportadas para uma região próxima à superfície através de movimento Browniano ou convectivo, podendo ser imobilizadas no substrato por meio de interações fracas (ligações de Lifshitz-Van der Waals) que podem ser facilmente quebradas (RAO, 2015; ROCHA, 2015; KANEMATSU; BARRY, 2020). A etapa subsequente caracteriza-se pela adesão irreversível dos microrganismos à superfície que será colonizada, ocorrendo a transição de uma interação celular fraca com o substrato para uma ligação permanente, mediada por ligações covalentes e de hidrogênio entre os componentes da superfície celular microbiana e a superfície que está sendo colonizada (STOODLEY *et al.*, 2002; RAO, 2015). Em seguida, há a fase que engloba o crescimento e a divisão celular, a qual corresponde ao período de maturação inicial do biofilme e a etapa de maturação avançada, na qual ocorre a secreção de EPS, adesão de outros microrganismos e formação do biofilme maduro (LUCCHESI, 2006; KANEMATSU; BARRY, 2020). Por fim, a etapa de dispersão, que está associada à quebra e degradação dos componentes da matriz do biofilme, envolvendo a liberação de microcolônias e células individuais dele para colonização de novas superfícies (SAUER *et al.*, 2022).

Figura 7 – Etapas da formação do biofilme.



Fonte: Adaptado de SAUER *et al.*, 2022.

A formação e o desenvolvimento de biofilmes são influenciados por uma série de fatores físicos, químicos e biológicos. Entre os principais estão as temperaturas do ambiente e do sistema, a taxa de fluxo de água na superfície, a disponibilidade de nutrientes e a rugosidade do material da superfície, que pode facilitar ou dificultar a adesão microbiana (COETSER; CLOETE, 2005). Outro fator importante é o pH do meio, com valores próximos a neutralidade favorecendo o desenvolvimento do biofilme (COETSER; CLOETE, 2005). Além disso, a síntese e secreção de material extracelular e a competição entre as espécies microbianas presentes também desempenham um papel essencial nesse processo (LUDENSKY, 2005; FLEMMING *et al.*, 2016). A presença de material particulado no ambiente, adicionalmente, pode ser um fator crítico, pois essas partículas podem se prender ao biofilme em formação, fornecendo novos pontos de ancoragem das células favorecendo o crescimento (COETSER; CLOETE, 2005).

Como já mencionado anteriormente, as torres de resfriamento criam um ambiente propício para a formação de biofilmes, uma vez que apresentam grandes superfícies em contato direto com água circulante e estagnada, como as paredes das tubulações, eliminadores de gotas e os materiais de enchimento das torres (LUDENSKY, 2005; WANG *et al.*, 2023). A presença de biofilmes nesses ambientes pode causar prejuízos econômicos e operacionais, principalmente, devido à redução da troca térmica e ao aumento dos processos corrosivos, além do aumento da perda

de carga nos sistemas (BOTT, 1992; PAGNIER; MERCHAT; LA SCOLA, 2009; DIAS, 2014).

3.4. Corrosão microbiológica em sistemas de resfriamento

A corrosão observada em sistemas de resfriamento de água está relacionada diretamente com a qualidade da água utilizada nos processos. Os principais tipos de corrosão encontrados incluem corrosão ácida, por cloretos, por sulfetos, pilhas de aeração diferencial, a corrosão seletiva (dezincificação ou gráfrica) e a biocorrosão ou corrosão induzida microbiologicamente (MIC – *microbiologically influenced corrosion*) (CARVALHO, 2006; MINNOŞ *et al.*, 2014).

A MIC é uma forma de corrosão provocada pela atividade de microrganismos que iniciam, inibem ou agravam a oxidação dos metais (VIEIRA, 2013; SANTOS *et al.*, 2022). Diversos fatores são determinantes para a ocorrência deste fenômeno, dentre eles pode-se citar as espécies microbianas envolvidas, o metabolismo, *habitat* dos microrganismos, além do substrato e tipo de revestimento ou camada superficial presente na interface, que compõem o microambiente onde ocorre a colonização microbiana e a formação do biofilme que compõem o ambiente ao redor (VIEIRA, 2013).

As bactérias comumente associadas à corrosão microbiologicamente induzida incluem as redutoras de sulfato (BRS), produtoras de biofilme, oxidantes de enxofre (BOE) e oxidantes de ferro (BFe) (PAULA, 2010 TEWARI; MEHTA; VAISHNAV, 2019; RAO, 2022; RAO, 2023).

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) são anaeróbias estritas que realizam a redução dissimilatória de compostos de enxofre como sulfato (SO_4^{2-}), sulfito (SO_3^{2-}), tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) a sulfeto de hidrogênio (H_2S), tendo como exemplos os gêneros *Desulfovibrio* e *Desulfotomaculum* (TEWARI; MEHTA; VAISHNAV, 2019). O sulfeto de hidrogênio dissolvido apresenta uma natureza altamente corrosiva e se liga rapidamente a metais (PAULA, 2010). Os mecanismos de indução da corrosão incluem: despolarização catódica, despolarização anódica, produção de sulfeto de ferro corrosivo, fissuração por corrosão sob tensão induzida por sulfeto e corrosão localizada (GENTIL, 1996; TEWARI; MEHTA; VAISHNAV, 2019; RAO, 2022). As reações anódicas, catódicas, despolarização e produtos de corrosão são apresentadas abaixo (MITSUYA, 2018):

a) Reação anódica



b) Reação catódica



c) Despolarização



d) Produtos de corrosão



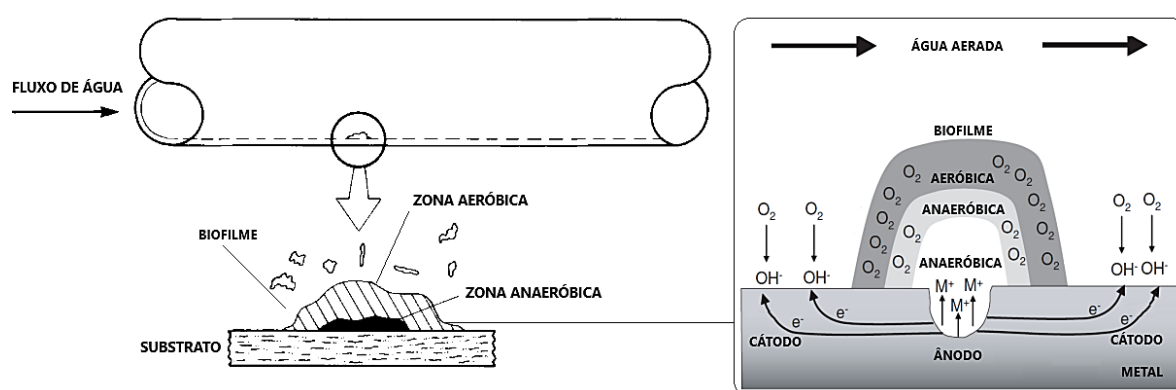
e) Reação global



As bactérias produtoras de biofilme são um grupo abrangente de diversos gêneros bacterianos, sendo frequentemente relatados os gêneros *Aerobacter*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* e *Streptomyces*, que são conhecidos como produtores primários de biofilmes (RAO, 2022; RAO, 2023). Esse grupo pode crescer em ambientes tanto aeróbios quanto anaeróbios, colonizando superfícies metálicas ou de outros materiais e produzindo EPS, resultando na formação de uma matriz polimérica (RAO, 2022). Conforme descrito anteriormente, os EPS produzidos promovem a retenção de moléculas de água na região interfacial, exercendo influência nos processos que ocorrem nesta região (FLEMMING *et al.*, 2016). Desta maneira, impactando as reações de corrosão ao promover ou dificultar o processo anódico ou catódico (SANTOS *et al.*, 2022). Segundo Rao (2022), os exopolímeros capturam moléculas orgânicas e inorgânicas, especialmente substâncias corrosivas, diminuindo sua difusão na matriz polimérica e, conseqüentemente, promovendo a bioincrustação. Além disso, os grupos funcionais ácidos presentes nos exopolímeros desempenham um papel fundamental na ligação de íons metálicos neste micro-habitat. Outra característica é a criação de regiões de concentração diferencial de oxigênio no interior do biofilme (Figura 8), promovendo o crescimento de bactérias anaeróbias (RAO, 2022; SANTOS *et al.*, 2022). Como

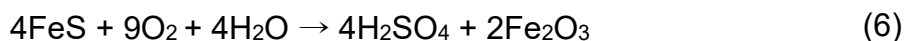
mentionado anteriormente, a formação de biofilmes, e, eventualmente, o desenvolvimento de biocorrosão, podem reduzir consideravelmente o desempenho e a vida útil dos equipamentos que compõem os sistemas de resfriamento (PIPPO *et al.*, 2018). Podem causar também a redução do fluxo de água no sistema, perda de eficiência nas trocas térmicas nos trocadores de calor, acrescido da corrosão sob depósito (GENTIL, 1996).

Figura 8 – Biofilme sobre a superfície de uma tubulação e formação de células de aeração diferencial.



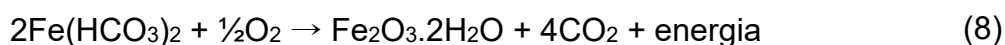
Fonte: adaptado de BORENSTEIN, 1994.

As bactérias oxidantes de enxofre (BOE) são bactérias anaeróbias caracterizadas por oxidarem sulfeto em enxofre elementar e depois em sulfato (PAULA, 2010). Há uma alta diversidade de BOE, como as espécies *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Thiobacillus thioparus* (MITSUYA, 2018). Este grupo de bactérias é responsável pela oxidação de compostos de enxofre, como o tiosulfato e o sulfeto (produzidos pela BRS), formando ácido sulfúrico, o que resulta na diminuição do pH do meio, podendo chegar a 1,0 (MITSUYA, 2018; RAO, 2022). As equações abaixo apresentam as reações de oxidação do enxofre (GENTIL, 1996).



As bactérias oxidantes de ferro (BFe) promovem a oxidação do ferro ao estado férrico para utilizar a energia resultante desta reação para o seu crescimento e fixação de carbono (RAO, 2022). Entre as bactérias que compõem este grupo, incluem-se as

espécies dos gêneros *Gallionella*, *Sphaerotilus*, *Crenothrix* e *Leptothrix* (COETSER; CLOETE, 2005; PAULA, 2010). Geralmente esse grupo de bactérias exibem formas filamentosas e depositam óxidos e hidróxidos de ferro em seus filamentos, sendo comumente encontradas em tubulações de sistemas de distribuição produzidos a partir de ligas de aço carbono e outras ligas de ferro (RAO, 2022). A reação de oxidação de íons Fe^{+2} dissolvidos na água para íons Fe^{+3} (8) é catabolizada por intermédio de enzimas metabolizadas pelas BFe, formando o $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{Fe}(\text{OH})_3$, que, por serem insolúveis em água, podem se aderir na forma de tubérculos nas paredes dos tubos nos sistemas de resfriamento (GENTIL, 1996; COETSER; CLOETE, 2005). Tal processo acarreta problemas na troca térmica e redução da vazão da água, bem como, a criação de condições ideais para ocorrência de corrosão por aeração diferencial (GENTIL, 1996; MITSUYA, 2018).



3.5. Controle microbiológico – métodos convencionais

3.5.1. Biocidas oxidantes e não-oxidantes

As substâncias que contêm um ou mais agentes ativos com a propriedade de prevenir, inibir, reduzir ou eliminar a ação de microrganismos patogênicos e não patogênicos são denominados biocidas (CAPELLETTI, 2006). Esses produtos possuem diversos mecanismos de ação (Tabela 2), além de atuarem em diversas estruturas e processos das células microbianas, resultando na morte celular (CAPELLETTI, 2006; MITSUYA, 2018).

Segundo Lucchesi (2006), os biocidas devem apresentar alguns requisitos para poderem ser aplicados na indústria, dentre eles pode-se citar: amplo espectro de ação, diferentes mecanismos de ação para reduzir a seleção de linhagens resistentes, capacidade de permear a membrana celular, baixa toxicidade a seres humanos e animais, ausência de propriedades cancerígenas e mutagênicas, solubilidade favorável e alta dispersão em meio líquido, baixo custo, eficácia em baixas concentrações, serem facilmente manipuláveis, não inflamáveis, não irritantes e biodegradáveis.

Os biocidas possuem diferentes propriedades, sendo divididos em oxidantes e não-oxidantes (MAROÑAS; DAMBORENEA, 2009). Os biocidas oxidantes, como

sugere o nome, possuem como principal mecanismo de ação a oxidação de componentes celulares, comprometendo a integridade celular, são extremamente reativos, com ampla gama de ação contra os diversos tipos de microrganismos (LUCCHESI, 2006). Os principais mecanismos de ação são: dano a membrana citoplasmática associada a oxidação de lipídeos; oxidação de proteínas citoplasmáticas e de membranas, dano ao DNA associado a quebras na dupla hélice ou modificação de bases nitrogenadas, além de interferência nos processos energéticos (CAPELLETTI, 2006). Entre seus representantes destacam-se o ozônio (O_3), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hipoclorito de sódio ($NaClO$). Os biocidas não-oxidantes, por sua vez, atuam interferindo no metabolismo microbiano e/ou desintegrando a parede celular (MITSUYA, 2018). Eles são menos reativos e mais seletivos e, entre seus principais representantes, pode-se citar os compostos sulfurados, estanho, isotiazolinonas, sais de cobre, aldeídos e sais quaternários de amônio (CAPELLETTI, 2006; LUCCHESI, 2006; PEREIRA, 2023).

Tabela 2 – Biocidas: modo de ação, vantagens e desvantagens.

Biocida	Modo de Ação	Vantagens	Desvantagens
Isotiazolinonas (clorometilisotiazolona, metilisotiazolona, benzoisotiazolona)	atuam na respiração; inativam enzimas, parede celular.	Bactericida e fungicida.	Alta toxicidade, e forte odor.
Triazina	Atuam na parede celular, inativa grupos sulfídricos de enzimas.	Bactericida, baixo custo.	Baixa eficácia contra fungos.
Organossulfurados	Removem o íon ferro (indispensável para a respiração celular)	Resistente a pH alcalino	Alta toxicidade
Formaldeído (CH_2O)	Atuam na parede celular e promove a lise	Bactericida fungicida e esporicida	Carcinogênico, difícil manuseio
Ozônio (O_3)	Difusão pela membrana celular, inativação de enzimas essenciais à respiração	Bom esporicida	Alto custo
Hipoclorito de sódio ($NaClO$)	As membranas celulares, as proteínas intracelulares e os aminoácidos. Danos as organelas.	O prazo de validade e a estabilidade adequados tornam-no adequado para uso doméstico a temperaturas médias. Também é seguro para a higiene humana.	Presença de matéria orgânica e o tipo de superfície pode afetar a eficiência.

Quaternário de amônio	Sítios negativos da parede celular, causa lise; desnatura proteínas da membrana	Algicida, bactericida e microbiostático	Causa espuma e floculação no sistema
Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	Danos a componentes da membrana celular e moléculas intracelulares	Não prejudicial ao ambiente, ampla especificidade antimicrobiana. Pode ser utilizado na forma líquida ou de vapor. A forma de vapor permite a desinfecção de áreas inacessíveis.	Instável e alterações da eficácia conforme o tipo de aplicação.
Fenóis clorados	Adsorção na parede celular, difusão para o citoplasma, formação de um coloide que precipita proteínas; lise celular	Baixo custo, efeito residual prolongado	Alta toxicidade e baixa eficiência em pH alcalino

Fonte: Adaptado de LUCCHESI, 2006 e JONES; JOSHI, 2021.

Segundo Lucchesi (2006), a utilização de biocidas para o controle de biofilmes deve ser realizada com prudência, uma vez que a subdosagem pode resultar na indução da seleção de microrganismos mais resistentes, incluindo patógenos, além de causar surtos de contaminação. Entre as ações que podem evitar este problema, cabe destacar o tratamento de choque (alta concentração do biocida adicionada ao sistema) e a alimentação contínua (SILVA, 2015). Conforme descrito por Pereira (2023), também deve-se considerar a reatividade dos biocidas oxidantes aos metais, uma vez que tal ação pode promover um aumento das taxas de corrosão, o que é um fator limitante para a indústria de petróleo, uma vez que os custos envolvidos na manutenção de equipamentos, paradas não programadas e outros são elevados.

3.6. Controle microbiológico – métodos alternativos

3.6.1. Fagoterapia

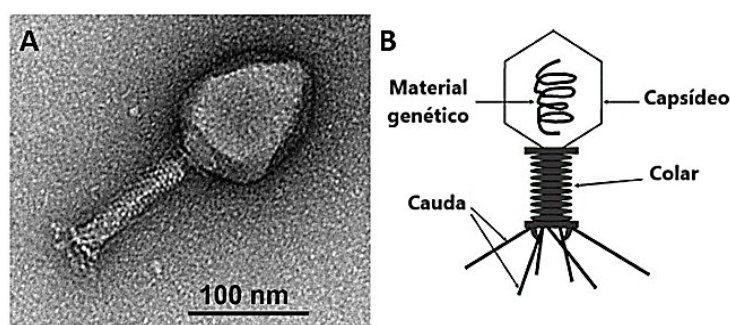
3.6.1.1. Bacteriófagos

Os bacteriófagos, ou fagos, são os agentes biológicos mais abundantes da terra, são ubíquos e se destacam por sua capacidade de infectar exclusivamente procariotos (CLOKIE *et al.*, 2011). Esses vírus são parasitas de vida intracelular obrigatória, isto é, são incapazes de se reproduzirem externamente às células

bacterianas, dependendo delas para completarem seu ciclo de vida (JOÃO *et al.*, 2021; BRITO, 2022).

Uma grande variedade de bacteriófagos é relatada, geralmente apresentando a estrutura descrita na Figura 9 (HANLON, 2007). Esses fagos são tipicamente constituídos por um capsídeo proteico que envolve seu material genético, predominantemente composto de DNA de fita dupla (dsDNA) (DION; OECHSLIN; MOINEAU, 2020). No entanto, também podem ser encontrados exemplos de fagos de DNA de fita simples (ssDNA), RNA de fita simples (ssRNA) ou RNA de fita dupla (dsRNA) (KUTTER; SULAKVELIDZE, 2004). O formato do capsídeo é frequentemente descrito como um icosaedro, embora também possa se apresentar na forma esférica, variando de tamanho de acordo com a espécie do fago (KARCZEWSKA *et al.*, 2023). É importante mencionar que existem fagos desprovidos de capsídeo (ACKERMANN, 2009). Adicionalmente, alguns bacteriófagos possuem estruturas suplementares, como cauda e fibras de cauda, que contêm receptores em suas extremidades, os quais identificam locais de fixação na superfície da célula bacteriana (YAP; ROSSMANN, 2014). A cauda pode ser ou não retrátil, e, normalmente, estão conectadas a ela seis fibras (HANLON, 2007; YAP; ROSSMANN, 2014). Além disso, os fagos podem apresentar diferentes morfologias, incluindo caudados, poliédricos, pleomórficos, filamentosos e fusiformes (ACKERMANN, 2009).

Figura 9 – Bacteriófagos: a) Microscopia do Escherichia phage vB_EcoM_C2-3; b) Representação da estrutura geral de um bacteriófago T4.

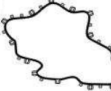


Fonte: adaptado de HANLON, 2007; KUMLIEN; BORREGO; BALCÁZAR, 2021.

Os bacteriófagos são classificados por meio do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (*Committee on the Taxonomy of Viruses – ICTV*). Tal classificação é dinamicamente revisada e se apresenta em constante evolução, baseando-se em dados genômicos e proteômicos disponíveis (BARBOSA, 2021). Os fagos, de acordo

com a antiga classificação do ICTV, eram divididos em 10 famílias (Tabela 3) (ALBINO, 2016). Contudo, em sua atualização mais recente, proposta no ano de 2021 e ratificada em 2022, a ordem *Caudovirales*, que abrigava a maior parte dos fagos conhecidos, foi abolida, e, conseqüentemente, as famílias polifiléticas (*Myoviridae*, *Podoviridae* e *Siphoviridae*) foram substituídas por novas famílias monofiléticas (BRITO, 2022; MÄNTYNEN; SALOMAA; PORANEN, 2023). Desta maneira, os fagos anteriormente pertencentes à ordem *Caudovirales*, foram distribuídos em uma nova classe, denominada *Caudoviricetes*, além disso um sistema binomial de nomenclatura para espécies foi estabelecido (TURNER *et al.*, 2023). Além disso, 22 famílias, 30 subfamílias, 321 gêneros e 862 espécies foram recém-criadas, promovidas ou movidas (TURNER *et al.*, 2023; ZHU *et al.*, 2024).

Tabela 3 – Taxonomia dos fagos segundo a antiga classificação do ICTV.

Família	Características	Morfologia
<i>Siphoviridae</i> (a)	DNA dupla fita, longo, cauda não contrátil	
<i>Myoviridae</i> (b)	DNA dupla fita, cauda contrátil	
<i>Podoviridae</i> (c)	DNA dupla fita, curto, cauda não contrátil	
<i>Tectiviridae</i> (d)	DNA dupla fita, proteína 5'linear, membrana interna	
<i>Microviridae</i> (e)	DNA fita simples, circular, icosaédro	
<i>Inoviridae</i> (f)	DNA fita simples, filamentoso	
<i>Leviviridae</i> (g)	RNA fita simples, pequeno, icosaédro	
<i>Cystoviridae</i> (h)	RNA dupla fita, segmentado, envelopado	
<i>Corticoviridae</i> (i)	DNA dupla fita, circular, membrana interna	
<i>Plasmaviridae</i> (j)	DNA dupla fita, circular, envelopado	

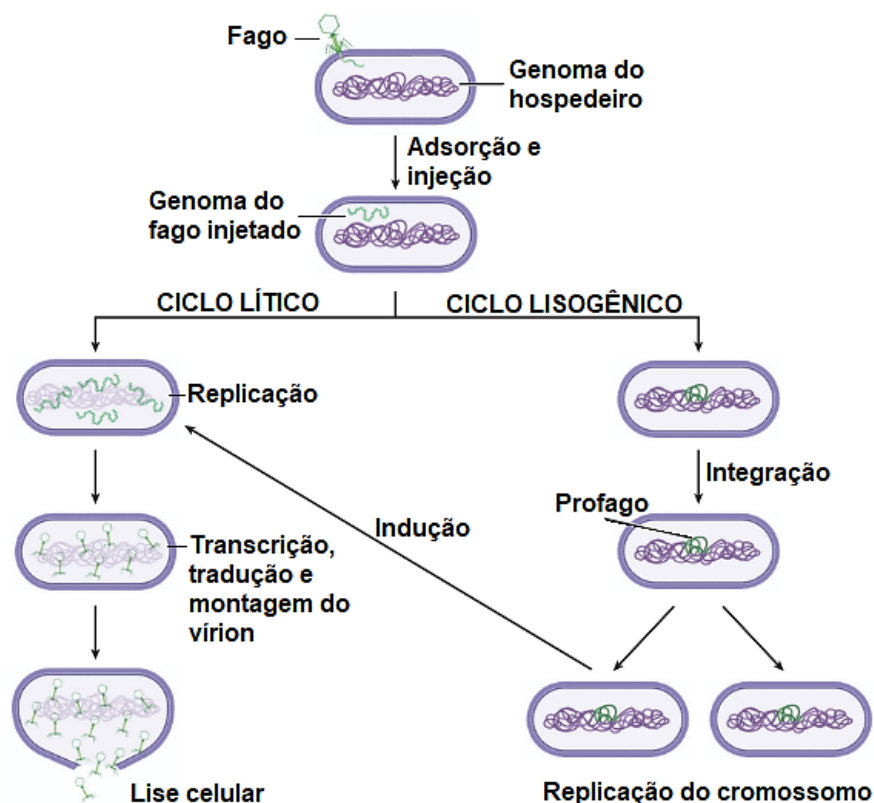
Fonte: Adaptado de ALBINO, 2016.

Segundo Elias e Burgardt (2014), a multiplicação dos fagos ocorre através de etapas sucessivas: a primeira, denominada adsorção (1), envolve a adesão do fago à superfície celular bacteriana por meio de receptores específicos da célula hospedeira e das macromoléculas do vírion. Esses receptores podem ser uma grande variedade de componentes da superfície celular, como proteínas, oligossacarídeos, ácido teicóico, peptidoglicano e lipopolissacarídeo (RAKHUBA *et al.*, 2010). Os fagos podem também se ligar em estruturas da superfície bacteriana, incluindo cápsula, pili e flagelo (HANLON, 2007; MARQUES, 2011; ELIAS; BURGARDT, 2014). Essa fase determina a especificidade do fago pelo hospedeiro e os mecanismos de resistência que as bactérias podem utilizar para combater a infecção viral, influenciada por fatores, como a natureza do receptor, sua composição química e estrutura espacial, assim como pela estrutura da proteína receptora viral (RAKHUBA *et al.*, 2010). A segunda etapa, denominada de penetração e desnudamento (2), ocorre quando o fago se une à célula hospedeira, resultando na inserção do material genético viral no citoplasma, que pode ocorrer por diferentes mecanismos (ELIAS; BURGARDT, 2014). Esses mecanismos variam de acordo com morfologia do vírus, no entanto, normalmente envolve a contração da cauda e a formação de um orifício na parede celular bacteriana (HANLON, 2007).

Posteriormente, ocorre a replicação (3), que é caracterizada pela utilização da maquinaria celular bacteriana para a replicação do ácido nucleico e a síntese de proteínas virais (ELIAS; BURGARDT, 2014). A fase seguinte é o acoplamento ou maturação (4), que consiste na montagem das partículas virais, denominados vírions, carregadas com o material genético viral (OLSZAK *et al.*, 2017). A última etapa é denominada liberação viral (5), resultando, normalmente, na lise celular e, conseqüentemente, na morte da bactéria (ELIAS; BURGARDT, 2014). A lise da célula hospedeira resulta na liberação dos vírions gerados para o ambiente circundante, perpetuando, desta maneira, seu ciclo de vida ao infectar novos hospedeiros (BRADY *et al.*, 2021).

O tipo de infecção do hospedeiro bacteriano pode ocorrer de duas maneiras principais, dependendo do bacteriófago, sendo elas a via lítica ou lisogênica (Figura 10) (KUMLIEN; BORREGO; BALCÁZAR, 2021).

Figura 10 – Multiplicação de bacteriófagos: ciclos lítico e lisogênico.



Fonte: BRADY *et al.*, 2021.

O ciclo lítico é caracterizado pela utilização das funções da célula bacteriana para multiplicação do fago invasor, formando novas partículas virais, e por fim, a lise bacteriana (BRADY *et al.*, 2021). O ciclo lisogênico é caracterizado pela integração do material genético do fago no cromossomo da célula hospedeira, de forma que a célula bacteriana, quando se reproduz, repassa o material genético viral de geração em geração (OLSZAK *et al.*, 2017). Esse genoma permanece em estado latente, denominado profago, e esse ciclo se mantém até que condições ambientais estressantes, como desequilíbrio de nutrientes, luz UV ou produtos químicos, induzam a excisão do genoma do fago e a ativação do ciclo lítico (BRADY *et al.*, 2021; KUMLIEN; BORREGO; BALCÁZAR, 2021).

Os bacteriófagos, devido à sua infectividade e eventual ocorrência de lise bacteriana, possuem o potencial de reduzir, e até mesmo inibir indiretamente a progressão da biocorrosão, uma vez que controlam a formação de biofilmes e população de bactérias que possam promover processos corrosivos (ZARASVAND; RAI, 2013). Segundo Batalha (2017), os fagos possuem diversas vantagens como agentes de biocontrole em comparação aos agentes químicos por múltiplas razões,

sendo elas: são específicos do seu hospedeiro alvo, devido sua especificidade aos receptores presentes na célula bacteriana, o que evita danos à microbiota endógena; podem replicar-se e limitar-se, multiplicando-se em doses baixas enquanto houver um limiar de hospedeiro; adaptam-se aos mecanismos de defesa das bactérias; são relativamente baratos e fáceis de produzir e isolar; conseguem resistir a condições adversas nos ambientes, como variações de temperatura e pH, além de não promoverem a corrosão química. Desta maneira, por isso podem ser empregados em diversos setores industriais, na medicina e agricultura (BATALHA, 2017).

3.6.1.2. Fagoterapia

A fagoterapia teve início em 1896 com o relato de Ernest Hankin, que observou nas águas do Rio Ganges e Jumna um agente com ação antimicrobiana capaz de matar a bactéria causadora da cólera, *Vibrio cholerae*. Em 1898, o russo Gamaleya reportou a ocorrência de um fenômeno similar em *Bacillus subtilis*. Já Frederick Twort, em 1915, observou zonas de lise em culturas bacterianas, característica associada à infecção viral. Twort chamou esse fenômeno de transformação transparente, concluindo que havia um vírus capaz de infectar e matar bactérias, mas sua pesquisa foi interrompida pela Segunda Guerra Mundial (MARQUES, 2011; VIEIRA *et al.*, 2021).

O termo bacteriófago foi empregado pela primeira vez em 1917 por Felix d'Herelle que descobriu, ao decorrer da primeira guerra mundial, um vírus capaz de infectar bactérias, mas que era inofensivo a seres humanos. Tal descoberta fora associada ao surto de hemorragias e disenteria nas tropas francesas na guerra. Posteriormente, d'Herelle utilizou-se da fagoterapia no tratamento desta doença, apresentando eficácia no combate aos sintomas com uma dosagem única de fagos (MARCHIOTTI *et al.*, 2016).

Segundo Hanlon (2007), logo após sua descoberta, os fagos foram aplicados como agentes terapêuticos. Salienta-se, neste contexto, que desde 1919, na Europa Oriental e na antiga União Soviética, os bacteriófagos são utilizados em contextos clínicos para o tratamento contínuo de infecções bacterianas. Cabe ressaltar também que as contribuições mais significativas da URSS no estudo dos fagos se referem à avanços em metodologias relacionadas ao isolamento, purificação, triagem e seleção de bacteriófagos adequados para aplicação medicinal. Por outro lado, durante esse

período, o estudo dos fagos não foi realizado com relevância no ocidente uma vez que o foco principal era a busca por novos antibióticos (HANLON, 2007).

Com o aumento dos casos de resistência antimicrobiana, especialmente nas décadas de 1990 e 2000, ocorreu um resgate global de estudos relacionados a fagoterapia. Os países do leste europeu têm persistido continuamente em seus esforços de pesquisa e aplicações terapêuticas, com destaque para a instituição *Phage Therapy Unit* (PTU) – afiliada ao *Ludwik Hirszfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy* – na Polônia (SANTOS, 2023).

Segundo Barbosa (2021), outros institutos e empresas que atuam no campo da fagoterapia incluem: *Phage Therapy Center - ELIAVA Institute*, com sede na Geórgia, que desenvolve tecnologias e protocolos para tratar pacientes com infecções crônicas, incluindo infecções do trato urinário, prostatite, sinusite, feridas não cicatrizantes, acne e outras; A *Intralytix*, localizada em Columbia, EUA, que atua na descoberta, desenvolvimento e comercialização de produtos à base de bacteriófagos para controle de patógenos nas áreas ambiental, médica e de alimentos; A *Armata Pharmaceuticals*, na Califórnia, focada em terapias com bacteriófagos e peptídeos para controlar infecções bacterianas resistentes a medicamentos; A *Aps Biocontrol*, sediada na Escócia, Reino Unido, que desenvolve soluções de biocontrole para doenças bacterianas na agricultura e indústria de alimentos; A *Biolyse Pharma*, localizada em St. Catharines, Canadá, atua na produção de fármacos naturais e extratos químicos, com pesquisa e tecnologias de isolamento e purificação, utilizando substâncias biológicas e seus componentes na agricultura.

Os bacteriófagos podem ser empregados na prevenção e no controle do desenvolvimento de biofilmes. Segundo Abedon e colaboradores (2021), a prevenção da formação do biofilme ocorre quando os fagos agem sobre as bactérias ainda em fase planctônica, ou seja, antes que elas se fixem nas superfícies. Por outro lado, o controle do biofilme já estabelecido envolve a ação direta dos fagos sobre a matriz polimérica extracelular (EPS), seja inibindo o acúmulo de novas células bacterianas ou hidrolisando o EPS, facilitando a dispersão do biofilme existente.

A utilização dos fagos como agentes de controle de biofilmes pode ocorrer por meio da produção de enzimas, como endolisinas, holinas e depolimerases, que possuem a capacidade de hidrolisar a matriz polimérica, potencializando, desta maneira, o processo de infecção (HARPER *et al.*, 2014; BRITO, 2022). Belgini e colaboradores (2014), investigaram a formação de biofilmes em sistemas de osmose

reserva. Nos testes conduzidos, os autores observaram uma redução significativa na formação de biofilme das bactérias *Acidovorax soli*, *Pseudomonas spp.* e *Brevundimonas spp.* a partir da adição de fagos (BELGINI *et al.*, 2014). Um estudo sobre o controle da bioincrustação em membranas de ultrafiltração usando fagoterapia foi conduzido por Ma e colaboradores (2018), onde os autores investigaram a eficácia do fago T4 contra sua bactéria hospedeira, *E. coli*. Em testes de filtração *dead-end*, os fagos foram imobilizados na superfície da membrana como agentes biocidas, resultando em uma redução menor no fluxo da água, correspondente a 36%, após 6 horas de filtração, em comparação com 71% para membranas não tratadas. Além disso, a remoção de biofilmes usando fagoterapia aumentou a taxa de recuperação do fluxo de água em 20% em comparação com a lavagem física (MA *et al.*, 2018). Lu e Collins (2007) também evidenciaram a eficácia da utilização de bacteriófagos no controle do biofilme de *E. coli*. Os autores empregaram fagos produtores e não produtores de enzimas no tratamento, observando uma redução significativa das células do biofilme. Os fagos produtores de enzimas alcançaram uma redução de aproximadamente 4,5 ordens de magnitude nas células do biofilme, enquanto os não produtores resultaram em uma redução cerca de 2 ordens menor (LU; COLLINS, 2007). Em seu estudo, Zhang e Hu (2012) empregaram fagos para erradicar o biofilme de *P. aeruginosa* e obtiveram uma taxa de remoção de 89%. Além disso, quando os fagos foram utilizados em conjunto com o hipoclorito de sódio (NaClO) a taxa de remoção foi aumentada, resultando em 96% de eliminação (ZHANG; HU, 2012).

Terapias fágicas se tornaram alternativas inovadoras e eficazes para a inibição do desenvolvimento ou remoção de biofilmes. Tal tratamento inclui a utilização de bacteriófagos líticos, de maneira individual ou por meio de coquetéis fágicos, o emprego de enzimas derivadas de fagos, o uso de bacteriófagos geneticamente modificados, além da combinação do uso de fagos e antimicrobianos (FERRIOL-GONZÁLEZ; DOMINGO-CALAP, 2020). Segundo Marietto-Gonçalves e Andreatti Filho (2010), a fagoterapia possui diversas vantagens, incluindo: sua eficiência contra bactérias resistentes a antimicrobianos; a ausência de infecção por outras bactérias, pois os bacteriófagos são específicos aos seus hospedeiros; a capacidade deles de responder rapidamente à mecanismos de resistência no hospedeiro devido à ocorrência de mutações; baixos custos de desenvolvimento em comparação com novos agentes antimicrobianos; não apresentarem efeito adverso nas células eucarióticas; além de estarem amplamente dispersos na natureza, sendo comumente

encontrados e isolados da água, solo e matéria orgânica e serem de fácil cultivo por meio de métodos microbiológicos tradicionais.

Atualmente, segundo Barros (2023), a utilização de bacteriófagos no Brasil é restrita a pesquisa trabalhos acadêmicos, não existindo regulamentação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA ou outro órgão regulamentador sobre a produção ou emprego de produtos à base de fagos.

3.6.2. Biossurfactantes

Os surfactantes são moléculas anfipáticas, também denominadas anfifílicas, apresentando uma porção polar e apolar em sua estrutura, constituindo uma importante classe de compostos químicos empregados na indústria (COLLA; COSTA, 2003; SANTOS, 2003). Essas moléculas possuem propriedades tensoativas e emulsificantes devido a sua capacidade de interação nas interfaces de fases fluidas, com diferentes graus de polaridade e ligações de hidrogênio, diminuindo a tensão superficial de um líquido ou interfacial entre dois líquidos, como nas interações água/ar e óleo/água, ou aquela entre um líquido e um sólido (SANTOS, 2003; ARAUJO; FREIRE; NITSCHKE, 2013; PEREZ, 2014; RIENZO *et al.*, 2015). Devido ao seu caráter anfifílico, os surfactantes reduzem a tensão superficial de líquidos e, após a saturação, interagem entre si, formando micelas, que são agregados moleculares (FELIPE; DIAS, 2017). Essas micelas possuem uma região apolar, geralmente composta por uma sequência de hidrocarbonetos, enquanto a região polar pode ser classificada como iônica (aniônica ou catiônica), não iônica ou anfotérica (SANTOS, 2003; FELIPE; DIAS, 2017).

Os surfactantes podem ser divididos em naturais ou sintéticos: Os surfactantes sintéticos são obtidos de diferentes matérias-primas, principalmente de derivados do petróleo como eteno, benzeno, parafinas, olefinas lineares e outros; enquanto os surfactantes naturais, nomeados biossurfactantes, podem ser produzidos por microrganismos como bactérias, fungos e leveduras, ou ainda a partir de vegetais e animais (SANTOS, 2003; FELIPE; DIAS, 2017).

Os biossurfactantes são classificadas de acordo com sua estrutura química ou origem microbiana, e seus principais representantes incluem glicolipídios, lipopeptídeos e lipoproteínas, fosfolipídios e ácidos graxos, surfactantes poliméricos e

surfactantes particulados (ARAUJO; FREIRE; NITSCHKE, 2013; FELIPE; DIAS, 2017).

Diversos microrganismos possuem a capacidade de sintetizarem moléculas com propriedades surfactantes (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Bactérias do gênero *Pseudomonas*, especialmente a espécie *P. aeruginosa*, produzem biossurfactantes do grupo de glicolípídios, no caso os ramnolipídeos, que são um dos principais representantes utilizados na indústria e que possuem excelentes propriedades tensoativas e antimicrobianas (SANTOS, 2003). A surfactina, produzida por espécies de *Bacillus*, pertence à classe de lipopeptídios, destacando-se por ser um biossurfactante versátil e que possui uma ampla gama de aplicações, com propriedades antimicrobianas e de remediação, apresentando a capacidade de reduzir a tensão superficial mesmo quando presente em concentrações inferiores a 0,5% (MARINHO; SILVA; LUNA, 2022). A Tabela 4 apresenta os principais microrganismos produtores de biossurfactantes, relacionando o tipo de biossurfactante produzido e sua respectiva classificação.

Tabela 4 – Classificação dos biossurfactantes e alguns microrganismos produtores.

Classificação do biossurfactante	Tipo de biossurfactante	Microrganismo produtor
Glicolípídios	Ramnolípídios	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Soforolípídios	<i>Candida bombicola</i>
	Trehalolípídios	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
	Diglicosil diglicerídeo	<i>Lactobacillus fermentii</i>
		<i>Mycobacterium phlei</i>
		<i>Mycobacterium fortitum</i>
		<i>Micromonospora spp.</i>
	Ésteres de Trealose	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
		<i>Mycobacterium paraffinicum</i>
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Lipopeptídios	Viscosina	<i>Bacillus subtilis</i>
	Surfactina	<i>Bacillus polymyxa</i>
	Polimixina	<i>Serratia marcescens</i>
	Serrawetina	<i>Bacillus brevis</i>
	Grarnicidinas	<i>Corynebacterium lepus</i>
Fosfolípídeos, ácidos graxos e lipídeos neutros	Ácidos graxos	<i>Nocardia erythropolis</i>
	Lipídios neutros	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
	Fosfolípídios	<i>Corynebacterium alkanolyticum</i>
	Polióis-lipídeo	<i>Rhodotorula glutinus</i>
		<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Surfactantes poliméricos	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	Biodispersan	<i>Candida lipolytica</i>
	Liposan	<i>Endomycopsis lipolytica</i>
	Complexo Manana-lipídeo	<i>Cândida lipolytica</i>
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Surfactantes particulados	Manno-proteína	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	Vesículas	<i>Cianobacteria</i>
	Células	

Fonte: Adaptado de SANTOS, 2003 e WINTERBURN; MARTIN, 2012.

Os biossurfactantes possuem eficácia comparável aos surfactantes químicos sintéticos e oferecem certas vantagens. Uma delas é possuir maior especificidade, tornando-os adequados para aplicações específicas (WINTERBURN; MARTIN, 2012). Segundo Felipe e Dias (2017), outras características benéficas dos biossurfactantes, são: (i) maior atividade superficial e interfacial, em menores concentrações; (ii) baixa toxicidade; (iii) apresentam biodegradabilidade; (iv) são estáveis em força iônica alta, pois os surfactantes sintéticos apresentam estabilidade entre 2 a 3% (m/v) de sais, enquanto os biossurfactantes são estáveis até concentrações salinas de 10% (m/v); (v) podem ser produzidos a partir de substratos alternativos, incluindo resíduos do setor agroindustrial, como soro de leite, água de maceração de milho e manipueira. Destaca-se, que a incorporação dessas matérias-primas como alternativa aos meios de cultura comumente utilizados, além de reduzir os custos de produção, promovem a implementação de práticas sustentáveis de reaproveitamento de resíduos de processos de produção (SINGH; VAN HAMME; WARD, 2007; FELIPE; DIAS, 2017).

Os biossurfactantes podem, ainda, ser empregados no controle microbiano, por apresentarem propriedades antiadesiva, antifúngica, antibacteriana, antimicoplasma e atividade antiviral (PEREZ, 2014). Estudos conduzidos em placa de 96 poços por Astuti, Purwasena e Putri (2018), evidenciaram que concentrações de ramnolipídeos na ordem de 25 a 50 µg/mL foram capazes de inibir o crescimento bacteriano, impedir a formação inicial de biofilmes, além de eliminar o consórcio de bactérias formadoras de biofilmes, mitigando o processo biocorrosivo. Estudos conduzidos por Kayanadath, Nathan e Ammini (2019), avaliaram a utilização de um biossurfactante produzido a partir da bactéria *Halomonas sp.*, isolada da Baía de Bengala, apresentando eficiência na inibição de formação de biofilmes de *V. cholerae* e *S. typhi* em uma concentração de 125 µg/mL. Araujo e colaboradores (2016), investigaram o potencial dos biossurfactantes surfactina e ramnolipídeo no controle de biofilmes de *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas fluorescens*. Os autores avaliaram a adesão e formação de biofilme em superfícies de poliestireno e aço inoxidável 304, constatando uma redução significativa na adesão, de até 79% e 54% no poliestireno, enquanto a formação de biofilme foi reduzida em até 83% e 73% em superfícies de aço inoxidável (ramnolipídeos e surfactina, respectivamente). Rajitha, Nancharaiah e Venugopalan (2024), conduziram experimentos para avaliar a inibição de biofilmes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salinococcus sp.* e *Marinobacter sp.* em placas de

poliestireno, utilizando um biossurfactante produzido por *Exiguobacterium* sp. R58, isolado de um sistema de resfriamento industrial. Os resultados indicaram que a presença de 2000 µg/mL do biossurfactante foi eficaz na inibição da formação de biofilme (80-92%).

Devido a todos os mecanismos e propriedades citados, os biossurfactantes possuem a capacidade de atuarem como agentes antimicrobianos eficazes, inibindo o crescimento de células planctônicas, impedindo a adesão de bactérias à superfícies, e, com isso, o desenvolvimento de biofilmes (RIENZO *et al.*, 2015; ARAUJO *et al.*, 2016). Isso permite que eles apresentem propriedades inibidoras de corrosão, possuindo potencial para atuarem como um produto de controle biológico nas torres de resfriamento (ARAUJO; FREIRE; NITSCHKE, 2013). Estudos conduzidos por Parthipan e colaboradores (2018), investigaram a inibição da corrosão em aço-carbono utilizando um biossurfactante glicolípido produzido a partir da cepa bacteriana, *Pseudomonas mosselii* F01, onde obtiveram uma eficiência de inibição de 80% e 87% para sistemas bióticos e abióticos, respectivamente. A utilização do ramnolípido foi investigada por Li e colaboradores (2022), o biossurfactante estudado, sintetizado por *Pseudomonas aeruginosa*, se mostrou eficiente na redução da taxa de corrosão em aço carbono X70 expostos em água do mar simulada. Os dados obtidos pelo grupo de pesquisa revelaram uma redução na taxa de corrosão de 0,18 mm/ano para 0,05 mm/ano com a adição de 0,1% (m/v) do ramnolípido, representando 68,4% de redução em comparação a condição não tratada.

Dessa maneira, os biossurfactantes se destacam como uma alternativa promissora aos surfactantes sintéticos e aos biocidas, podendo apresentar eficácia igual ou superior e vantagens significativas no controle microbiológico. A continuidade de estudos sobre suas aplicações é vital para a indústria, uma vez que esses produtos representam uma inovação com grande potencial, além de contribuir para o desenvolvimento de tecnologias mais sustentáveis e ecologicamente responsáveis.

3.6.3. Outros métodos alternativos de controle microbiológico

Além dos processos convencionais de controle microbiológico, como a utilização de biocidas oxidantes, não oxidantes e dos métodos promissores, como o emprego de fagos e biossurfactante; outros métodos também podem ser empregados para promover o controle microbiano e a desinfecção em sistemas industriais, como

o a utilização de radiação ultravioleta (UV), filtração por membranas e o emprego de enzimas.

A radiação ultravioleta (UV) é um método de baixo custo e eficiente de desinfecção, comprimentos de onda menores que 300 nm e baixas doses são capazes de inativar bactérias, vírus, incluindo bacteriófagos, e outros microrganismos (YANG; LI; SVENDSEN, 2016; RUBIO; VIEIRA, 2020).

A ação germicida associada a radiação UV está relacionada às alterações estruturais no material genético (DNA e RNA), proteínas e outras moléculas biologicamente essenciais aos microrganismos, resultante da absorção por essas moléculas de radiações com comprimento de onda entre 200 e 300 nm, com destaque para os próximos a 260 nm, alterando sua estrutura e funcionalidade havendo formação de fotoprodutos que, quando não reparados, modificam a replicação e expressão gênica normal do DNA, reduzindo a sobrevivência do microrganismo (CHANG, 1977; BASTOS, 2007; SILVA, 2007; OLIVEIRA, 2012). A energia absorvida rompe as ligações não saturadas, principalmente as bases nitrogenadas pirimídicas, provocando a dimerização de pirimidinas adjacentes de uma mesma fita de DNA (WHITE; JERNIGAN; VENOSA, 1986). Essas estruturas dificultam a replicação do DNA e aumentam o número de bases incorporadas de forma errônea nas fitas novas de DNA, resultando em mutações deletérias para as células. Esse efeito, além de outros fotoprodutos e lesões afetam a replicação e transcrição, impedindo a multiplicação de células ou vírus (HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006).

Um método promissor de controle de microrganismos é o emprego de enzimas, sendo o seu modo de ação variado, podendo ser utilizadas para causar a desestruturação do biofilme, induzir a lise celular, interferir no sistema *quorum sensing*, e outros (MEIRELES *et al.*, 2016). A utilização de enzimas como as nucleases, lisinas, peptidases, glicosídeo hidrolases, lipases, proteases; promove a degradação do EPS que compõe a matriz polimérica, mimetizando o processo de dispersão natural do biofilme, podendo também degradar proteínas microbianas (JEE *et al.*, 2020; RUIZ-SORIBAS *et al.*, 2022).

A filtração por membranas constitui outro método usado para controle microbiológico. Este método é utilizado para a purificação e tratamento de água e efluentes, sendo capaz de remover poluentes como metais pesados, vírus, bactérias e outros microrganismos (HOSLETT *et al.*, 2018). Diferentes técnicas de filtração por membranas são aplicadas ao tratamento da água e efluentes, pode-se citar:

microfiltração e ultrafiltração (MF/UF), nanofiltração e osmose reversa (NF/RO) e filtração direta por membranas (HUBE *et al.*, 2020).

A diversidade de métodos para controle microbiológico fornece uma vasta gama de opções para a indústria, em especial para a indústria petroquímica, onde a escolha da abordagem mais adequada vai depender das características intrínsecas dos processos industriais a qual serão aplicados.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar a utilização de bacteriófagos e biossurfactantes no controle de células planctônicas, remoção e inibição da formação de biofilmes, além de verificar a inibição da corrosão por meio destas biotecnologias em reator *rack by-pass*.

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar a utilização de coquetel fágico no controle de bactérias planctônicas em reator *rack by-pass*, em diferentes frequências de aplicação e dosagens;
- Avaliar a utilização de fagos específicos na inibição de formação e remoção de biofilmes em reator *rack by-pass*, em diferentes frequências de aplicação e dosagens;
- Avaliar o efeito de bacteriófagos e biossurfactantes em relação à inibição de corrosão em reator *rack by-pass*, em diferentes frequências de aplicação e dosagens inoculadas;
- Avaliar a utilização de biossurfactante (ramnolipídeo) no controle microbiano em placa de 96 poços;
- Comparar o efeito da fagoterapia e biossurfactantes ao biocida convencional hipoclorito de sódio no controle de células planctônicas e na inibição de biofilme e corrosão.
- Realizar avaliação microscópica do efeito dos distintos tratamentos na formação de biofilme sobre os cupons.
- Avaliar a efetividade da radiação UV na inativação de fagos e bactérias presentes na água de purga do reator *rack by-pass*.

5. METODOLOGIA

5.1. Operação do reator *rack by-pass*

5.1.1. Aparato experimental e operacionalidade do sistema

No estudo, foi empregado um biorreator, denominado *rack by-pass*, composto por um reservatório de água com aquecimento e temperatura controlada pelo sistema Vivo iTherm. Este biorreator foi projetado para abrigar quatro tanques de alimentação, chamados de barriletes, fabricados em policloreto de vinila (PVC) de 10 litros cada, e quatro árvores feitas de tubos de policloreto de vinila clorado (cPVC) de $\frac{3}{4}$ de polegada, dispostas em paralelo. Cada sistema apresenta um volume de aproximadamente 20 L, que abarcará o volume do reservatório e da árvore.

Cada árvore é equipada com pontos de fixação para cupons de corrosão de aço carbono AISI 1020; uma sonda de resistência de polarização linear (LPR); uma sonda de resistividade elétrica (RE) para avaliação da corrosividade da água; um suporte em forma de régua para acomodar 10 biocupons de aço inoxidável AISI 316 e/ou policloreto de vinila (PVC), destinados à avaliação da formação de biofilme; e um suporte circular para acomodar cinco biocupons de aço inoxidável AISI 316 para a mesma finalidade. O sistema também inclui um ponto de instalação para a sonda BioGEORGE, utilizada para monitorar eletronicamente a formação de biofilmes em tempo real. Adicionalmente, o aparato é equipado com sistemas elétricos e eletrônicos para conectar um controlador de temperatura (instalado no tanque de água), quatro bombas magnéticas de recirculação Mp-15r Inversa®, bombas peristálticas, dois transmissores de corrosão de polarização linear (LPR) (Cosasco LPR 9020), dois transmissores de corrosão por resistividade elétrica (ER) (Cosasco ER-420), saídas para conectar as sondas de corrosão de polarização linear (LPR) (Cosasco 710920A) e de corrosão por resistividade elétrica (ER) (Cosasco 2500-T10-K03005-0-0), uma sonda multiparâmetro XYLEM/PRO-DSS, para monitoramento de parâmetros físico-químicos, e um computador para receber os dados coletados. A Figura 11 e Tabela 5 apresentam a estrutura e o aparato constante no reator *rack by-pass*.

Figura 11 – Reator *rack by-pass*: a) Esquema representativo do reator *rack by-pass*; b) Reator *rack by-pass* com todos os equipamentos e componentes.

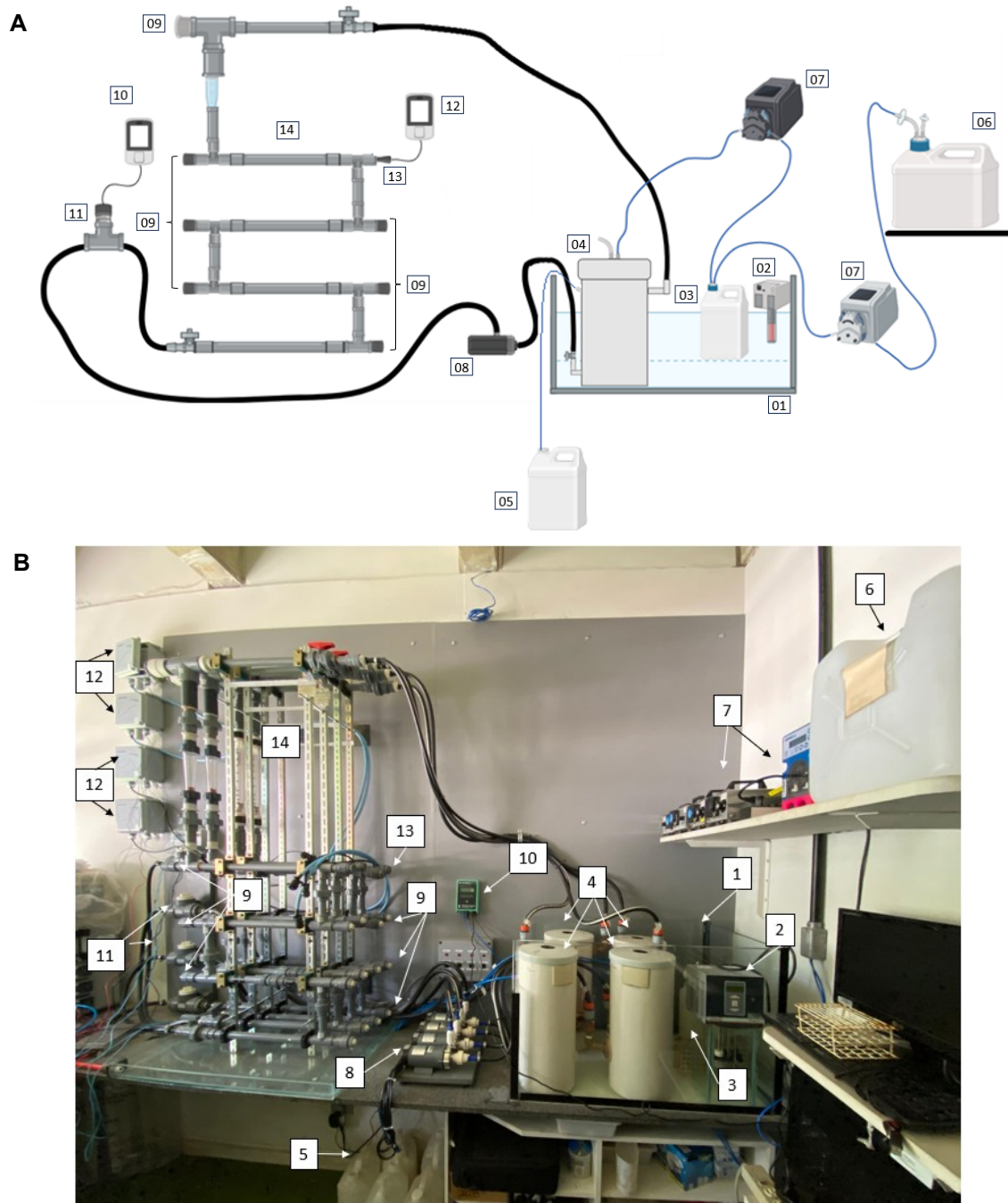


Tabela 5 – Descrição dos componentes do reator *Rack by-pass*.

ITEM	DESCRIÇÃO
1	Tanque de troca térmica de vidro (81 cm x 51 cm x 61cm)
2	Agitador mecânico com aquecimento (Vivo/iTherm)
3	Reservatório para alimentação do frasco de cultivo bacteriano de 5L
4	Barrilete de PVC de 10 L
5	Purga do sistema
6	Frasco de alimentação contínua do sistema de 20L
7	Bomba peristáltica
8	Bomba hidráulica de acionamento magnético (Brewland/MP-15RM-110)
9	Ponto de inserção para biocupons e/ou cupons de corrosão

10	Controlador BioGeorge®
11	Ponto de inserção sonda BioGeorge
12	Transmissor de corrosão de polarização linear (LPR) (Cosasco LPR 9020) ou Transmissor de corrosão por resistividade elétrica (ER) (Cosasco ER-420)
13	Saídas para acoplamento de sonda corrosão de polarização linear (LPR) (Cosasco 710920A) e de sonda corrosão por resistividade elétrica (ER) (Cosasco 2500-T10-K03005-0-0).
14	Sistema de monitoramento de corrosão por perda de massa com by-pass em rack de árvores (ASELCO/0222-1964-02), utilizando tubulação industrial de cloreto de polivinila clorado (CPVC) de ¾" (SCH80/Amanco), com um volume reativo interno na tubulação de aproximadamente 3,2 L

A vazão do sistema foi estabelecida em 1,130 m³/h, para reproduzir a vazão original de um sistema de resfriamento industrial (VEIGA et al., 2010). A velocidade de escoamento no interior da tubulação foi definida em 1,07 m/s, obedecendo a faixa proposta (0,45 a 1,8 m/s) na Norma ASTM D2688-05. A temperatura foi ajustada em 40°C. Tendo em vista o volume de cada sistema (~20L), o tempo de retenção hidráulica (TRH) foi de 140 h, parâmetros do sistema de resfriamento da Refinaria Gabriel Passos - REGAP. Desta maneira, as purgas foram definidas em 3,42 L/d, de acordo com a equação abaixo:

$$TRH = \frac{V}{P} \quad (10)$$

Onde:

V = Volume do sistema (m³);

P = Vazão de recirculação de água no sistema (m³/h).

5.1.2. Composição da água sintética

Para mimetizar as condições dos sistemas de resfriamento industriais, foi utilizado água sintética, cuja composição foi cuidadosamente formulada para replicar as características da água de processo. A composição dessa água é detalhada na Tabela 6 (VEIGA et al., 2010).

Tabela 6 – Composição química da água sintética.

Substância	Concentração (g/L)
Cloreto de sódio (NaCl)	0,2500
Cloreto de cálcio (CaCl ₂)	0,1554
Nitrato de potássio (KNO ₃)	0,1303
Cloreto de magnésio (MgCl ₂)	0,2158

Fonte: VEIGA et al., 2010.

Adicionalmente, para promover o crescimento microbiano controlável no reator, a água sintética foi enriquecida com extrato de levedura na concentração de 0,005 g/L. A manutenção da qualidade da água durante os ensaios foi assegurada pelo monitoramento constante de diversos parâmetros físico-químicos, cujos valores de controle são apresentados na Tabela 7 (VEIGA et al., 2010).

Tabela 7 – Parâmetros de controle da água sintética utilizada nos ensaios

Parâmetro	Unidade	Valor
Condutividade	Ω/cm	2000
Cálcio	$\text{mg Ca}^{2+}/\text{L}$	56
Magnésio	$\text{mg Mg}^{2+}/\text{L}$	22
Dureza	$\text{mg CaCO}_3/\text{L}$	230
Cloretos	$\text{mg Cl}^+/\text{L}$	500
pH	-	7
Alcalinidade	mg/L	150

Fonte: VEIGA et al., 2010.

5.1.3. Emprego de produtos anticorrosivos

No reator, também foram utilizados uma mistura de agentes desincrustantes e dispersantes comercializados pela empresa Kurita do Brasil LTDA (prestadora de serviços eventuais para a Petrobras, no presente momento) que são comumente utilizados na torre de resfriamento industrial da REPLAN, para promover a redução do efeito corrosivo da água sobre os equipamentos dos sistemas de resfriamento.

Os produtos empregados nos experimentos foram: Kuriroyal F-753, um dispersante; Kurizet S-433, um hexametáfosfato; Kurizet S-750, um sal de zinco; e Kurizet S-521, um azol. Estes três últimos atuam como inibidores de corrosão em sistemas de resfriamento, sendo todos fabricados pela empresa Kurita do Brasil LTDA. Tais produtos foram dosados nos reatores conforme indicação do fabricante, levando em consideração o volume de cada tratamento e a perda líquida associada à purga ou evaporação, desta maneira a concentração final de cada agente está descrita na Tabela 8.

Tabela 8 – Relação de produtos desincrustantes e dispersantes comercializados pela KURITA utilizados e dosagem a ser aplicada nos sistemas.

Produto	Substância	Concentração do princípio ativo, % em massa (g/100mL)	Concentração final do produto (mg/mL)
Kuriroyal F-753	Dispersante	43,5±4,4	0,0087
Kurizet S-433	Hexametáfosfato	32,0±3,0	0,020
Kurizet S-750	Sal de zinco	24,0±1,5	0,0025

Kurizet S-521

Azol

40,0±4,0

0,001

5.1.4. Inóculo bacteriano, propagação e titulação de bacteriófagos

5.1.4.1. Preparação do inóculo bacteriano

Para todos os experimentos aqui descritos, foram utilizados bacteriófagos e bactérias pertencentes à coleção do Laboratório de Microbiologia Aplicada, LMA, da UFMG. Tais microrganismos foram isoladas de sistemas de resfriamento industrial das refinarias REGAP – Refinaria Gabriel Passos; e REPLAN – Refinaria de Paulínia, da Petrobras. Os isolados utilizados serão detalhados nos diferentes experimentos apresentados nos tópicos subsequentes.

O inóculo bacteriano foi preparado por meio da semeadura das bactérias, estocadas a -20°C, em meio de cultura sólido (Luria-Bertani Growth) e incubação à 35°C por 16 horas. Em seguida, 2 a 3 colônias isoladas foram transferidas para frascos do tipo Erlenmeyer de 50mL contendo 15 mL caldo Luria-Bertani (LB). Os frascos foram incubados por 16 horas em shaker (Marconi, Brasil) sob agitação de 150 rpm e temperatura de 37°C e avaliados quanto a densidade celular por meio da medida da densidade óptica a 600 nm. Os valores obtidos foram usados para determinação do volume a ser centrifugado e inoculado no reator de forma a obter a D.O. correspondente a densidade celular de interesse ($D.O._{600nm} = 0,024$).

5.1.4.2. Propagação e titulação de bacteriófagos

Para a propagação de fagos, cada cepa bacteriana hospedeira foi cultivada em caldo Luria-Bertani (LB) (Difco, EUA) até a fase logarítmica média ($D.O._{600nm} \approx 0,3$), incubando-se por 16 horas a 37 °C e 120 rpm. Posteriormente, 2,0 mL da cultura bacteriana e 200 µL de suspensão de fago (10^{10} UFP/mL) foram adicionados a 20 mL de caldo LB fresco, juntamente com 100 µL de $CaCl_2$ 10 mM e 100 µL de $MgSO_4$ 10 mM para facilitar a adsorção do fago. A cultura foi incubada por 16 horas a 30 °C e 150 rpm (Marconi MA 830, Brasil).

Após a incubação, as culturas foram centrifugadas a $4.000 \times g$ por 20 minutos (Thermo Fisher Scientific, Alemanha) para peletizar as células bacterianas. O sobrenadante resultante, contendo os fagos, foi filtrado através de um filtro de seringa de 0,22 µm (HIMEDIA, EUA) para eliminar bactérias residuais.

Os títulos de fago foram determinados usando o ensaio de ágar de dupla (ABEDON; YIN, 2009). Diluições seriadas de dez vezes do lisado foram preparadas em uma solução salina estéril (0,85% NaCl). Para cada diluição, 100 µL de suspensão de fago foi misturado com 100 µL de uma cultura bacteriana em fase logarítmica média em 3,5 mL de ágar macio LB fundido (0,6% ágar, Difco, EUA), então despejado sobre placas de ágar LB (1,5% ágar, Difco, EUA). As placas foram incubadas durante a noite a 37°C. As placas foram contabilizadas e os resultados foram expressos como unidades formadoras de placas por mililitro (UFP/mL), calculados usando a equação 11.

$$UFP/mL = \frac{NP \times \left(\frac{1000}{v}\right)}{10^D} \quad (11)$$

Onde:

NP = Número de placas de lise contabilizadas;

v = Volume do inóculo (µL);

D = Diluição correspondente.

5.1.5. Parâmetros microbiológicos avaliados nos ensaios

5.1.5.1. Análise quantitativa de bactérias planctônicas no sistema

Um volume de 1 mL de cada reator foi submetido ao procedimento de diluição seriada, onde uma alíquota de 100 µL da amostra foi transferida para um microtubo de 2 mL contendo de 900 µL de solução salina 0,85%, posteriormente a solução resultante foi homogeneizada em vórtex a 3000 RPM por 5 segundos. Em sequência, 100 µL dessa solução resultante é aliquotada e transferida para outro microtubo, seguindo o procedimento anteriormente descrito. Tal procedimento foi repetido até a diluição de interesse. Posteriormente, alíquotas de 10 µL das diferentes diluições foram inoculadas em meio Tryptic Soy Agar (TSA, KASVI) ou Reasoner's 2A (R2A, Dyslab) pela técnica da microgota em triplicata. As placas foram incubadas à 37°C por até 48h. Após o período de incubação, foi enumerado os diferentes morfotipos para determinação das densidades expressas em UFC/mL, de acordo com a equação 12.

$$UFC/mL = \frac{NC \times \left(\frac{1000}{v}\right)}{10^D} \quad (12)$$

Onde:

NC = Número de colônias;

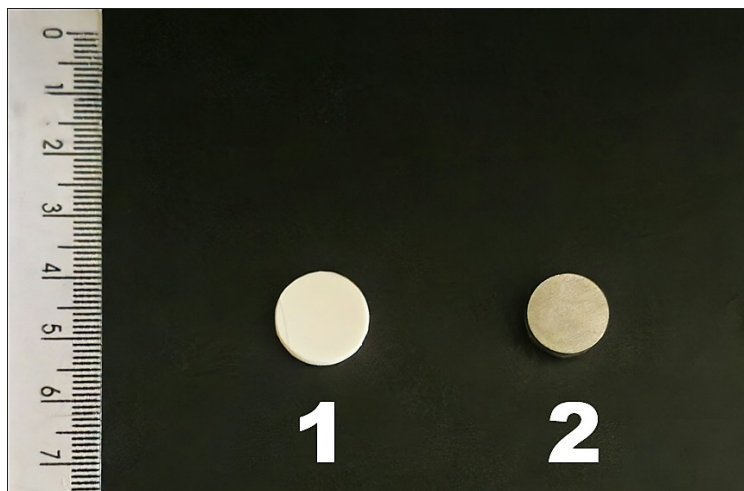
v = Volume do inóculo (μL);

D = Diluição correspondente.

5.1.5.2. Análise quantitativa de bactérias sésseis no sistema

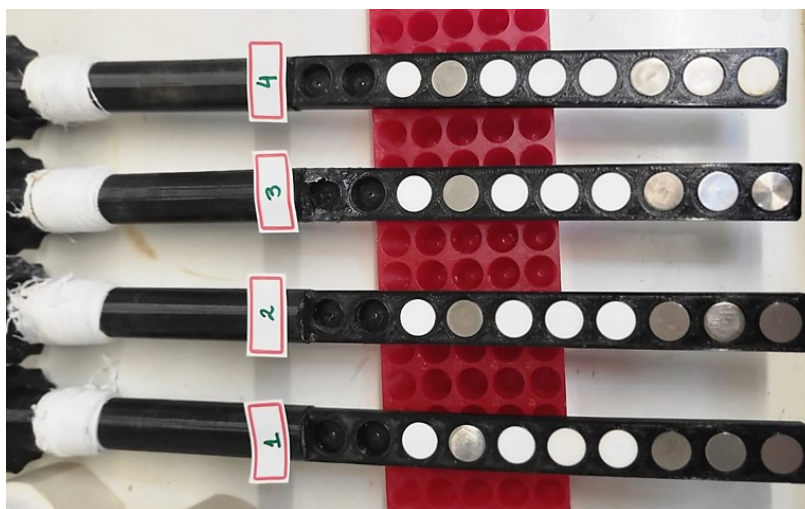
Para avaliar a densidade de bactérias sésseis, foram usados como corpo de prova biocupons de aço inox AISI 316, com o diâmetro de 1,2 cm e área de 1,1309 cm², esterilizadas por autoclavagem a 1 atm por 15 minutos. Também foram utilizados biocupons produzidos a partir de PVC (policloreto de vinila), com diâmetro de 1,45 cm e área de 1,65 cm², que foram esterilizados em solução de NaClO 0,3%, por cinco minutos (Figura 12) (SILVA *et al.*, 2013).

Figura 12 – Cupons para monitoramento de biofilmes presentes no reator *rack by-pass*: (1) cupom de PVC e (2) aço inox AISI 316.



Os biocupons foram inseridos a cada sete dias nos suportes (Figura 13) e mantidos no sistema por igual período para que houvesse a formação dos biofilmes. Após esse período, os cupons foram retirados e submetidos ao desprendimento do biofilme.

Figura 13 – Suporte com cupons para monitoramento de biofilmes no reator *rack by-pass*.



Para o desprendimento do biofilme, os cupons foram retirados dos suportes e lavados em água esterilizada ou em solução salina estéril; posteriormente foram dispostos em tubos de centrifuga de 15 ou 50 mL, de acordo com a dimensão do cupom; e em sequência cobertos com 3 mL de solução salina. Posteriormente, o biofilme foi desprendido das superfícies dos cupons através da exposição em banho ultrassônico (40 Hz), sendo submetidos a 3 ciclos de 2 minutos para o desprendimento. Em seguida, o material foi suspenso em 2 mL de salina 0,85% e agitado em um vórtex durante 5 minutos a 3000 rpm. Posteriormente, 100 µL da suspensão foi diluída seguindo a metodologia de diluição seriada. Em seguida, foi realizado o plaqueamento das alíquotas pela técnica da microgota (10 µL), em regime de triplicata. Na sequência, as placas foram incubadas a 37°C, por 24h; após o período de incubação, foram contabilizadas as colônias formadas, discriminando-se as morfologias presentes, expressando os resultados UFC/cm², de acordo com a equação 13.

$$UFC/cm^2 = \frac{NC \times \left(\frac{1000}{v}\right) \times V_T}{A \times 10^D} \quad (13)$$

Onde:

NC = Número de colônias;

v = Volume do inóculo (µL);

V_T = Volume total amostrado (mL);

A = Área do cupom (cm²).

5.1.5.3. Análise quantitativa de bacteriófagos no sistema

Para verificar a concentração de bacteriófagos no sistema, uma amostra de 2 mL foi extraída dos reatores tratados com fagos e, posteriormente, será submetida à filtração em membrana 0,22 μm (KASVI). Em seguida, uma série de diluições foi realizada, na escala de 1:10 até a ordem de 10^{-8} . Posteriormente, 100 μL de uma suspensão contendo a respectiva bactéria hospedeira em uma fase de crescimento logarítmico, com a densidade óptica de 600 nm (Shimadzu, CPS 240-A, Kyoto, Japão) a aproximadamente 0,165 abs, foi adicionada em tubos vidro contendo 2,5 mL de meio LB semissólido (6% de ágar) previamente fundidos e resfriados a uma temperatura de aproximadamente 45°C. A mistura foi homogeneizada e imediatamente despejada em uma nova placa de meio sólido TSA, posteriormente as diferentes diluições realizadas foram inoculadas sobre a placa. Em seguida, as placas foram incubadas à 37 °C por um período de 24 horas. Após o término do período de incubação, as placas de lise formadas foram contabilizadas, com o objetivo de determinar o número de unidades virais infecciosas, título de fagos, e foi expressa em termos de unidades formadoras de placa por mL (UFP/mL). Essa quantificação foi obtida através da equação 11.

5.1.5.4. Monitoramento de bactérias sésseis por meio da sonda BioGeorge

A sonda BioGEORGE BG4 Biofilm Growth Detector system (Alabama Specialty Products, USA) foi utilizada, mantendo-se as configurações pré-estabelecidas do equipamento para o monitoramento da formação e/ou controle de biofilme nos sistemas controle e com os tratamentos e os dados gerados foram analisados e compilados para a geração de gráficos de monitoramento. A análise ocorreu de maneira contínua, por meio de ajustes de configuração do sistema.

5.1.6. Monitoramento de parâmetros físico-químicos do sistema

As análises de parâmetros físico-químicos foram realizadas a partir de amostras coletadas das correntes purgadas de cada barrilete do sistema. Os parâmetros foram analisados seguindo as normas internacionais vigentes (Tabela 9). Tais análises foram realizadas nas dependências Laboratório de Microbiologia Aplicada – LMA, Laboratório de Limnologia, Ecotoxicologia e Ecologia Aquática –

LIMNEA; e no Departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária – DESA, da UFMG; seguindo as metodologias empregadas no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*.

Tabela 9 – Ensaio físico-químicos avaliados no reator *rack by-pass*.

Parâmetro	Unidade	Norma de Referência	Local de Análise
Alcalinidade Total	mg/L	2320- Alcalinidade APHA (2005)	LMA
Cloreto Total	mg.Cl ⁻ /L	4500- Cl ⁻ APHA (2005)	LMA
Cloro Livre	mg.Cl ₂ /L	4500 – Cl APHA (2005)	LMA
Fosfato total e Dissolvido	mg.PO ₄ ⁻³ /L	4500 – P APHA (2005)	LIMNEA
Nitrato Total e Dissolvido	mg.NO ₃ ⁻ /L	4500- NO ₃ ⁻ APHA (2005)	LIMNEA
Amônio Total e Dissolvido	mg.NH ₄ ⁺ /L	4500- Cl ⁻ APHA (2005)	LIMNEA
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	mg/L	5220 – APHA (2005)	DESA
pH	-	4500- H ⁺ APHA (2005)	LMA
Sólidos Dissolvidos Totais (SDT)	mg/L	2540 - APHA (2005)	LMA
Carbono Orgânico Total (COT)	mg/L	5310- TOC APHA (2005)	LIMNEA
Carbono Inorgânico (CI)	mg/L	5310- TOC APHA (2005)	LIMNEA
Carbono Total (CT)	mg/L	5310- TOC APHA (2005)	LIMNEA
Nitrogênio Total (N ₂)	mg/L	4500- N APHA (2005)	LIMNEA
Dureza Total	mg/L	2340 – APHA (2005)	LMA
Dureza Magnésio	mg/L	2340 – APHA (2005)	LMA
Dureza Cálcio	mg/L	2340 – APHA (2005)	LMA
Oxigênio Dissolvido (O ₂)	mg/L	4500 – O APHA (2005)	LMA
Condutividade	μS.cm ⁻¹	2510 – condutividade. APHA (2005)	LMA
Resistividade	Ω-cm		LMA
Potencial de Oxidação/Redução (ORP)	mV	2580 – ORP APHA (2005)	LMA
Turbidez	NTU	2130 – Turbidez APHA (2005)	LMA

Por meio da obtenção dos parâmetros físico-químicos obtidos, a tendência de corrosão ou incrustação do sistema também foi determinada através do Índice de

Saturação de Langelier (LSI), Índice de Estabilidade de Ryznar (RSI) e Índice de Incrustação de Puckorius (PSI), apresentados na Tabela 10.

O Índice de Saturação de Langelier é comumente empregado para determinar o potencial de corrosão ou incrustação da água que contém carbonatos, que é diretamente ligado ao pH. Esse índice correlaciona o pH da água com o pH da água saturada com CaCO_3 (pH_s), fornecendo uma indicação da propensão da água para precipitar cálcio ou manter minerais dissolvidos. A determinação dos pH_s foi realizada por meio dos parâmetros sólidos dissolvidos totais (SDT), em mg/L; a temperatura da água (T), em °C; concentração Ca^{+2} e alcalinidade, ambas em mg de CaCO_3/L (SOUZA *et al.*, 2020). O Índice de Estabilidade de Ryznar (RSI) correlaciona a propensão de uma solução aquosa a formar incrustações através da quantificação de carbonato de cálcio que precipitaria e realiza a previsão da corrosividade da água não formadora de incrustação (SOUZA, 2019). Já o Índice de Incrustação de Puckorius (PSI) fornece uma fonte mais precisa da tendência à incrustação do carbonato de cálcio, pois leva em consideração a alcalinidade total e a quantidade máxima de precipitado que pode ser formada sob condições de equilíbrio. Esse parâmetro correlaciona o nível de supersaturação na água e o desenvolvimento da incrustação, considerando a capacidade de tamponamento da água. O PSI emprega o pH_{eq} no lugar do pH da amostra (SOUZA, 2019; SOUZA *et al.*, 2020).

Tabela 10 – Índices LSI, RSI e PSI para estabilidade de água.

Índice	Equação	Valor	Condição da água
Índice de Saturação de Langelier (LSI)	$LSI = pH - pH_s$ $pH_s = (9,3 + A + B) - (C + D)$ $A = \frac{\log_{10}(STD) - 1}{10}$ $B = -13,22 \log_{10}(T + 273,15) + 34,55$ $C = \log_{10}(\text{Ca}^{+2}) - 0,4$ $D = \log_{10}(Alc)$	$0,5 < LSI < 2$	Incrustação forte
		$0 < LSI < 0,5$	Incrustação suave
		$LSI = 0$	Balanceado
		$-0,5 < LSI < 0$	Corrosão suave
		$-2 < LSI < -0,5$	Corrosão severa
		$4 < RSI < 5$	Incrustação severa
Índice de Estabilidade de Ryznar (RSI)	$RSI = 2pH_s - pH$	$5 < RSI < 6$	Incrustação média
		$6 < RSI < 7$	Pouca incrustação ou corrosão
		$7 < RSI < 7,5$	Corrosão média
		$7,5 < RSI < 9$	Corrosão elevada
		$RSI > 9$	Corrosão severa
Índice de Incrustação de Puckorius (PSI)	$PSI = 2pH_s - pH_{EQ}$ $pH_{EQ} = 1,465 \log_{10}(Alc) + 4,54$	$PSI < 4,5$	Tendência a incrustação
		$4,5 < PSI < 6,5$	Baixa tendência de incrustação e corrosão

PSI > 6,5

Tendência a
corrosãoFonte: SOUZA *et al.*, 2020.

5.2. Efeito da estabilidade dos bacteriófagos utilizados nos ensaios de controle microbiano frente aos produtos anticorrosivos, dispersantes e biocida (hipoclorito de sódio) utilizados em torre de resfriamento

Os principais bacteriófagos utilizados nos experimentos realizados no sistema *rack by-pass* foram testados quanto à estabilidade em relação à produtos anti-corrosivos, anti-incrustantes e biocidas doseados nos reatores (Tabela 11).

Tabela 11 – Bacteriófagos utilizados no experimento e os seus respectivos títulos.

Fago	Bactéria hospedeira	Título inicial (UFP/mL)
LMA-UFMGP2	<i>P. aeruginosa</i> LMA-RL17	$7,80 \times 10^{10}$
LMA-UFMG112	<i>Acinetobacter sp.</i> LMA-112	$7,40 \times 10^9$
LMA-UFMGB2	<i>S. marcescens</i> LMA-RLA12	$5,10 \times 10^8$
LMA-UFMG12.2.1	<i>S. marcescens</i> LMA-PLA5	$9,93 \times 10^9$
LMA-UFMGFTR1	<i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1	$9,03 \times 10^8$
LMA-UFMG3.1	<i>S. maltophilia</i> LMA-94	$3,00 \times 10^8$

Os produtos empregados no teste foram: Kuriroyal F-753, Kurizet S-433, Kurizet S-750 e Kurizet S-521. A concentração do princípio ativo presente nesses produtos, bem como a proporção utilizada para correção dos cálculos, está detalhada na Tabela 8. Além disso, foi utilizado o biocida hipoclorito de sódio na concentração de 0,5 mg/L de princípio ativo.

Os ensaios foram realizados em microtubos de poliestireno de 2 mL estéreis. Neles foram adicionados 980 µL de água sintética estéril, 10 µL dos fagos com os títulos descritos acima individualmente e 10 µL dos produtos teste a partir de soluções com concentrações 100 vezes maiores que as de uso. Foi realizado também, para cada fago, um controle no qual apenas 10 µL dos mesmos foram adicionados nos microtubos com 990 µL de água sintética. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Os microtubos foram incubados em banho maria a 37 °C por 16 horas. Após esse período, as amostras foram diluídas serialmente e 10 µL foram utilizados para a realização de spots pela técnica de microgota em placas de meio TSA (Kasvi, Brasil) com sobrecamadas das bactérias hospedeiras. As placas foram incubadas a 37 °C por cerca de 16h e, em seguida, realizada a contagem das placas de lise nos extratos

dos diferentes tratamentos para determinação e comparação do título dos fagos (UFP/mL) nessas condições.

5.3. Ensaios de ação antimicrobiana e determinação da curva micelar crítica – (CMC) do biossurfactante ramnolipídeo

5.3.1. Avaliação de efeito inibitório em microplaca de 96 poços e em reator *rack by-pass*

Avaliou-se a atividade antimicrobiana de ramnolipídeo comercial (85-90% de pureza, AGAE TECHNOLOGIES, EUA) contra bactérias planctônicas. O consórcio microbiano testado incluiu *Pseudomonas aeruginosa* LMA-RLI17, *Serratia marcescens* LMA-PLA5, *Acinetobacter sp.* LMA-112, *Pseudomonas oleovorans* LMA-BTR1, *Bacillus cereus* LMA-BTR3, *Glutamicibacter creatinolyticus* LMA-BTR4, *Acinetobacter pittii* LMA-BTR7, *Pseudomonas alcaligenes* LMA-BTR12, seguindo protocolos padronizados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) por meio da diluição em microplacas de poliestireno de 96 poços, utilizando concentrações seriadas de 2 a 256 µg/mL preparadas em meio Luria-Bertani (Kasvi, Brasil) a partir de solução estoque (1000 µg/mL). As suspensões bacterianas foram padronizadas para 1×10^7 UFC/mL, com incubação a 37°C por 16 horas e leitura de densidade óptica a 600 nm (Varioskan Flash, Thermo Scientific). Posteriormente, 20 µL de solução de Resazurina (0,1 g/L) foi adicionada a cada poço da placa de 96 poços. A placa foi incubada a 37°C por 40 minutos no escuro e posteriormente analisada em fluorímetro (Varioskan Flash, Thermo Scientific) com comprimentos de onda de excitação e emissão de 570 nm e 600 nm, respectivamente. O método baseia-se na quantificação da fluorescência da resorufina, produto da redução da resazurina. Controles negativos (meio estéril e biossurfactante sem inóculo) e positivo (inóculo bacteriano) foram incluídos em triplicata. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem de redução (%).

5.3.2. Determinação da concentração micelar crítica – CMC

Preparou-se uma solução estoque do ramnolipídeo comercial (5 mg/mL) mediante diluição em água destilada, seguida de diluições seriadas de 1:2 para obtenção de concentrações entre 5 mg/mL e 0,005 mg/mL. A tensão superficial das soluções foi determinada utilizando tensiômetro KRÜSS GmbH K100C-MK2, acoplado

a placa de platina, à temperatura ambiente, visando estabelecer a Concentração Micelar Crítica (CMC) do biossurfactante. A CMC foi determinada pelo ponto de inflexão da curva obtida plotando-se a tensão superficial *versus* concentração do biossurfactante (SOUSA *et al.*, 2014).

5.4. Operação do reator rack by-pass com uso de água sintética: avaliação da eficácia de bacteriófagos e cloro no controle bacteriano, remoção e inibição do biofilme.

5.4.1. Delineamento e procedimento experimental

O experimento foi dividido em duas etapas: a primeira consistiu na avaliação de fagos e cloro na remoção de biofilme formado nos cupons de aço inox e de PVC depositados nas árvores; e a segunda na avaliação de fagos e cloro na inibição da formação de biofilmes formados em cupons do mesmo tipo e controle de bactérias planctônicas circulando no sistema.

O reator foi alimentado com água sintética, de acordo com a metodologia proposta no item 5.1.2. Foram avaliados produtos químicos: um biocida oxidante à base de cloro e uma mistura de agentes desincrustantes e dispersantes, ambos comercializados pela KURITA e descritos na Tabela 8. Os produtos foram dosados nos reatores conforme os tratamentos, considerando a perda líquida associada à purga ou evaporação. A solução de hipoclorito de sódio, contendo 3% de cloro ativo (30.000 ppm), foi utilizada como biocida. Inicialmente, adicionou-se 0,73 mL à linha 3, visando atingir 2 ppm de cloro residual, seguido pela aplicação contínua de uma solução com 2 ppm de cloro ativo, a um fluxo de 0,1 mL/min, para repor o cloro perdido devido à diluição causada pela purga.

Foram definidos quatro tratamentos, T1: Água sintética sem fagos e sem produtos químicos, implementado na linha 1; T2: Água sintética + fagos (linha 2); T3: Água sintética + NaClO + produtos químicos (linha 3); T4: Água sintética + fagos + produtos químicos (sem NaClO) (linha 4). A comparação entre o T2 e T4 permitiu avaliar se os produtos químicos afetaram a atividade do fago, a comparação entre T3 e T4 permitiu comparar o efeito do fago com o efeito do cloro na remoção de biofilme e a comparação entre T1 e T2 avaliar o efeito do fago na remoção de biofilme.

5.4.2. Microrganismos utilizados no experimento

As cepas bacterianas incluídas no estudo foram *P. aeruginosa* LMA-RLI17, *S. marcescens* LMA-PLA5, *P. oleovorans* LMA-BTR1, *G. creatinolyticus* LMA-BTR4, *S. maltophilia* LMA-94 e *Acinetobacter* sp. LMA-112, isoladas de ambientes de refinarias de petróleo. Essas bactérias foram selecionadas por apresentarem morfologias de colônias distintas, o que é essencial para a contagem individual de colônias no método de determinação de densidade. As bactérias foram inoculadas no reator conforme a metodologia descrita no item 5.1.4.1, visando uma densidade bacteriana na ordem de 10^4 UFC/mL, comumente presente em sistemas de resfriamento (LUDENSKY, 2003).

Os bacteriófagos empregados no experimento incluíram: *Serratia* phage LMA-UFMGB2, *Serratia* phage LMAUFMGLMA-UFMG12.2.1, *Acinetobacter* phage LMA-UFMG112, *Pseudomonas* phage LMA-UFMG17.1.4, *Pseudomonas* phage LMA-UFMGFTR1, e *Stenotrophomonas* phage LMA-UFMG3.1. Esses fagos foram selecionados a partir da coleção de fagos do Laboratório de Microbiologia Aplicada, devido ao seu amplo espectro de hospedeiros contra bactérias isoladas do ambiente de uma refinaria de petróleo, incluindo os isolados bacterianos selecionados. Estes fagos foram propagados a partir de suas respectivas bactérias hospedeiras e titulados de acordo com a metodologia descrita no item 5.1.4.2.

Os fagos LMA-UFMG12.2.1 e LMA-UFMG17.1.4 foram classificados na família *Myoviridae*, por apresentarem capsídeo icosaédrico e cauda longa e robusta. O fago LMA-UFMG3.1 foi atribuído à família *Podoviridae*, caracterizada por capsídeo icosaédrico e cauda muito curta, enquanto o fago LMA-UFMGFTR1 foi incluído na família *Siphoviridae*, em razão de sua cauda longa e fina e capsídeo icosaédrico. Os demais bacteriófagos utilizados neste e em outros experimentos ainda não foram classificados taxonomicamente pelo grupo de pesquisa.

5.4.3. Avaliação de fagos e cloro na remoção de biofilmes formados em cupons de aço inox e de PVC.

Após o período mínimo para formação de biofilme identificado (7 dias), os 4 sistemas de árvores foram submetidos aos tratamentos em estudo. Os fagos inoculados nos dias 7, 14, 19, 21, 26, 28 e 33 do experimento, eles foram adicionados em uma MOI de 10, nos sistemas 2 e 4, com base na densidade média das bactérias observada (UFC/mL) durante o período de 7 dias antecedentes à inoculação. Os

produtos químicos utilizados para prevenção de corrosão e incrustação foram adicionados nas linhas 3 e 4 de maneira a atingir a concentração final descrita na Tabela 8.

Após 24 h de cada inoculação, foi avaliado a densidade de bactérias sésseis, por meio de desprendimento do biofilme dos cupons e plaqueamento para definição de UFC/cm² no controle e em todos os tratamentos, de acordo com a metodologia descrita no item 5.1.5.2. Também foram monitorados a densidade de bactérias planctônicas e o título dos bacteriófagos em todos os sistemas ao longo de cinco dias por semana, de acordo com os itens 5.1.5.1 e 5.1.5.3.

5.4.4. Avaliação de fagos e cloro na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e de PVC.

Após a retirada dos cupons para a avaliação da remoção de biofilmes, novos cupons de aço inox e PVC foram inseridos no sistema para analisar o efeito dos fagos e do cloro já presentes nos sistemas na inibição da formação de biofilmes. Produtos químicos com propriedades desincrustantes e dispersantes, além de cloro, foram dosados diariamente para repor os produtos diluídos pela entrada de água sintética, com as quantidades ajustadas conforme o volume de reposição de água. Nos barriletes 2 e 4, novas dosagens de fagos foram realizadas de acordo com o título monitorado no sistema.

Novos cupons foram inseridos duas vezes por semana, possibilitando a realização de duas análises semanais da densidade de bactérias sésseis nos cupons. Durante o período experimental, também foram monitorados a densidade de bactérias planctônicas (UFC/mL) e o título de fagos (UFP/mL), com medições realizadas cinco vezes por semana. Além disso, foi conduzida uma análise do biofilme por microscopia eletrônica de varredura (MEV), aplicada em todos os tratamentos e em ambos os tipos de cupons (PVC e aço inox), de acordo com a metodologia descrita no item 5.4.5.

A cada sete dias, amostras foram coletadas para monitorar parâmetros físico-químicos, de acordo com o proposto no item Tabela 9. Tais ensaios foram realizados com o uso de uma sonda multiparâmetro (Xylem ProDSS), sendo medidos os parâmetros ORP, turbidez, condutividade, resistividade e SDT. Ensaio de alcalinidade, cloreto, cloro livre, dureza total, além das durezas de cálcio e magnésio, foram realizados ao início e final do experimento. A predição da estabilidade da água foi feita por meio do cálculo do índice de Saturação de Langelier (LSI), Índice de

Estabilidade de Ryznar (RSI) e o Índice de incrustação de Puckorius (PSI) para cada tratamento conforme equações descritas na Tabela 10, utilizando a temperatura de cálculo de 37 °C (SOUZA et al., 2020).

5.4.5. Análise microscópica do biofilme formado em cupons de aço inox e de PVC.

Os biocupons produzidos em aço inox AISI 316 e PVC removidos do experimento foram utilizados para a análise microscópica, com o intuito de avaliar a inibição da formação do biofilme de cada tratamento. Os cupons foram mantidos no sistema por um período de sete dias e foram retirados dos suportes para os biocupons. Após a remoção, eles foram previamente preparados e passaram pelos procedimentos para a identificação visual do biofilme através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para o procedimento, após o cupom (amostra) ser retirado do reator, ele foi previamente fixado por meio de uma solução Karnovsky modificado - glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2%), em solução tamponada com fosfato 0,1 mol/L por um período máximo de 24 h, e posteriormente, foi retirado, lavado e mantido no tampão. As amostras foram encaminhadas ao centro de microscopia eletrônica da UFMG, onde foram submetidas a uma segunda fixação com tetróxido de ósmio durante o período de uma hora a temperatura de 25 °C. Em seguida, foram lavadas por três vezes com tampão cacodilato 0,1 mol/L e imersas em ácido tânico a 0,1% ao longo de 20 minutos. Posteriormente, o material foi submetido a secagem utilizando CO₂ e inseridos em suportes, onde foram metalizados com uma camada de ouro (Au) de 5 nm. As amostras foram submetidas a análise utilizando microscópio eletrônico de varredura – MEV (FEG Quanta 200 FEI) para a obtenção das imagens.

5.5. Operação do reator em escala piloto com o uso de água de bacia da torre de resfriamento da REPLAN: Teste da eficácia de fagos e ramnolipídeo no controle bacteriano, remoção e inibição do biofilme; avaliação da corrosão nos tratamentos.

5.5.1. Delineamento e procedimento experimental

O experimento foi conduzido no sistema Rack by-pass e foi dividido em quatro etapas: A primeira etapa consistiu em alimentar o reator com água proveniente da Refinaria de Paulínea – REPLAN e monitoramento do sistema até obtenção de

densidade e riqueza de morfotipos constantes. Essa fase marcou o início do experimento, os sistemas foram então monitorados durante um período de 14 dias, com homogeneizações periódicas entre os barriletes a fim de garantir uniformidade na densidade de bactérias heterotróficas totais (B.H.T), expressas em UFC/mL, bem como na composição morfológica das comunidades bacterianas. Após essas confirmações, os cupons foram adicionados ao sistema e a segunda etapa foi iniciada.

A segunda etapa consistiu na avaliação de fagos e de ramnolipídeo comercial na remoção de biofilmes previamente formados em corpos de prova depositados nas árvores. Foram usados como corpo de prova, biocupons de aço inox AISI 316 e de PVC, ambos esterilizados previamente. Os produtos dos diferentes tratamentos foram aplicados apenas após sete dias da inserção dos cupons.

A terceira etapa consistiu na avaliação desses agentes na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e cupons de PVC depositados nas árvores ao longo de 7 dias e controle de bactérias planctônicas no sistema.

O monitoramento dos parâmetros microbiológicos seguiram as metodologias anteriormente citadas (5.1.5.1; 5.1.5.2; 5.1.5.3 e 5.1.5.4). A quantificação das bactérias planctônicas foi realizada ao longo de cinco dias por semana, enquanto os fagos foram quantificados imediatamente após as inoculações e após 24 horas. Também foram monitorados semanalmente todos os parâmetros físico-químicos, indicados no item 5.1.6.

Os tratamentos aplicados ao experimento foram: Linha 1: tratamento 1, que consistiu no doseamento de biossurfactante na dosagem de 60 µg/mL ao longo período experimental; Linha 2: tratamento 2 consistindo no controle, sem adição de qualquer agente biocida; Linha 4: tratamento 4 baseado no uso de um coquetel de fagos líticos com MOIs entre 0,1 e 1. A Linha 3 não foi utilizada neste experimento.

Cada sistema foi doseado com produtos anticrustantes e dispersantes comercializados pela Kurita, de acordo com a Tabela 8.

5.5.2. Avaliação de fagos e biossurfactantes na remoção de biofilmes formados em cupons de aço inox e cupons de PVC.

Concluído o período mínimo de sete dias para formação de biofilme, os cupons previamente inseridos foram submetidos aos diferentes tratamentos. O biossurfactante comercial (ramnolipídeo) foi aplicado no Tratamento 1, na concentração de 60 µg/mL. Os bacteriófagos foram aplicados no Tratamento 4,

utilizando-se uma multiplicidade de infecção (MOI) entre 0,1 e 1, conforme detalhado na Tabela 12.

Tabela 12 – Relação de bacteriófagos aplicados ao tratamento 4.

Bactéria Hospedeira	Bacteriófago	MOI
<i>P. aeruginosa</i> LMA-RLI17	LMA-UFMG17.1.4	1
	LMA-UFMG18.1.2	1
	LMA-UFMG4P	1
<i>Escherichia coli</i> LMA-208	LMA-UFMGCEB1	1
	LMA-UFMGECRJ6	1
<i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1	LMA-UFMGFTR1	1
<i>Acinetobacter sp.</i> LMA-112	LMA-UFMG112	1
<i>P. alcaligenes</i> LMA-BTR12	LMA-UFMGFTR12.1	1
	LMA-UFMGFTR12.3	0,1
<i>Bacillus thuringiensis</i> LMA-BTR18	LMA-UFMGFTR18.1	1
	LMA-UFMGFTR18.2	0,1

Os fagos LMA-UFMG12.1, LMA-UFMG12.3, LMA-UFMG18.1 e LMA-UFMG18.2 foram isolados pelo grupo de pesquisa a partir de bactérias presentes nas amostras oriundas da REPLAN recém enviadas e utilizadas na execução do experimento. Todos os fagos foram inoculados nos dias 15, 19, 22, 26, 29, 33 e 36 do experimento. Após 24 horas de exposição aos tratamentos, os cupons foram retirados dos sistemas e submetidos ao processo de desprendimento do biofilme (item 5.1.5.2). A linha 1 recebeu dosagens de biossurfactante ramnolipídeo, correspondendo, respectivamente, à concentração final de 60 µg/mL, nas mesmas datas de inoculação dos fagos.

5.5.3. Avaliação de fagos e biossurfactante na inibição de biofilmes em cupons de aço inox e cupons de PVC.

Com o objetivo de avaliar a capacidade inibitória dos tratamentos sobre a formação de novos biofilmes, os sistemas foram novamente tratados com os respectivos agentes: biossurfactante (Tratamento 1), na dosagem de 60 µg/mL; e fagos (Tratamento 4), seguindo a mesma composição da Tabela 12.

Para aprofundar a análise do efeito inibitório sobre a formação de biofilmes, foram realizadas novas aplicações de fagos e biossurfactantes. Nesta etapa, a MOI dos fagos foi ajustada, além de novos fagos que foram incorporados ao tratamento.

A Tabela 13 apresenta a nova relação de bacteriófagos utilizados no Tratamento 4, com suas respectivas bactérias hospedeiras e MOIs ajustadas. A nova proporção de fagos foi aplicada para avaliar seu efeito potencialmente ampliado na

inibição de biofilmes. As dosagens do ramnolípídeo permaneceram na mesma concentração (60 µg/mL).

Tabela 13 – Relação de bacteriófagos aplicados ao tratamento 4 utilizando bacteriófagos adicionais e alterando-se a MOI dos fagos propostos.

Bactéria Hospedeira	Bacteriófago	MOI
<i>P. aeruginosa</i> LMA-RLI17	LMA-UFMG17.1.4	10
	LMA-UFMG18.1.2	0,1
	LMA-UFMG17.1.2	1
	LMA-UFMG18.2.2	1
	LMA-UFMG4M	1
	LMA-UFMG4P	10
<i>Escherichia coli</i> LMA-208	LMA-UFMGCECB1	10
	LMA-UFMGECRJ6	10
<i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1	LMA-UFMGFTR1	10
<i>Serratia Marcenses</i> LMA-RLA12	LMA-UFMG4B2	0,1
<i>Acinetobacter sp.</i> LMA-112	LMA-UFMG112	10
<i>P. alcaligenes</i> LMA-BTR12	LMA-UFMGFTR12.1	1
	LMA-UFMGFTR12.3	1
<i>B. thuringiensis</i> LMA-BTR18	LMA-UFMGFTR18.1	1
	LMA-UFMGFTR18.2	1

As inoculações dos fagos e doseamento do biossurfactante, ocorreram nos dias 40 e 43 do experimento, com o mesmo protocolo de retirada de cupons, desprendimento dos biofilmes, e quantificação das bactérias sésseis (UFC/mL e UFC/cm²).

5.5.4. Avaliação da corrosão: Ensaio de imersão total e taxa de corrosão.

Foi estudada a ação de microrganismos na corrosão de cupons de aço carbono AISI 1020 (Figura 14), através do ensaio de imersão total, no qual foi avaliada a perda de massa dos referidos cupons (PAULA, 2010).

Os cupons ficaram expostos no sistema por um período de 28 dias. Os corpos de prova foram pesados antes de serem inseridos no sistema e após o término do experimento. Previamente ao início do experimento os cupons foram submetidos ao tratamento por decapagem ácida, conforme recomendações da Norma ASTM G1-03, sendo utilizada uma solução de decapagem preparada a partir de 500 mL de ácido clorídrico (HCl, sp gr 1,19), 3,5 g de hexametilenotetramina, e água tipo II suficiente para 1 litro da solução. Os cupons foram mergulhados em tubos de ensaio contendo a solução por um período de 20 minutos em temperatura ambiente e, posteriormente, a solução decapante foi descartada, e, em sequência, foi disposta água deionizada nos tubos de ensaio contendo os corpos de prova, a fim de que se evitasse a oxidação.

Posteriormente, ocorreu a lavagem dos corpos de prova em água corrente e, após essa etapa, eles foram secados com auxílio de papel absorvente, e mantidos em estufa na temperatura de 60°C (± 5°C) por um período mínimo de 40 minutos.

Figura 14 – Corpo de prova em aço carbono AISI 1020 para o ensaio de imersão total e taxa de corrosão.



Após a retirada dos suportes mantidos nos sistemas, os cupons foram transferidos para a secagem em estufa na temperatura de 60°C (± 5°C) por um período mínimo de 40 minutos. Em seguida, eles foram depositados em um dessecador e mantidos à temperatura ambiente para o resfriamento. Posteriormente, foram pesados em balança analítica e as massas obtidas foram registradas como massa inicial (MI). O excesso de depósito nos cupons foi removido com auxílio de uma esponja sob água corrente e, posteriormente, os corpos de prova foram submetidos novamente ao processo de decapagem ácida. Após essa etapa, realizou-se nova pesagem dos corpos de prova em balança analítica, determinando a "massa final" (MF).

Para a obtenção dos valores de perda de massa do cupom (W) e taxa de corrosão (TC), foram seguidas as orientações da Norma ASTM D2688-05. A perda de massa fornece a taxa de corrosão dos cupons e é normalmente calculada em mm/ano ou mpy (*mils per year* – milésimo de polegada de penetração por ano). As equações 14 e 15 fornecem uma estimativa da perda de espessura do material constituinte por unidade de tempo.

$$W = MF - MI \quad (14)$$

Onde:

W = perda de massa do cupom (g)

MF = massa do cupom após limpeza (g)

MI = massa do cupom antes da limpeza (g)

$$TC = \frac{22,3 \times W}{A \times T \times D} \quad (15)$$

Onde:

TC = Taxa de Corrosão (*mpy*);

W = Perda de massa (mg);

A = Área (in², considerando a área superficial de todo o cupom, com as correções necessárias);

T = Tempo de exposição (dias);

D = Densidade (g/cm³).

Após a determinação do valor das corrosões, foi realizada a classificação do grau de corrosão conforme proposta pela Nalco Chemical Company (2018) indicada na Tabela 14.

Tabela 14 – Classificação das taxas de corrosão em aço carbono.

Taxa (<i>mpy</i>)	Controle de Corrosão	Descrição
<1	Excelente	Corrosão negligenciável
1 - 3	Muito bom	Corrosão mínima
3 - 5	Bom	Corrosão moderada
5 - 8	Pobre	Corrosão moderadamente alta
8-10	Ruim	Corrosão alta
>10	Inaceitável	Corrosão severa

Fonte: NALCO CHEMICAL COMPANY, 2018.

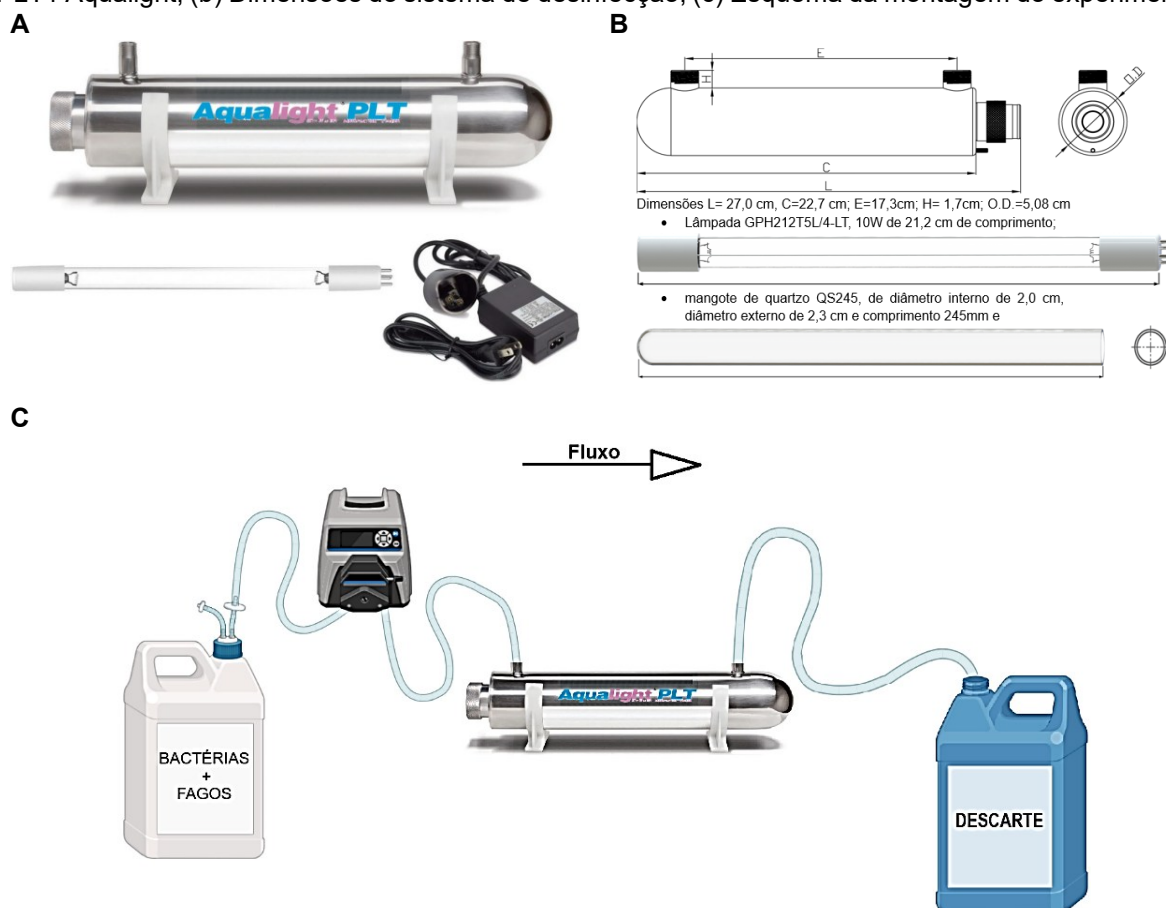
5.6. Avaliação da efetividade da inativação de fagos e bactérias presentes na água sintética purgada do sistema por meio da exposição à radiação ultravioleta (UV)

5.6.1. Aparato experimental e parâmetros operacionais

O ensaio teve como objetivo avaliar a eficácia da radiação UV para inativar fagos e bactérias presentes na água purga do sistema rack by-pass, cujas características físico-químicas são semelhantes às da água utilizada em bacias de torres de resfriamento industrial. O aparato experimental consistiu em um sistema de desinfecção por radiação UV (modelo Aqualight PLT1, EUA), integrado a uma bomba peristáltica (MANOSTAT - Preston Varistaltic Pump) e a um reservatório com volume útil de 20 litros, conforme ilustrado na Figura 15.

. A bomba transferia a água sintética da purga do reator *rack by-pass*, contendo fagos e bactérias, para o sistema de desinfecção em diferentes vazões, ajustadas conforme as doses de radiação UV estabelecidas. Esse arranjo experimental permitiu a condução dos ensaios em condições representativas e controladas, assegurando a eficiência do processo de desinfecção.

Figura 15 – Esquema do sistema de desinfecção por UV. (a) Sistema de desinfecção por ultravioleta PLT1 Aqualight; (b) Dimensões do sistema de desinfecção; (c) Esquema da montagem do experimento.



A seleção da dose de radiação UV utilizada no experimento para a inativação de fagos e bactérias foi fundamentada em uma análise abrangente de diversos artigos científicos. Esses estudos reportaram as doses necessárias para a inativação de vírus com diferentes estruturas e de bactérias. Os dados obtidos foram organizados e apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Relação da dose aplicada ao microrganismo e redução máxima observada

Microrganismo	Dose - D (mJ/cm ²)*	Redução máxima (MIC) N/N ₀	Referência
<i>E. coli</i>	2,62	-	RATTANAKUL; OGUMA, 2017

<i>P. aeruginosa</i>	0,52	-	
<i>B. subtilis</i> spores	12,6	-	
Coronavirus	0,28	-	
Berne virus (coronaviridae)	0,31	-	
SARS-CoV-2 (Italy-INMI1)	0,54	-	
Murine Coronavirus (MHV)	0,65	-	
SARS Coronavirus (Frankfurt 1)	0,71	-	CDPH, 2020
Canine Coronavirus (CCV)	1,24	-	
SARS Coronavirus (CoV-P9)	1,74	-	
MS2	~65	1x10 ⁴	RODRIGUEZ <i>et al.</i> , 2014
Fagos MS2	18,18	8x10 ⁴	
Fagos MS2	8,20	2x10 ⁵	
φX174	2,53	1x10 ⁴	
PRD1	7,81	6x10 ³	HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006
B40-8	7,14	4x10 ⁵	
T7	4,31	4x10 ⁴	
Qβ	11,90	2x10 ⁴	
MIC - microbial inactivation credit			

5.4.1.1 Cálculo das doses e operação do reator

O volume do reator foi determinado considerando sua geometria cilíndrica. As equações utilizadas para este cálculo são apresentadas a seguir:

$$V_{reator} = V_{cilindro}$$

$$V_{cilindro} = \pi \times r_{cilindro}^2 \times h_{cilindro}$$

Para o reator principal, adotou-se um raio (r) de 2,54 cm (diâmetro de 5,08 cm) e uma altura (h) de 14,5 cm. Com base nessas dimensões, o volume do reator foi calculado como:

$$V_{reator} = \pi \times (2,54 \text{ cm})^2 \times 14,5 \text{ cm} = 293,88 \text{ cm}^3$$

Para o mangote de quartzo, que possui raio (r) de 1,15 cm (diâmetro de 2,3 cm) e a mesma altura do reator, o volume foi determinado por:

$$V_{mangote} = \pi \times (1,15 \text{ cm})^2 \times 14,5 \text{ cm} = 60,24 \text{ cm}^3$$

A partir desses volumes, foi possível obter o volume útil do reator, correspondente ao volume de água efetivamente submetida à radiação UV:

$$V_{\text{útil}} = V_{reator} - V_{mangote} = 233,64 \text{ cm}^3$$

Para o cálculo da Intensidade (I) da Lâmpada UV, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$I = \frac{Dose}{Tempo\ de\ exposição}$$

A vazão de 0,5 galões por minuto (gpm) foi convertida para 31,546 cm³/s. Com base no volume útil, o tempo de retenção hidráulica (TRH) foi calculado como:

$$TRH = \frac{Volume}{Vazão} = \frac{233,64\ cm^3}{31,546\ cm^3.s^{-1}} = 7,41\ s$$

Dessa maneira, para uma dose de 40 mJ/cm², a intensidade resultante foi determinada em:

$$I = \frac{40\ mJ/cm^2}{7,41\ s} \approx 5,40\ mW/cm^2$$

Para a realização do ensaio experimental, foi empregada uma bomba peristáltica MANOSTAT - Preston Varistaltic Pump, com capacidade máxima de vazão de 1,17 L/min (19,5 cm³/s). O experimento foi conduzido em quatro condições distintas: um controle e três doses de exposição à radiação UV, correspondentes a 64,71 mJ/cm², 32,13 mJ/cm² e 13,39 mJ/cm². Para atingir essas doses, a lâmpada foi parcialmente coberta, reduzindo a área de exposição da água à radiação UV, visto que a área útil da lâmpada exigiria vazões superiores às aquelas disponibilizadas pela bomba utilizada. Cada condição experimental foi realizada em triplicata para assegurar a reprodutibilidade dos resultados.

O reservatório de alimentação foi preenchido com 20 L de água da purga. Após um período de 2 minutos de circulação da água no reator UV para aclimação, foram coletadas três amostras de 50 mL cada, com intervalos de 1 minuto entre as coletas.

Alíquotas de 0,1 mL das amostras foram submetidas a diluições seriadas e analisadas para determinação da densidade de bactérias viáveis por meio da técnica da microgota, expressa UFC/mL. Para quantificação dos fagos presentes nas amostras, frações de 2 mL foram transferidas para microtubos de mesmo volume, centrifugadas por 5 minutos a 14.000 rpm e filtradas utilizando filtros PES com diâmetro de poro de 0,22 µm (KASVI, Brasil) acoplados a seringas. Os filtrados foram igualmente diluídos em série e titulados pela técnica “spot”, utilizando sobrecamada das bactérias hospedeiras específicas dos fagos avaliados. Os títulos foram expressos em UFP/mL.

5.7. Testes estatísticos

As análises estatísticas foram conduzidas no ambiente de programação R (versão 4.5.1) e abrangeram somente o subconjunto de dados passível de avaliação formal. Para todos os testes, foi adotado um nível de significância de $\alpha=0,05$.

Os dados foram submetidos a pré-processamento para detecção e remoção de outliers, quando aplicável usando o método do intervalo interquartil (IQR), garantindo a robustez das análises subsequentes. Quando as premissas de testes paramétricos não eram atendidas como nos ensaios de inibição de biofilme e estabilidade de fagos, foi aplicada uma transformação logarítmica ($\log_{10}$ ou $\log(x+1)$) para estabilização da variância. Adicionalmente, os conjuntos de dados foram reestruturados do formato amplo (*wide*) para o longo (*long*), a fim de adequá-los à modelagem estatística.

Diferenças entre grupos experimentais foram avaliadas por Análise de Variância (ANOVA), utilizando a ANOVA de uma via para os ensaios de remoção de biofilmes, corrosão e estabilidade de fagos. A validação do modelo de ANOVA incluiu verificação das premissas de normalidade dos resíduos (Teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Teste de Levene). Para os ensaios de verificação da inibição da formação de biofilmes, o delineamento estatístico adotado foi um Fatorial de Três Vias com Medidas Repetidas, analisado através de um Modelo Linear Misto (MLM). Em ambos os casos, ANOVA e MLM, as comparações múltiplas foram realizadas pelo teste post-hoc de Dunnett, identificando tratamentos significativamente diferentes do grupo controle ($p < 0,05$).

Para a análise da resposta da densidade de bactérias planctônicas aos tratamentos aplicados nos reatores, o efeito acumulado dos tratamentos ao longo do tempo foi avaliado Área Sob a Curva (AUC), calculada pelo método trapezoidal a partir das curvas de contagem médias (UFC/mL). o efeito acumulado dos tratamentos ao longo do tempo foi avaliado pela Área Sob a Curva (AUC), calculada pelo método trapezoidal a partir das curvas médias de contagem. Diferenças na AUC entre cada tratamento e o grupo controle foram testadas por meio de bootstrapping não-paramétrico (1.000 reamostragens), com intervalo de confiança de 95%. Um efeito foi considerado significativo quando o intervalo de confiança da diferença não continha o valor zero.

Finalmente, para os ensaios físico-químicos, as médias globais de cada parâmetro foram comparadas através dos Testes t de Student pareados, com ajuste de p-valores pelo método de Bonferroni para correção de múltiplas comparações

6.2. Avaliação da atividade inibitória do biossurfactante em placa de 96 poços e definição da curva micelar crítica – CMC

6.2.1. Avaliação do biossurfactante em placa de 96 poços

Nos testes de avaliação do efeito inibitório do ramnolipídeo sobre os isolados bacterianos, não foi observada a inibição total da viabilidade celular em nenhum dos isolados testados. As maiores reduções na viabilidade foram registradas na concentração de 256 µg/mL (Tabela 16). Nessa concentração, os menores percentuais de inibição foram observados para *B. cereus* LMA-BTR3 (26,39%) e *P. oleovorans* LMA-BTR1 (27,47%). Por outro lado, as maiores reduções foram obtidas para *P. aeruginosa* LMA-RLI17 (79,81%) e *P. alcaligenes* LMA-BTR12 (76,02%), seguidas por *S. marcescens* LMA-PLA5 (60,20%), *Acinetobacter* sp. LMA-112 (53,60%), *A. pittii* LMA-BTR7 (42,20%) e *G. creatinolyticus* LMA-BTR4 (32,26%).

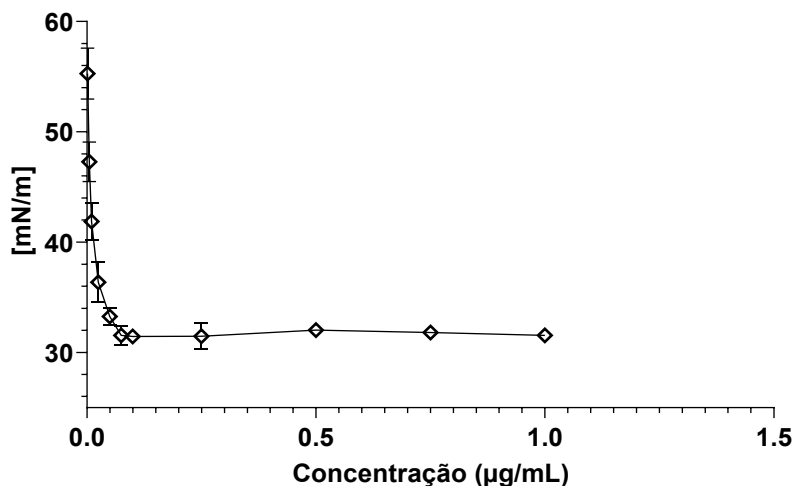
Tabela 16 – Viabilidade celular dos isolados bacterianos submetidos ao ramnolipídeo na concentração de 256 µg/mL.

Bactéria	% de redução
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> LMA-RLI17	79,81
<i>Serratia marcescens</i> LMA-PLA5	60,20
<i>Acinetobacter</i> sp. LMA-112	53,60
<i>Pseudomonas oleovorans</i> LMA-BTR1	27,47
<i>Bacillus cereus</i> LMA-BTR3	26,39
<i>Glutamicibacter creatinolyticus</i> LMA-BTR4	32,26
<i>Acinetobacter pittii</i> LMA-BTR7	42,20
<i>Pseudomonas alcaligenes</i> LMA-BTR12	76,02

6.2.2. Determinação da curva micelar crítica (CMC) do ramnolipídeo comercial

O aumento da concentração do ramnolipídeo comercial promoveu redução progressiva da tensão superficial do meio até atingir 31 mN/m, valor a partir do qual não foram observadas reduções adicionais com o aumento da concentração (Gráfico 2). Esse ponto corresponde a saturação da interface e a formação de micelas, caracterizando a concentração micelar crítica (CMC), que foi determinada como 0,075 µg/mL.

Gráfico 2 – Tensão superficial em função da concentração do biossurfactante comercial.



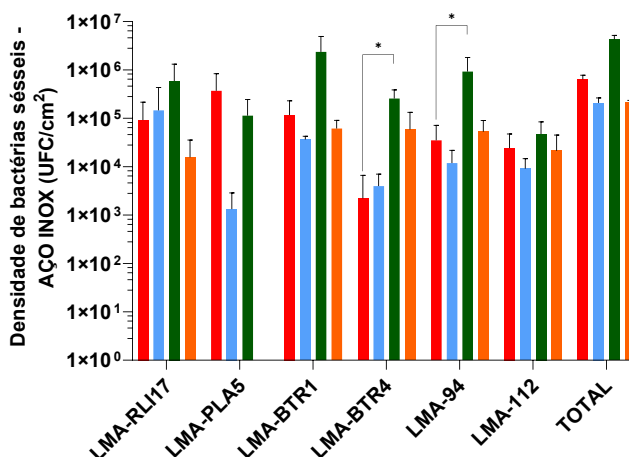
6.3. Avaliação do uso de bacteriófagos e cloro no controle microbiano em reator *Rack by-pass* alimentado com água sintética

6.3.1. Avaliação de fagos e cloro na remoção de biofilmes

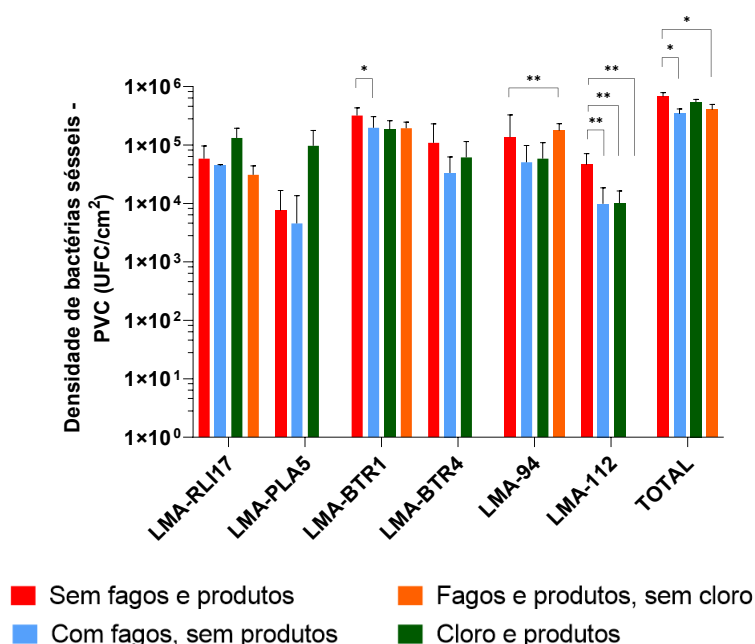
No estudo, observou-se a formação de biofilme nos cupons de PVC e aço inox mantidos por 7 dias no sistema *Rack by-pass*. No entanto, a densidade de células sésseis foi maior nos cupons de PVC em comparação aos de aço inoxidável, com valores médios de $3,7 \times 10^5$ UFC/cm² e $2,4 \times 10^5$ UFC/cm², respectivamente (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Monitoramento da remoção da comunidade bacteriana em biofilmes formados em cupons de aço inoxidável (A) e PVC (B) após o tratamento com fagos e cloro.

A



B



O tratamento dos cupons com cloro e bacteriófagos resultou em diferentes níveis de remoção, variando conforme a bactéria alvo e o material dos cupons. Considerando a densidade total de células sésseis, somatório de todas as espécies presentes, o uso de fagos resultou em taxas de remoção de biofilme de 67,43% e 67,3% nos cupons de aço inox mantidos nas Linhas 2 e 4, respectivamente, e de 51,3% e 42% nos cupons de PVC das mesmas linhas, em comparação aos controles não tratados (Linha 1). Por sua vez o cloro não apresentou efeito significativo na remoção de bactérias sésseis nos cupons de aço inox, e embora tenha promovido remoção nos cupons de PVC, os valores foram menores, com média de 27,4%.

Considerando o efeito dos tratamentos utilizando fagos (com e sem a adição de produtos) sobre as diferentes espécies bacterianas, em cupons de aço inoxidável, as maiores reduções de biofilme foram observadas para *S. marcescens* LMA-PLA5 (99%), *P. oleovorans* LMA-BTR1 (58,3%) e *P. aeruginosa* LMA-RL117 (42%). Já as cepas *Acinetobacter* sp. LMA-112 (37,2%) e *S. maltophilia* LMA-94 (33,4%) apresentaram reduções mais modestas, enquanto *G. creatinolyticus* LMA-BTR4 exibiu aumento na densidade do biofilme após o tratamento. O cloro, de modo geral, foi menos eficaz nesses cupons, resultando em um aumento da densidade do biofilme para todas as cepas, exceto LMA-PLA5.

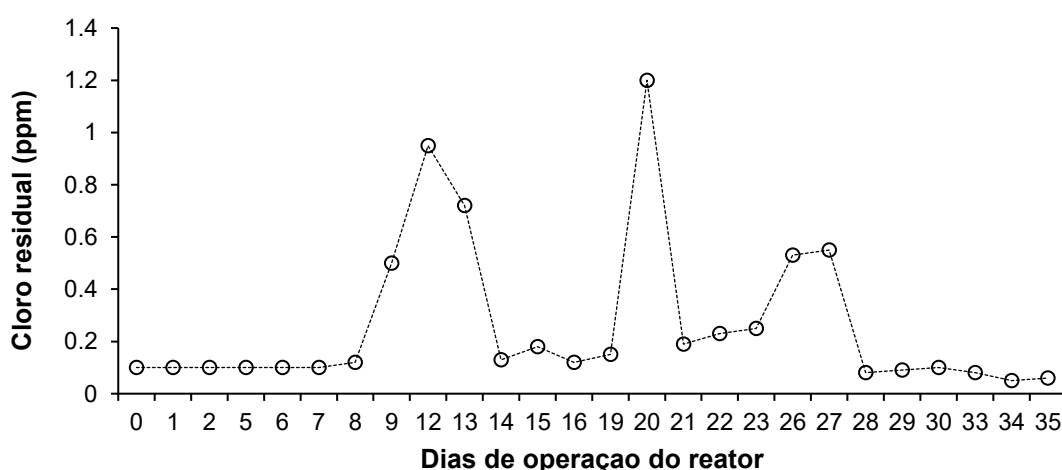
Nos cupons de PVC, o tratamento com fagos foi mais efetivo contra as cepas LMA-112 (89%), LMA-BTR4 (84,8%) e LMA-PLA5 (70%), evidenciando que o material

da superfície influencia a resposta ao tratamento. Todos os tratamentos foram significativos para a cepa LMA-112, enquanto, para a cepa BTR1, apenas o tratamento com fagos (sem produtos) apresentou efeito significativo. Nesse material, o tratamento com cloro promoveu aumento da densidade do biofilme apenas nas cepas LMA-RLI17 e LMA-PLA5. Considerando o valor total de BHT, os tratamentos com fagos, tanto na presença quanto na ausência de produtos, mostraram-se significativos na redução da carga bacteriana. O efeito comparativo dos tratamentos com fagos e cloro sobre as diferentes espécies presentes nos biofilmes formados nos cupons de aço inox e de PVC podem ser visualizados no Gráfico 3.

6.3.2. Avaliação de fagos e cloro na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e de PVC

Como observado nos testes de remoção de biofilmes, os tratamentos com cloro (T3) e fagos (T2 e T4) mostraram efeitos distintos na inibição da formação de biofilmes, variando conforme o período, espécie bacteriana e o tipo de material do corpo de prova (Gráfico 5 e Gráfico 6). Os níveis de cloro residual permaneceram próximos a 0,265 ppm na linha 3, com picos em diferentes períodos, o que pode ter resultado na variação da densidade bacteriana ao longo do tempo (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Níveis de cloro residual observados no sistema Rack By-pass.

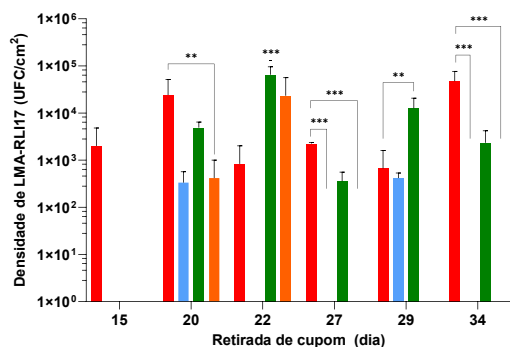


Para a inibição da formação de biofilme em cupons de policloreto de vinila (PVC), verificou-se um padrão mais consistente e intenso de resposta aos tratamentos (Gráfico 5). O cloro promoveu reduções significativas para os grupos LMA-PLA5 (dia

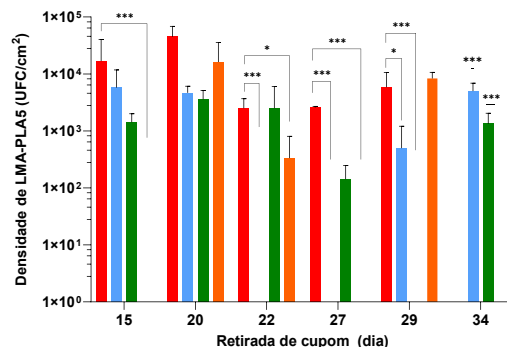
29), LMA-BTR4 (dias 20, 27 e 29), LMA-94 (dia 20) e LMA-112 (dias 20 e 27). O tratamento com fagos resultou em reduções significativas para LMA-RLI17 (dia 27 e 34), LMA-PLA5 (dias 22, 27 e 29), LMA-BTR1 (dia 34), LMA-BTR4 (dias 27 e 29), LMA-112 (dias 20 e 27). O tratamento utilizando fagos e produtos apresentou o efeito mais pronunciado e estável, com reduções significativas para LMA-RLI17 (dias 20, 27 e 34), LMA-PLA5 (dias 15, 22 e 27), LMA-BTR1 (dia 15), LMA-BTR4 (dias 15 e 27), LMA- 94 (dia 22) e LMA-112 (dias 15 e 27). Em relação ao valor total de BHT, observou-se redução significativa apenas no grupo tratado com fagos e produtos no dia 15.

Gráfico 5 – Monitoramento das densidades de bactérias sésseis aderidas a cupons de PVC nos sistemas controle (L1) e tratados (L2, L3 e L4): A) Densidade de *P. aeruginosa* LMA-RLI17, B) *S. marcescens* LMA-PLA5, C) *P. oleovorans* LMA-BTR1, D) *G. creatinolytic* LMA-BTR4, E) *S. maltophilia* LMA-94 e F) *Acinetobacter* sp. LMA-112, G) Total de bactérias.

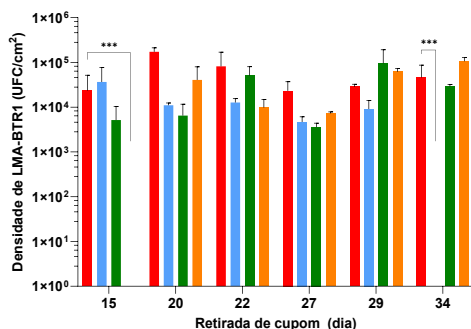
A



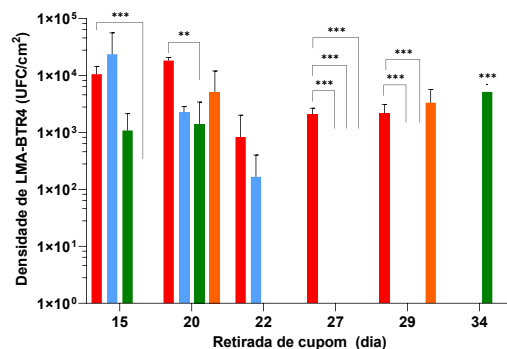
B



C

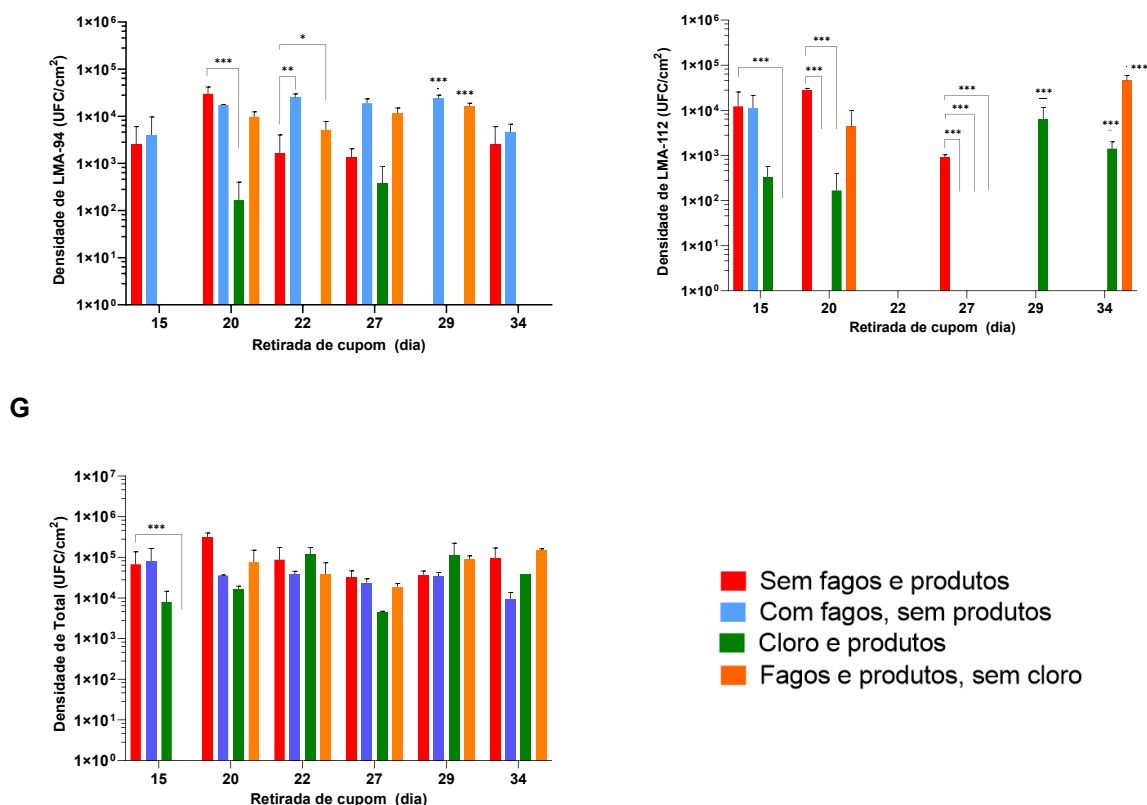


D



E

F

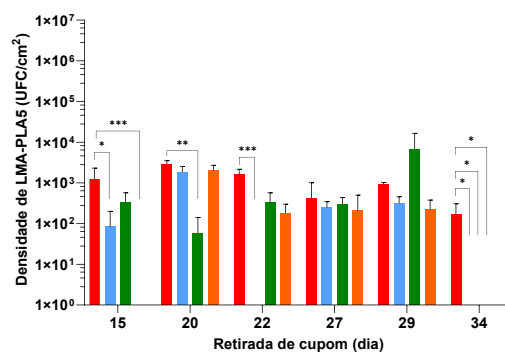
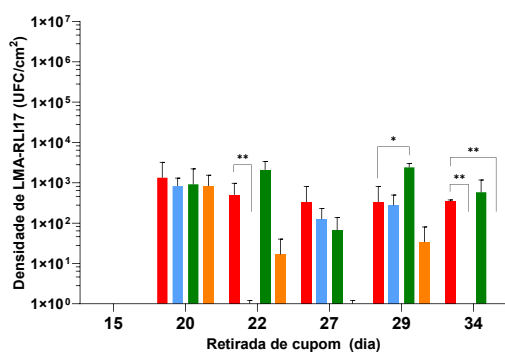


Nos cupons de aço inoxidável, observou-se que os tratamentos apresentaram efeitos distintos em relação ao grupo controle (sem fagos e produtos) ao longo das retiradas (Gráfico 6). O tratamento com cloro resultou em reduções significativas ($p < 0,05$) para as diferentes bactérias sésseis, indicando efeito inibitório consistente em LMA-PLA5 (dias 20 e 34), LMA-BTR4 (dias 15, 20 e 22), LMA-94 (dias 20, 29 e 34) e LMA-112 (dia 15). O uso de fagos apresentou reduções significativas ($p < 0,05$) para os grupos de bactérias LMA-RLI17 (dias 22 e 34), LMA-BTR4 (dias 22 e 34) e LMA-PLA5 (dias 15, 22 e 34). Em contraste, o tratamento combinado (fagos e produtos) apresentou reduções significativas em praticamente todos os grupos bacterianos e períodos avaliados: para LMA-RLI17 (dia 34), LMA-PLA5 (dias 12 e 34), LMA-BTR1 (dias 15 e 29), LMA-BTR4 (dias 15 e 34), LMA-94 (dia 34) e LMA-112 (dia 15).

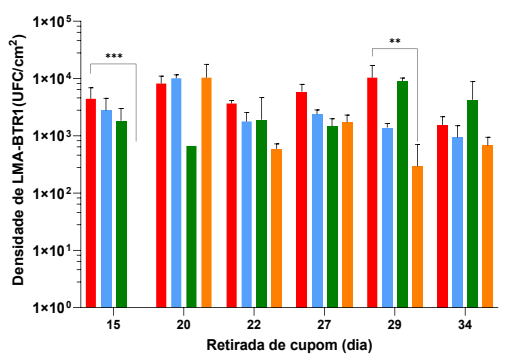
Gráfico 6 – Monitoramento das densidades de bactérias sésseis aderidas a cupons de aço inoxidável nos sistemas controle (L1) e tratados (L2, L3 e L4): A) Densidade de *P. aeruginosa* LMA-RLI17, B) *S. marcescens* LMA-PLA5, C) *P. oleovorans* LMA-BTR1, D) *G. creatinolytic* LMA-BTR4, E) *S. maltophilia* LMA-94; F) *Acinetobacter* sp. LMA-112 e G) Total de bactérias.

A

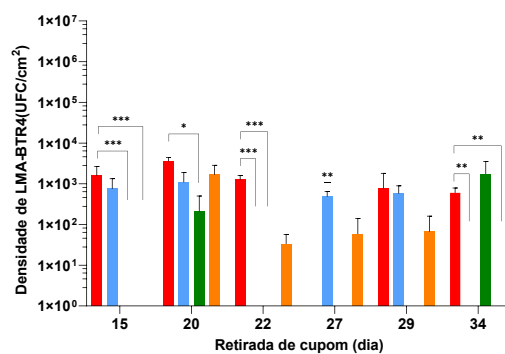
B



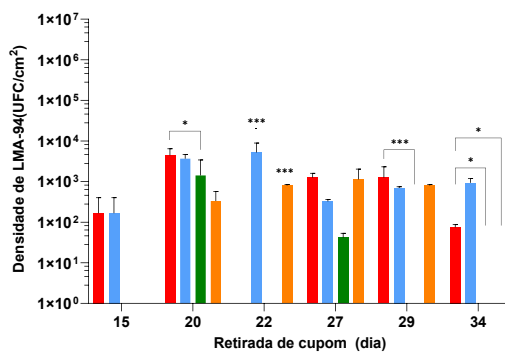
C



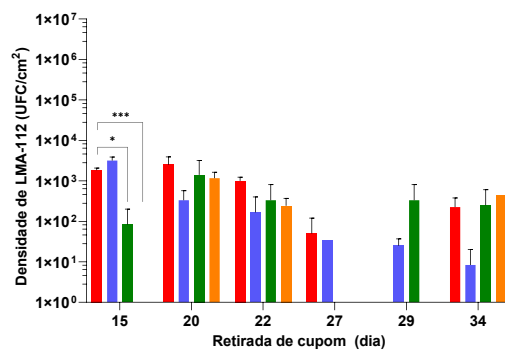
D



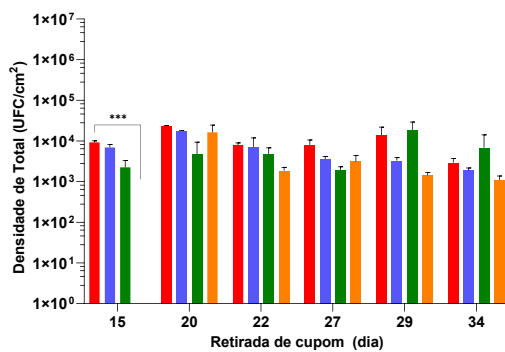
E



F



G



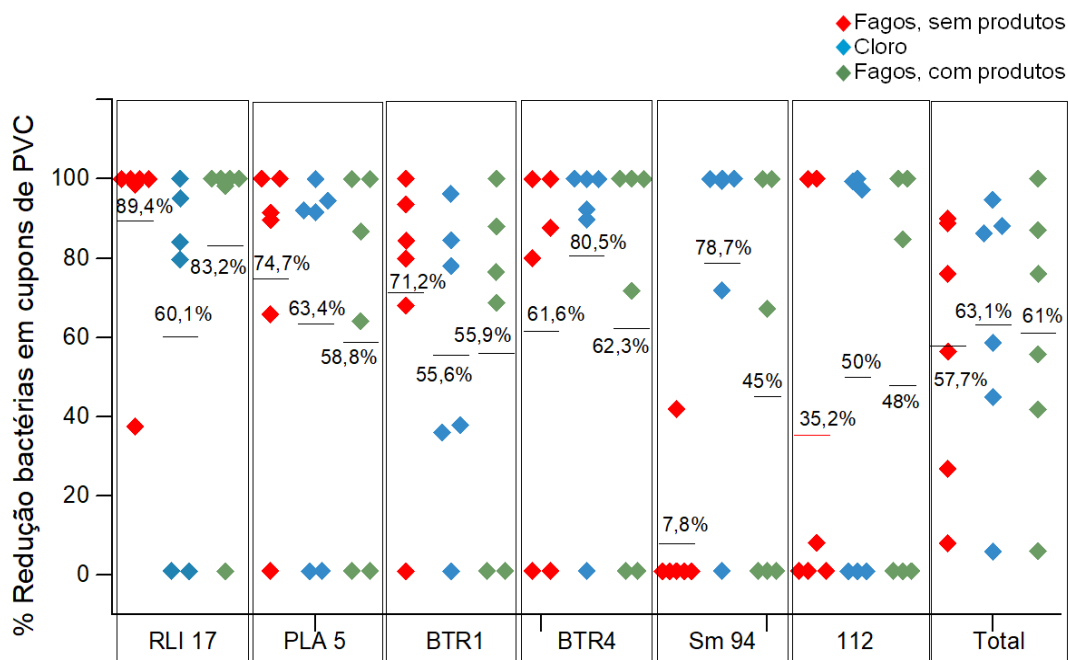
■ Sem fagos e produtos
■ Com fagos, sem produtos
■ Cloro e produtos
■ Fagos e produtos, sem cloro

De modo geral, o efeito foi maior nos cupons de PVC, diferente do efeito sobre os biofilmes já formados. Os percentuais médios de diminuição na densidade de células sésseis nesse material corresponderam a 57,7% e 61% nos tratamentos com fagos (T2 e T4) e 63% nos cupons tratados com cloro (T3). Por sua vez os valores corresponderam a 37,5% e 53,2 e 45,8% para os cupons de aço inox tratados somente com fagos (T2), fagos e produtos anticorrosivos e dispersantes (T4) e cloro e produtos químicos (T3), respectivamente.

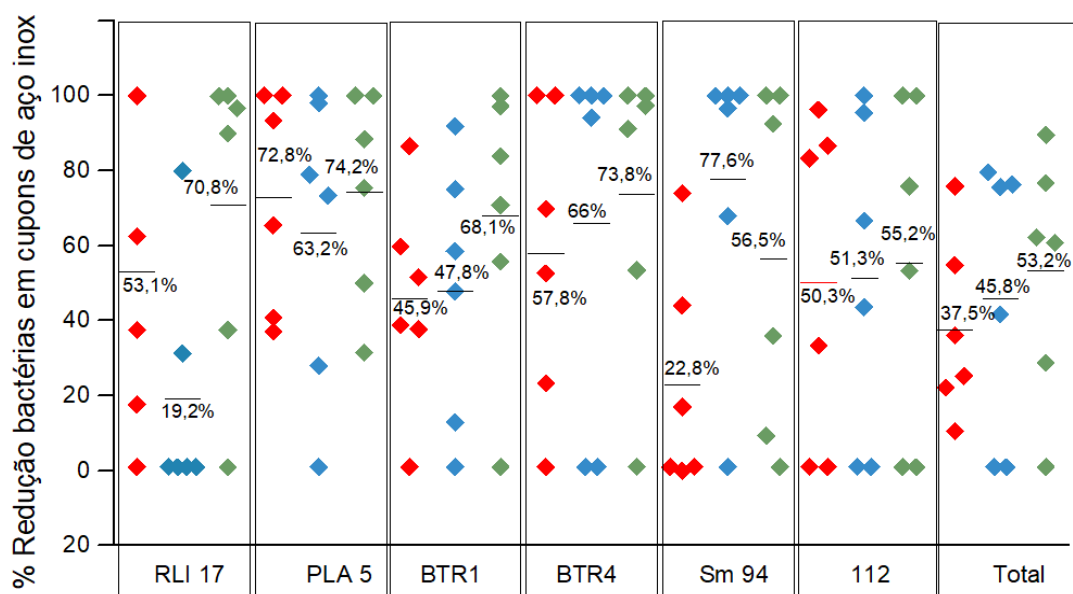
Independente do corpo de prova, as bactérias que tiveram maior inibição de formação de biofilme foram *P. aeruginosa* LMA-RLI17, *S. marcescens* LMA-PLA5, *G. creatinolyticus* LMA-BTR4 e *P. oleovorans* LMA-BTR1, com reduções percentuais médias no período experimental variando de 52 a 89%. No entanto, a bactéria menos afetada, considerando a redução percentual, pelo cloro em relação ao tratamento com fagos foi *P. aeruginosa* LMA-RLI17, enquanto a mais sensível ao cloro foi *S. maltophilia* LMA-94 (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Efeito de fagos e cloro no percentual de inibição da formação de biofilmes em cupons de PVC (A) e aço inox (B) em função dos respectivos controles.

A



B



6.3.3. Monitoramento de bactérias planctônicas e fagos no sistema

Após a inoculação das bactérias, observou-se um aumento inicial na densidade bacteriana, seguido por uma redução até a estabilização em torno de $6,5 \times 10^5$ UFC/mL a partir do quinto dia de operação. Com a estabilização e homogeneidade dos sistemas, bacteriófagos foram inoculados nos tratamentos L2 e L4 no sétimo dia de operação para avaliar seu efeito na redução da densidade de células planctônicas. Na mesma data, iniciou-se o tratamento com cloro e produtos anticorrosivos no sistema L3. Os bacteriófagos utilizados no experimento, LMA-UFMG17.1.4 (multiplicado na linhagem *P. aeruginosa* LMA-RLI17), LMA-UFMG12.2.1 (em *S. marcescens* LMA-PLA5), LMA-UFMGFTR1 (em *P. oleovorans* LMA-BTR1), LMA-UFMG112 (em *Acinetobacter* sp. LMA-112), LMA-UFMG3.1 (em *S. maltophilia* LMA-94) e LMA-UFMGB2 (em *Serratia marcescens* LMA-RLA12), capaz de lisar a linhagem *G. creatinolyticus* LMA-BTR4, foram aplicados com uma multiplicidade de infecção (MOI) de 10, com base na densidade média dos controles no quinto dia de operação. A reaplicação dos fagos foi realizada nos dias 14, 19, 21, 26, 28 e 33. As densidades das bactérias ao longo desse tempo podem ser visualizadas no Gráfico 8.

Gráfico 8 – Densidade de bactérias heterotróficas totais (BHT) nos diferentes reatores ao longo de 35 dias do experimento.

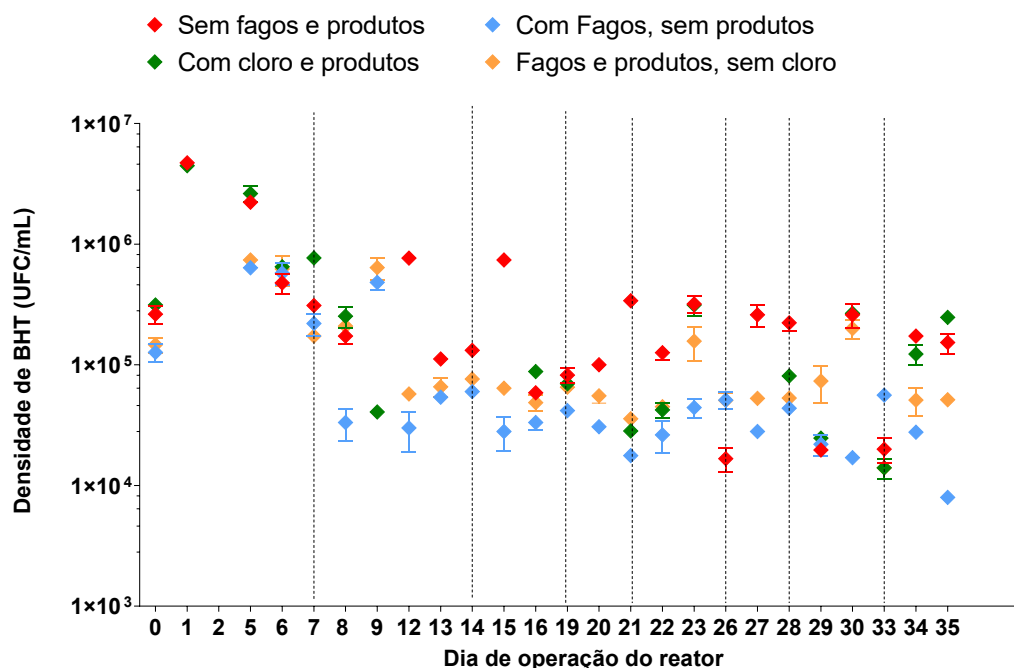


Tabela 17 – Análise da Área Sob a Curva (AUC) dos diferentes tratamentos para BHT.

Tratamento	AUC (média bootstrap)	AUC (IC95%)	Diferença (VS. controle) IC95%
Sem fagos e produtos (controle)	$4,29 \times 10^7$	$3,65 \times 10^6 \pm 5,53 \times 10^7$	-
Cloro e produtos	$3,95 \times 10^6$	$3,17 \times 10^6 \pm 4,55 \times 10^6$	$-5,13 \times 10^7 \pm 2,66 \times 10^5$
Fagos	$2,03 \times 10^6$	$1,29 \times 10^6 \pm 2,36 \times 10^6$	$-5,31 \times 10^7 \pm -1,64 \times 10^6$
Fagos e produtos	$3,86 \times 10^7$	$3,45 \times 10^6 \pm 5,02 \times 10^7$	$-4,10 \times 10^7 \pm 3,63 \times 10^7$

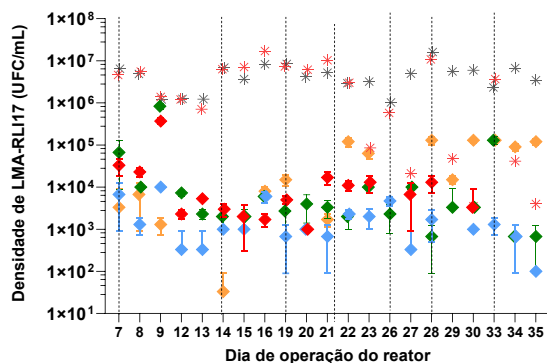
A análise dos resultados, baseada no intervalo de confiança de 95% (IC 95%) da diferença na Área Sob a Curva (AUC), demonstrou uma eficácia variável dos tratamentos entre os diferentes grupos experimentais (Tabela 17).

Os resultados mostraram que o sistema tratado apenas com bacteriófagos (L2) apresentou uma densidade, independente da espécie bacteriana analisada, inferior ao sistema que recebeu o tratamento combinado de bacteriófagos e produtos dispersantes e anticrustantes (L4). Somente o grupo tratado apenas com fagos (L2) promoveu uma redução quando comparada ao grupo controle (sem fagos, sem produtos), com o intervalo de confiança de 95% da diferença. Na linha 3, após dois dias de cloração, as bactérias foram completamente eliminadas e nova inoculação foi feita para avaliar o efeito sobre a inibição da formação do biofilme ao longo do tempo (Gráfico 9). Independente da espécie bacteriana, os percentuais de remoção médios

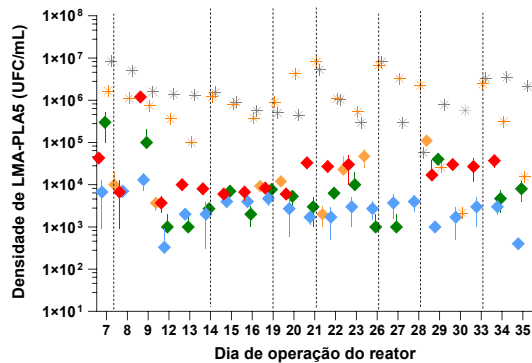
ao longo do tempo nas linhas L2, L3 e L4, corresponderam a 62,3%, 53% e 51,5%, respectivamente (Gráfico 10).

Gráfico 9 – Monitoramento das diferentes espécies de bactérias no sistema controle (L1) e tratamentos (L2, L3 e L4) ao longo do experimento: A) Densidade da *P. aeruginosa* LMA-RLI17, B) *S. marcescens* LMA-PLA5, C) *G. creatinolyticus* LMA-BTR4, D) *S. maltophilia* LMA-94, E) *Acinetobacter* sp. LMA-112, e F) *P. oleovorans* LMA-BTR1.

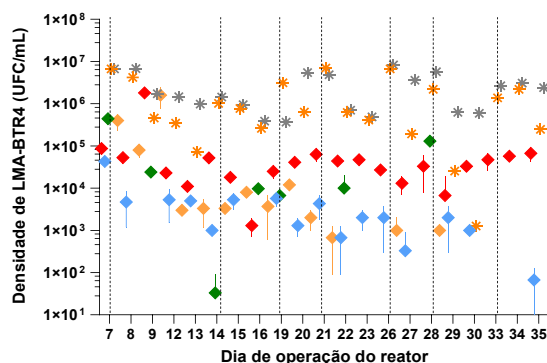
A



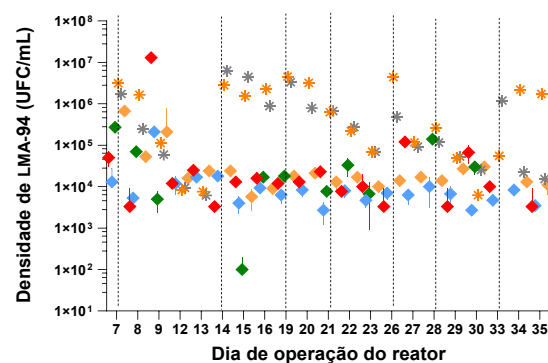
B



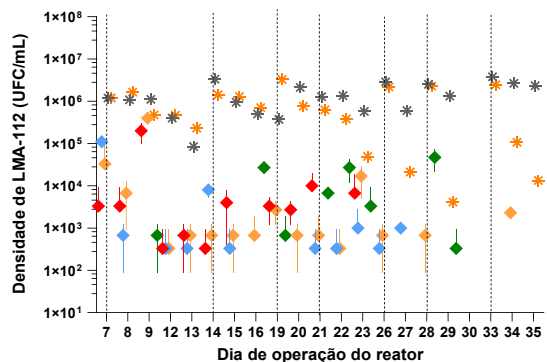
C



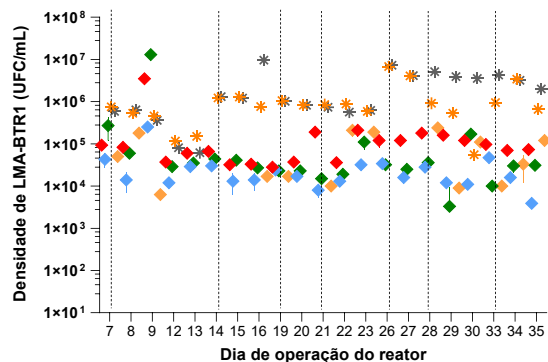
D



E



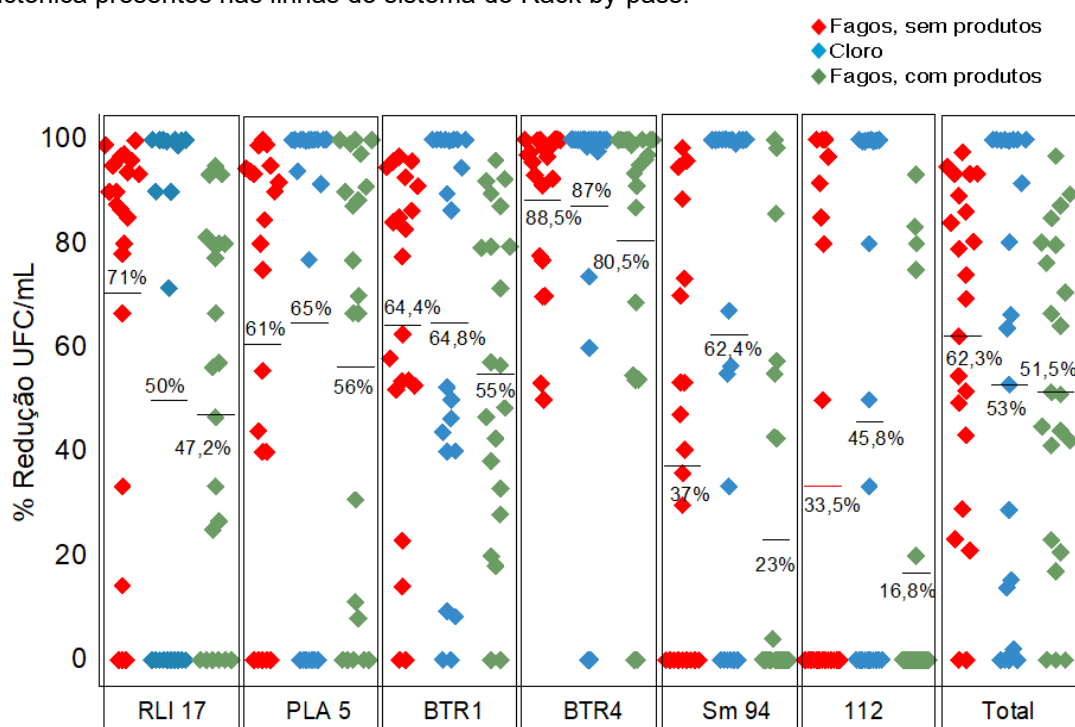
F



- ◆ Sem fagos e produtos
- ◆ Com Fagos, sem produtos
- ◆ Cloro e produtos
- ◆ Fagos e produtos, sem cloro
- * Fagos L2
- * Fagos L4

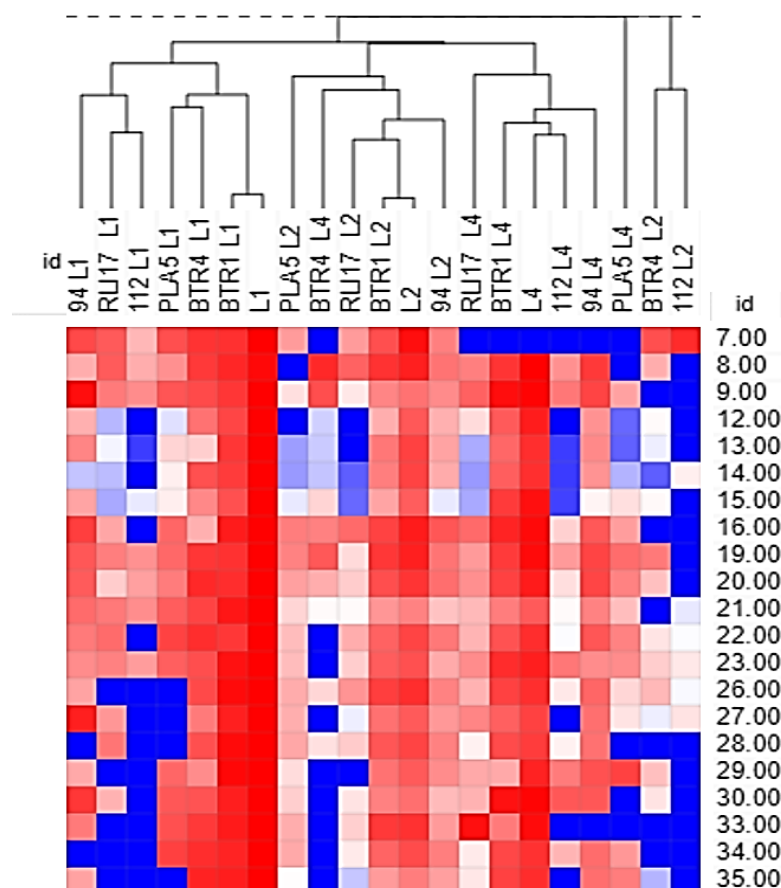
A melhor ação da terapia fágica foi observada para *G. creatinolyticus* LMA-BTR4 em ambos os tratamentos L2 e L4, com reduções de 1 a 2 unidades Log, em torno de 88,5% e 80,5% em termos percentuais, incluindo ausência de contagens após o 20º dia de operação no L2 e 21º dia no L4. Efeito similar foi observado para a bactéria *S. marcescens* LMA-PLA5, com uma diferença de 10 vezes entre o controle L1 e os tratamentos L2 e L4 já na primeira inoculação. Os efeitos de controle de bactérias pelos fagos também foram significativos para as bactérias *P. aeruginosa* LMA-RLI17 e *P. oleovorans* LMA-BTR1, sendo os efeitos menores na Linha 4 em relação a L2. Por sua vez, os menores efeitos foram observados para a bactéria *Acinetobacter* sp. 112 e *S. maltophilia* LMA-94, cujos percentuais de redução de células nas linhas L2 e L4 em relação ao controle (L1) corresponderam a 33,5% e 16,8% e 37,2% e 23,2%, respectivamente (Gráfico 10).

Gráfico 10 – Percentual de redução da densidade das diferentes espécies bacterianas na forma planctônica presentes nas linhas do sistema do Rack by-pass.



De modo geral, considerando os tratamentos utilizando os fagos e controle, observa-se que o perfil da comunidade bacteriana foi específico para cada linha do reator, como visualizado pela análise de agrupamento hierárquico usando *software online* Morpheus (<https://software.broadinstitute.org/morpheus>, Broad Institute) (Figura 16). Isso confirma o efeito diferenciado das condições físico-químicas e biológicas de cada reator que afetou de forma diferenciada a comunidade microbiana dos sistemas.

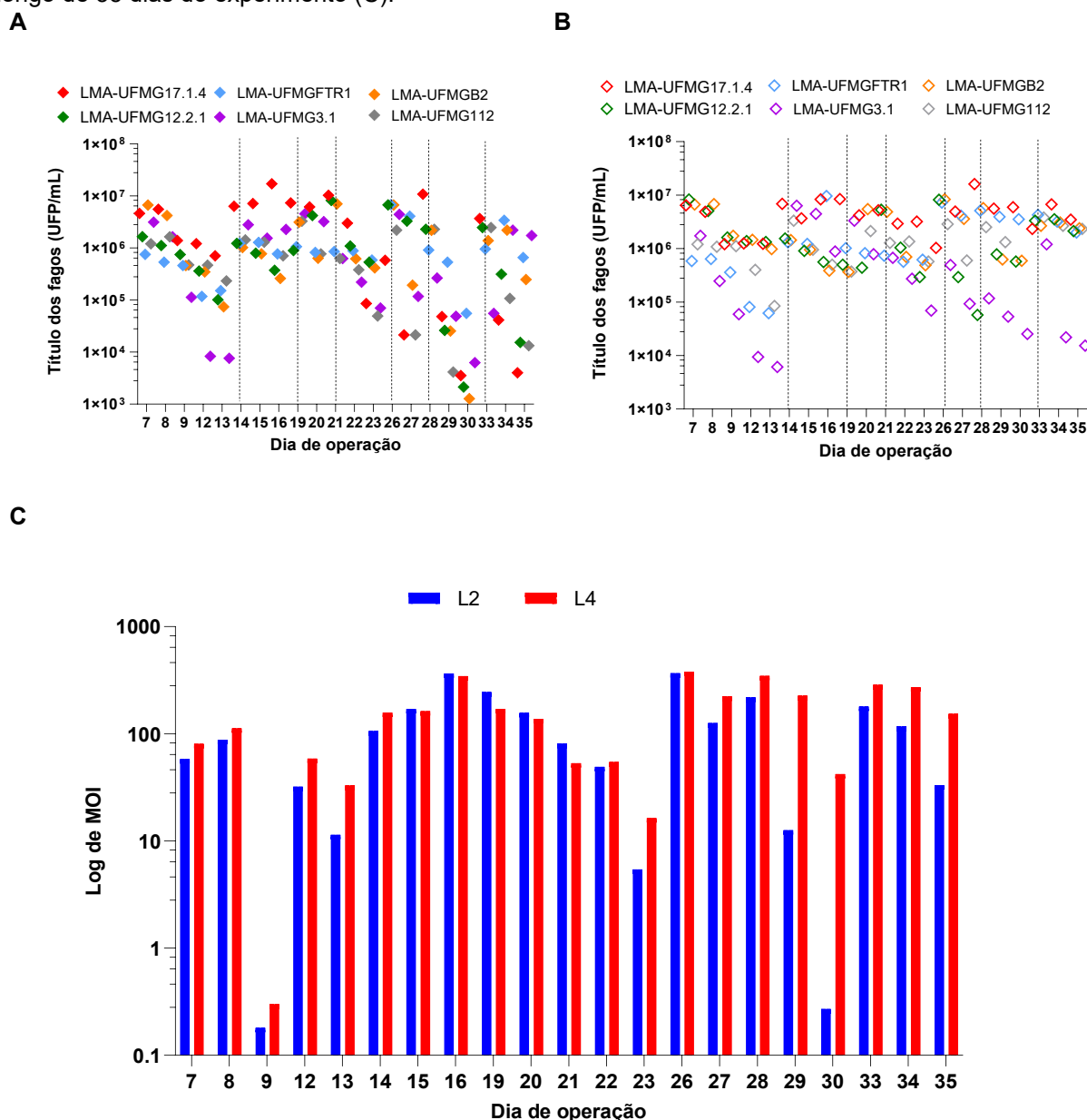
Figura 16 – Agrupamento dos dados de densidade celular das diferentes espécies bacterianas e da densidade total presente nas linhas do sistema Rack by-pass utilizando software online Morpheus (<https://software.broadinstitute.org/morpheus>, Broad Institute).



Com relação ao título dos fagos nas linhas L2 e L4 do sistema Rack By-pass, o perfil foi bem semelhante (Gráfico 11). Em L2, o título dos bacteriófagos variou de $6,85 \times 10^4$ UFP/mL até $2,76 \times 10^7$ UFP/mL, com uma média de $1,20 \times 10^7$ UFP/mL. No tratamento L4, os valores variaram de $3,7 \times 10^4$ UFP/mL até 3×10^7 UFP/mL, com uma média de $1,5 \times 10^7$ UFP/mL. Entre a primeira (D7) e a segunda inoculação (D14), observou-se uma redução de aproximadamente 1 log no título em ambos os

tratamentos. A partir da segunda até a quarta inoculação, houve estabilidade nos títulos. Após a quarta inoculação, o tratamento L4 mostrou maior estabilidade em comparação com o tratamento L2, com uma queda mais acentuada no título do tratamento L2 entre as inoculações dos dias D27 e D33. Verificou-se que a MOI média para o sistema L2 foi de 119,6 e 158,0 para o L4.

Gráfico 11 – Densidade de bacteriófagos totais nas linhas 2 (A) e linha 4 (B) e a MOI observada ao longo de 35 dias do experimento (C).



Os fagos LMA-UFMG17.1.4, LMA-UFMG12.2.1, LMA-UFMGFTR1, LMA-UFMG112, LMA-UFMG3.1 e LMA-UFMG2 demonstraram maior estabilidade no tratamento L4 em comparação ao L2. Destaca-se que o fago LMA-UFMG3.1 apresentou a maior instabilidade em ambos os tratamentos. Após 21 dias de

experimento, a redução no título dos fagos tornou-se mais evidente no tratamento L2, com aumentos observados apenas durante as reinoculações.

Também foi avaliado o efeito dos produtos comumente usados pela Kurita no tratamento de água que circula nas torres de resfriamento de unidades da Petrobras na estabilidade de fagos. Foi observado que os produtos, de modo geral, não comprometem negativamente a estabilidade dos fagos (Os resultados estão apresentados no item 6.1). Assim, acredita-se que a diferença nos percentuais de redução observados na linha 4, em comparação à linha 2, se deve ao fato de que esses produtos podem ter servido como fonte de carbono e energia para as bactérias, promovendo um aumento no crescimento e, conseqüentemente, na densidade populacional no sistema. Esse efeito pode ter mascarado o efeito positivo dos fagos na linha 4 em relação a linha 2, que não recebeu tais produtos.

6.3.4. Parâmetros físico-químicos e índices de estabilidade da água.

Os resultados referentes às coletas ao longo do experimento estão compilados na tabela 6. A temperatura média das amostras retiradas das purgas e internamente nos barriletes mantiveram-se estáveis em torno de 23°C e 37°C, respectivamente, em todos os tratamentos. A vazão permaneceu constante em 550 L/h. Individualmente para cada tratamento. Observou-se que, em geral, análise estatística dos parâmetros físico-químicos as diferenças entre as médias globais dos grupos experimentais não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). As exceções significativas foram ($p < 0,05$): uma redução drástica do pH por todos os tratamentos, uma diminuição do Oxigênio Dissolvido pelo Cloro e, mais proeminentemente, um aumento substancial da Turbidez causado pelo tratamento com Fagos, em contraste com a redução da mesma pelo tratamento com Fagos com produtos.

Os dados de média geral dos parâmetros físico-químicos nos tratamentos L1 (Controle), L2 (Fagos), L3 (Cloro e Produtos) e L4 (Fagos e Produtos) evidenciam algumas diferenças entre as condições de tratamento. O pH da água influencia a eficácia dos biocidas e a corrosividade.

O potencial de oxirredução (ORP) teve maior valor médio em L3 (399,83 mV), evidenciando maior potencial oxidativo nele, enquanto L1 (Controle) registrou o menor ORP médio (317,7 mV). O oxigênio dissolvido foi similar entre os tratamentos, com médias entre 6,8 e 7,4 mg/L. A turbidez foi mais alta em L3 (Cloro e Produtos), com

média de 3,0 FNU, indicando maior quantidade de partículas suspensas, viáveis ou não. A condutividade elétrica foi maior em L4 (1128,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$), refletindo maior presença de íons, e consequentemente, uma menor resistividade (927,1 $\Omega\cdot\text{cm}$). Os sólidos dissolvidos totais (SDT) médios foram mais elevados em L4, com média de 729,7 mg/L, enquanto L3 teve o menor valor (693,8 mg/L). Esses resultados inferem que o tratamento com Fagos e Produtos (L3) elevou a oxidação e a concentração de íons, enquanto L3 (Cloro e Produtos) manteve condições mais neutras e com menor quantidade de sólidos dissolvidos.

Os índices de estabilidade da água sintética foram calculados no início e ao final do experimento, incluindo os índices de Saturação de Langelier (LSI), o Índice de Estabilidade de Ryznar (RSI) e o Índice de incrustação de Puckorius (PSI) (Tabela 18).

Tabela 18 – Parâmetros diversos usados para cálculo dos índices de estabilidade da água sintética ao início e finalização do experimento.

Parâmetros	Linha 1		Linha 2		Linha 3		Linha 4	
	DIA 1	DIA 35	DIA 1	DIA 35	DIA 1	DIA 35	DIA 1	DIA 35
Alcalinidade	25,1	13,7	25,1	18,2	22,8	16,0	16,0	16,0
Cloreto	206,7	174,8	205,3	180,3	215,0	191,4	213,6	180,3
Dureza total	199,5	189,4	197,0	209,6	209,6	171,7	207,1	197,0
Dureza Ca	42,9	78,3	58,1	73,2	55,6	101,0	37,9	111,1
Dureza Mg	156,6	111,1	138,9	136,4	154,0	70,7	169,2	85,9
LSI	-2,4	-1,7	-2,3	-1,4	-2,3	-1,9	-2,7	1,8
RSI	11,4	10,6	11,2	10,3	11,2	10,7	11,9	10,5
PSI	11,3	11,7	11,1	11,3	11,3	11,3	12,2	11,2
pH	6,6	7,3	6,5	7,4	6,6	6,9	6,5	7,0

Os valores de LSI nos diferentes reatores foram negativos, indicando uma condição corrosiva nos sistemas durante todo o experimento. Apesar disso, há uma redução da corrosividade ao longo do tempo (D35 comparado a D1) em todos os tratamentos, com a água do barrilete 4 mostrando a maior mudança no valor de LSI (-2,7 para -1,8), indicando que os produtos desincrustantes e dispersantes ajudaram a reduzir a corrosividade. A adição de NaClO, resultou em menor redução nos índices de corrosividade, e o uso de cloro parece ter exacerbado a corrosão, como evidenciado por um valor de LSI mais expressivo em D35 (-1,9). O cloro pode ter influenciado a capacidade tamponante da água, que poderia explicar a redução da alcalinidade observada no período do estudo.

Esse perfil corrosivo também foi mostrado pelos valores de RSI, que estão acima de 6. Os valores de RSI também diminuíram em todos os tratamentos ao longo do

experimento, refletindo uma melhora na estabilidade da água, com menor tendência à corrosão ao final do experimento (D35). A maior redução no RSI também ocorreu no barrilete 4, onde o valor caiu de 11,9 para 10,5. Assim como os outros índices, o PSI apresenta uma condição corrosiva no início e ao final do experimento. Contudo, as mudanças nos valores são menores comparadas ao LSI e RSI. A água do barrilete 4 apresenta uma pequena variação no PSI, indicando que não houve uma melhora significativa em relação à tendência de corrosão. A adição de fagos na linha 2 também foi eficaz, mas com uma redução mais moderada nos índices em comparação com os demais tratamentos.

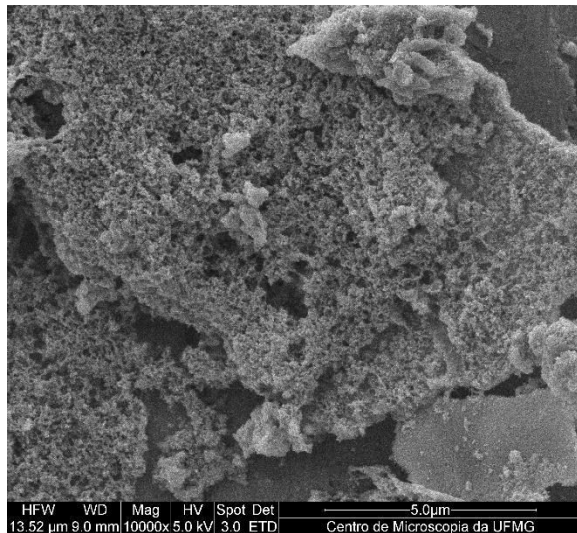
6.3.5. Análise microscópica do biofilme formado em cupons de aço inox e PVC.

Os biocupons de aço inox e PVC, utilizados para verificação da inibição do biofilme, foram submetidos a microscopia para observação dos biofilmes formados (Figuras 17 e 18). As imagens obtidas mostram a colonização das superfícies pelas bactérias utilizadas no estudo, apresentando diferenças entre os diversos tratamentos. Tais imagens proporcionam, também, a diferença morfológica entre os biofilmes formados em ambos os cupons. Para os cupons de aço inox e PVC ocorreu a formação de biofilmes mais evidentes no tratamento 2, quando comparado aos outros.

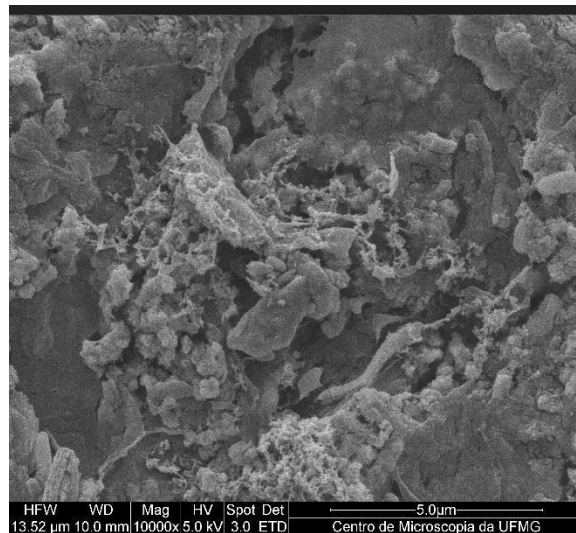
Nas imagens com aumentos maiores, é possível observar uma densa camada de biofilme cobrindo a superfície de cupom retirado do barrilete controle (linha 1). Isso é típico de biofilmes que não sofreram intervenção. Os cupons tratados com cloro apresentam bactérias isoladas na superfície, mas uma ausência quase completa de biofilme denso, como observado no controle. O tratamento com cloro é conhecido por causar degradação rápida da matriz extracelular, levando à desorganização do biofilme. No entanto, muitas vezes ainda são observadas células remanescentes, uma vez que as camadas mais internas do biofilme podem ser protegidas da ação do cloro. A Figura B, localizada no canto superior direito, também mostra sinais de degradação do biofilme. Os fagos, como discutido anteriormente, geralmente não removem totalmente o biofilme, mas induzem uma dispersão da matriz, o que parece evidente aqui. A presença de áreas expostas na superfície é uma característica comum nos estudos sobre fagoterapia em biofilmes, onde a matriz bacteriana se torna menos densa.

Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos cupons de Inox (10000x aumentada): A) tratamento 1 (sistema L1); B) tratamento 2 (sistema L2); C) tratamento 3 (sistema L3); D) Tratamento 4 (sistema L4).

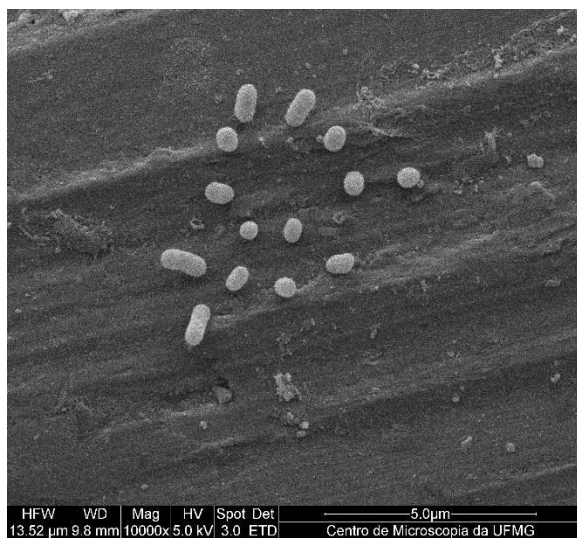
A



B



C



D

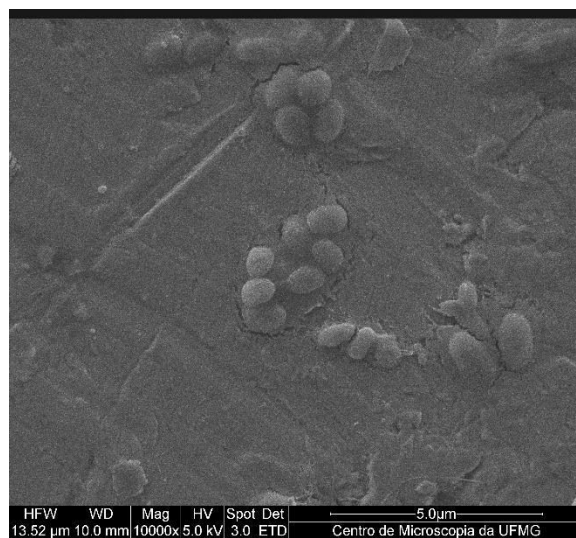
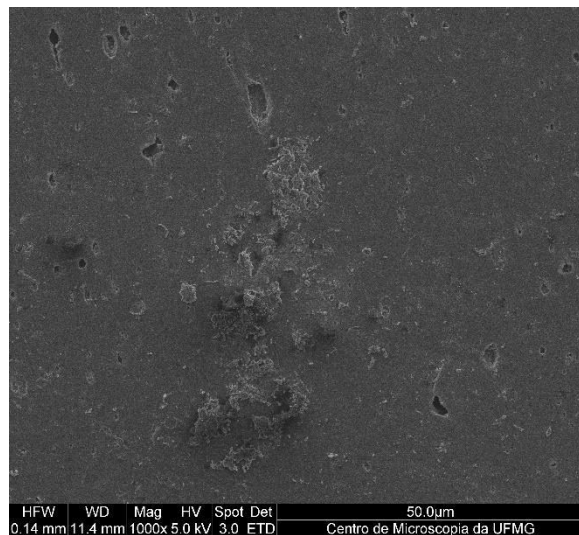
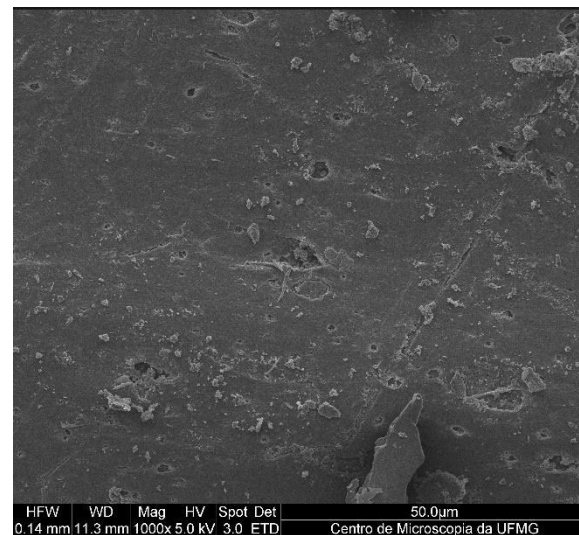


Figura 18 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos cupons de PVC (1000x aumentada): A) tratamento 1 (sistema L1); B) tratamento 2 (sistema L2); C) tratamento 3 (sistema L3); D) Tratamento 4 (sistema L4).

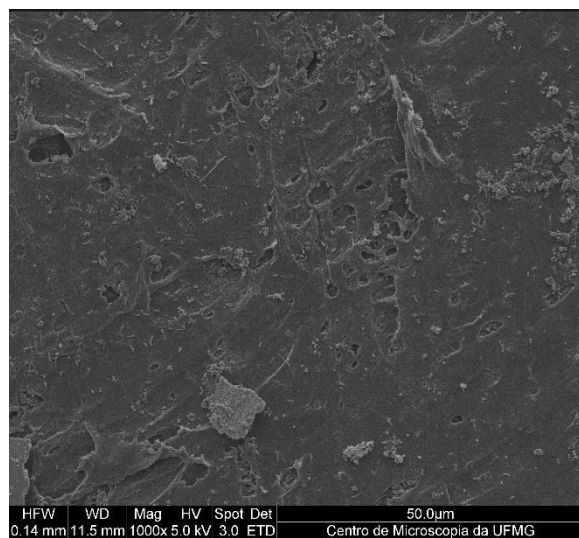
A



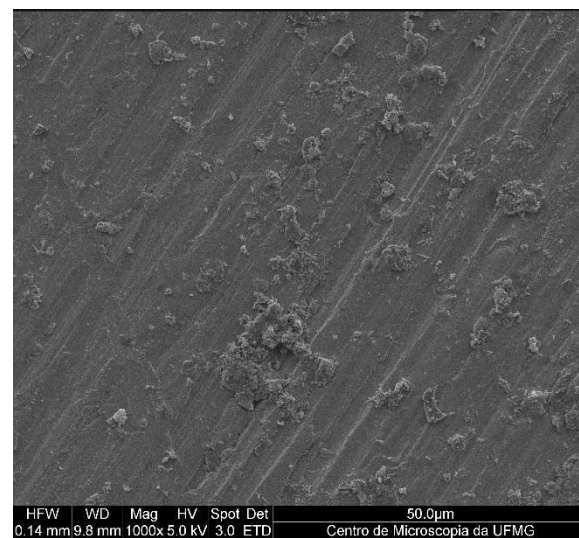
B



C



D

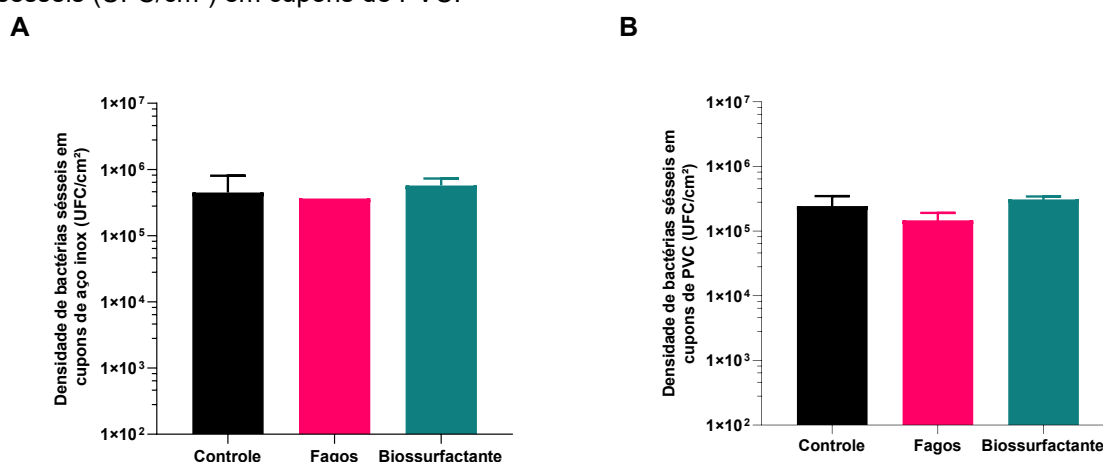


6.4. Teste da eficácia de fagos e ramnolipídeo no controle bacteriano no reator *rack by-pass* com o uso de água de bacia da torre de resfriamento da REPLAN.

6.4.1. Avaliação de fagos e biossurfactante na remoção de biofilmes formado em cupons de aço inox e cupons de PVC.

Os resultados da contagem microbiológica do biofilme formado após sete dias de incubação nos sistemas experimentais (Gráfico 12), aderido aos biocupons de aço inoxidável e PVC, demonstraram a formação de biofilme em todos os tratamentos avaliados, independentemente do tipo de material. A aplicação de bacteriófagos resultou em uma redução da densidade de BHT de 39,7% nos cupons de PVC e de 19,2% nos de aço inoxidável, evidenciando uma eficácia variável dos fagos de acordo com o material utilizado. Por outro lado, o uso de ramnolipídeo não foi capaz de promover a redução na densidade microbiana sésil.

Gráfico 12 – Monitoramento da remoção de bactérias sésseis em cupons de aço inox e PVC: a) Densidade de bactérias sésseis (UFC/cm²) em cupons de aço inoxidável; b) Densidade de bactérias sésseis (UFC/cm²) em cupons de PVC.

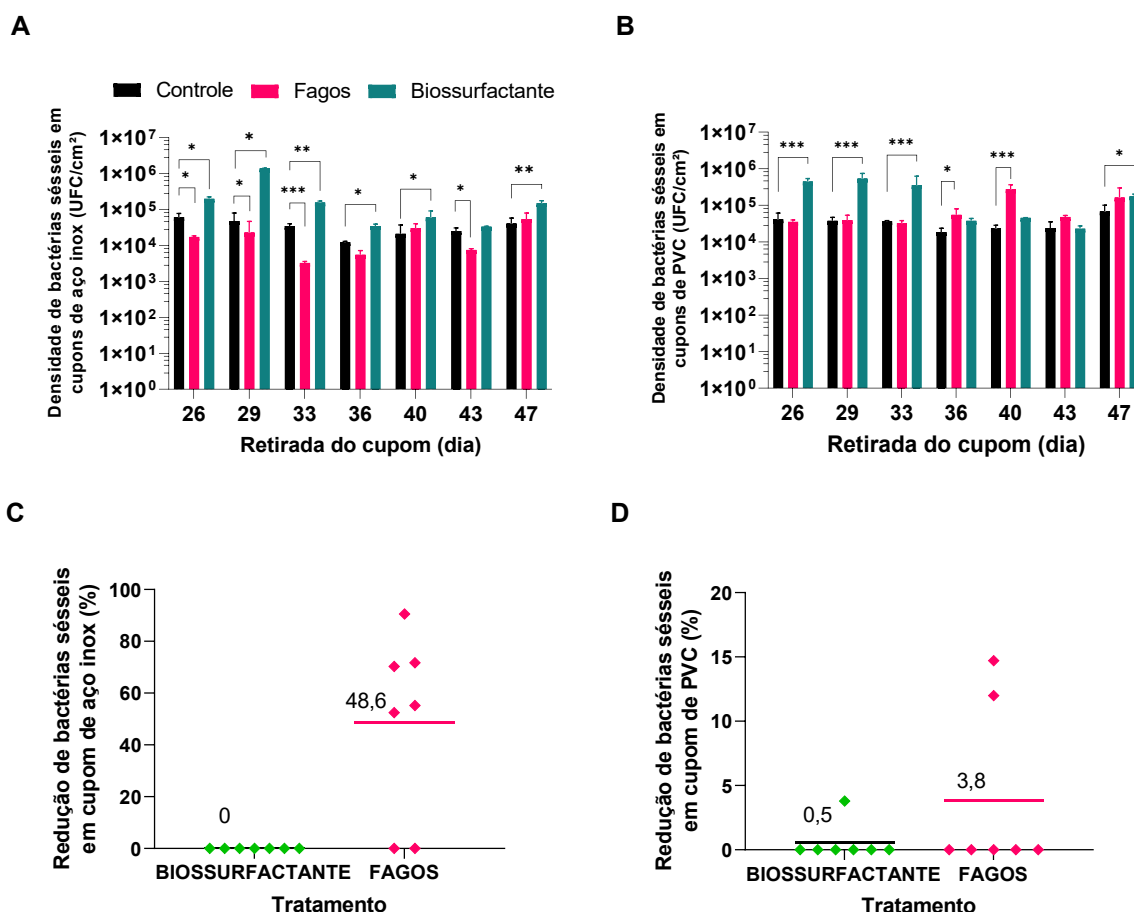


6.4.2. Avaliação de fagos e biossurfactante na inibição da formação de biofilmes formados em cupons de aço inox e cupons de PVC.

A inibição de biofilmes em cupons de aço inox e PVC, tratados com biossurfactante e fagos e avaliados em diferentes datas, foi analisada no experimento (Gráfico 13). Os resultados indicaram que a eficácia dos tratamentos variou conforme o material dos cupons. Os fagos demonstraram maior capacidade de inibição em cupons de aço inox, com redução média de 48% na densidade bacteriana. Em contraste, nos cupons de PVC, a redução foi significativamente menor, com média de

apenas 3,8%. O biossurfactante mostrou-se ineficaz na redução do biofilme em ambos os materiais.

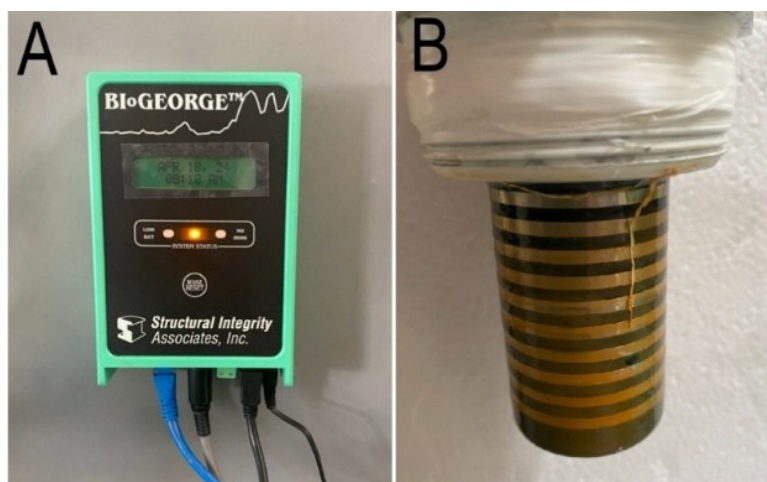
Gráfico 13 – Monitoramento da inibição da formação de biofilmes: a) Densidade de bactérias sésseis totais (UFC/cm²) em cupons de aço inoxidável ao longo do tempo; b) Densidade de bactérias sésseis (UFC/cm²) em cupons de PVC ao longo do tempo; c) Percentual de redução de bactérias sésseis em cupons de aço inoxidável; d) Percentual de redução de bactérias sésseis em cupons de PVC.



6.4.3. Monitoramento da atividade do biofilme através da sonda BioGeorge.

A sonda BioGeorge (Figura 19) foi posicionada nos sistemas ao longo de diferentes etapas do experimento. Do início do experimento até o 14º dia de operação, a sonda monitorou o sistema sem qualquer tratamento; do 14º dia até 26º dia, o monitoramento foi realizado em um sistema tratado com biossurfactantes; do 26º a 38º dia de operação, o foco foi o tratamento com fagos. Os resultados obtidos estão apresentados no Gráfico 14.

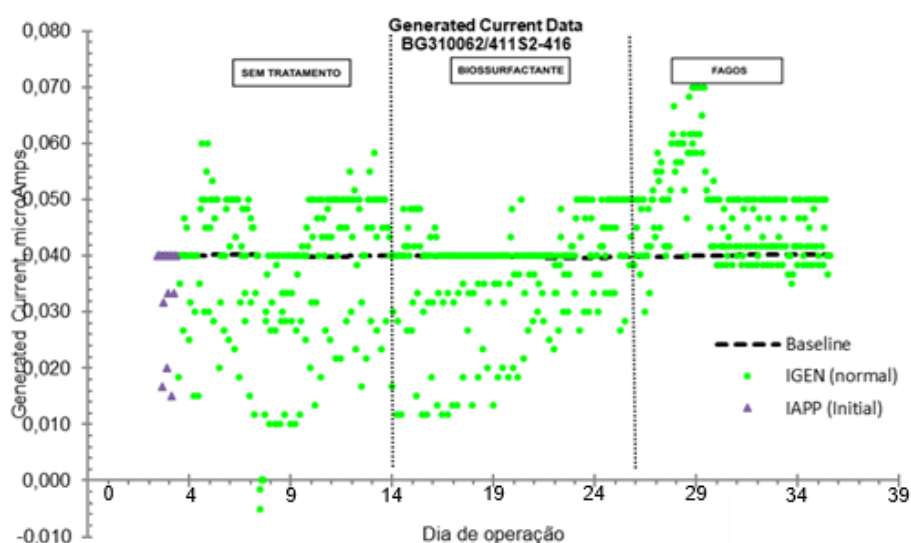
Figura 19 – Sonda BioGeorge: a) Controlador do equipamento; b) Sonda de aço inoxidável após utilização no sistema.



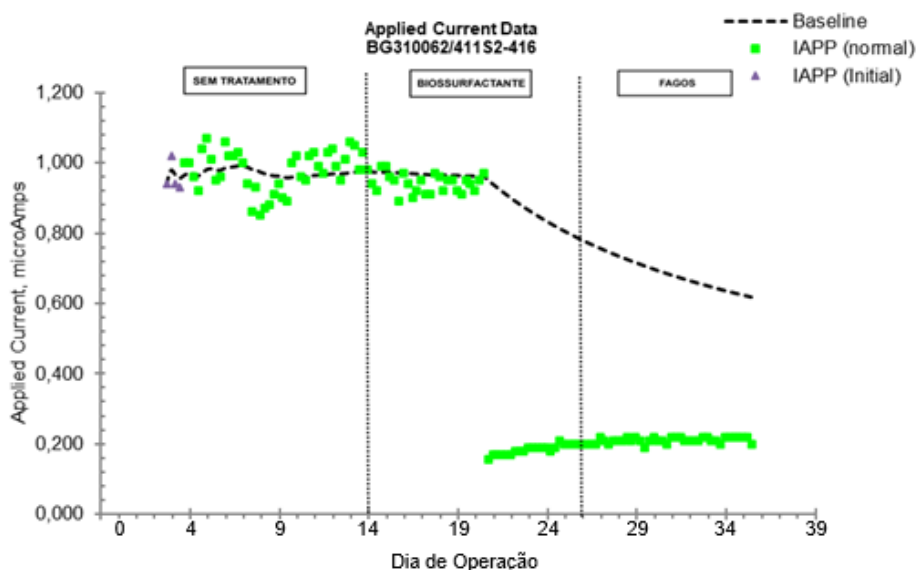
Na fase sem tratamento, a corrente gerada (μA) pela atividade bacteriana refletiu o crescimento natural do biofilme, apresentando flutuações entre -0,01 e 0,06 μA . A aplicação de biossurfactantes promoveu uma discreta redução na corrente, indicando efeito limitado sobre a atividade ou densidade do biofilme, com valores variando de 0,01 a 0,05 μA . Já o tratamento com fagos demonstrou maior eficácia, resultando em redução mais acentuada da corrente (0,03 a 0,07 μA), com valores próximos à linha de base (0,04 μA), sugerindo degradação ou controle mais efetivo do biofilme (Gráfico 14-A).

Gráfico 14 – Monitoramento da atividade de biofilmes através da sonda BioGeorge: a) Corrente gerada (μA); b) Corrente aplicada (μA).

A



B



6.4.4. Monitoramento de bactérias planctônicas e bacteriófagos no sistema rack by-pass utilizando água da bacia da torre REPLAN.

As densidades das bactérias planctônicas em diferentes tratamentos ao longo de quatro etapas estão apresentadas no Gráfico 15. Do início do experimento até o décimo terceiro dia de operação, o sistema se estabilizou, mostrando densidades bacterianas semelhantes entre os grupos tratados, na ordem de $3,0 \times 10^5$ UFC/mL. O início dos tratamentos ocorreu no décimo quarto dia de operação, e foi marcado com um aumento na densidade bacteriana observado, principalmente, no grupo tratado com biosurfactante ($2,4 \times 10^6$ UFC/mL). Do décimo sétimo ao trigésimo quinto dia de operação, o grupo controle manteve densidades estáveis, enquanto o biosurfactante continuou a aumentar as densidades bacterianas, indicando sua ineficácia. Já o tratamento com *pool* de fagos mostrou uma leve redução, sugerindo um efeito moderado. A partir do trigésimo sexto dia de operação, uma alteração na concentração fagos foi implementada. Embora o tratamento utilizando biosurfactante ainda apresentasse densidades elevadas.

De modo geral, o tratamento com bacteriófagos demonstrou um efeito inibitório expressivo, resultando em uma redução significativa da AUC em comparação ao grupo controle, o que é corroborado pelo intervalo de confiança de 95% (IC 95%) inteiramente negativo (Tabela 19). Em contrapartida, o tratamento com o ramnolípido apresentou um efeito adverso, promovendo o crescimento de forma significativa, o que é evidenciado por um IC 95% para a diferença inteiramente positivo. O controle

apresentou uma densidade bacteriana média de $6,0 \times 10^5 \pm 8,61 \times 10^5$ UFC/mL, o grupo tratado com fagos $3,9 \times 10^5 \pm 4,9 \times 10^5$ UFC/mL e o tratado com ramnolípídeo $1,1 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^6$ UFC/mL. O tratamento com fagos reduziu a densidade bacteriana em 38,3%, enquanto o ramnolípídeo obteve redução de 4,8%. Com a concentração ajustada, os fagos resultaram em redução mais expressiva, confirmando seu potencial como agente de controle bacteriano.

Gráfico 15 – Avaliação da atividade de bactérias heterotróficas totais (B.H.T.): a) monitoramento da densidade bacteriana (UFC/mL); b) Percentual de redução da densidade bacteriana nos tratamentos em relação ao controle.

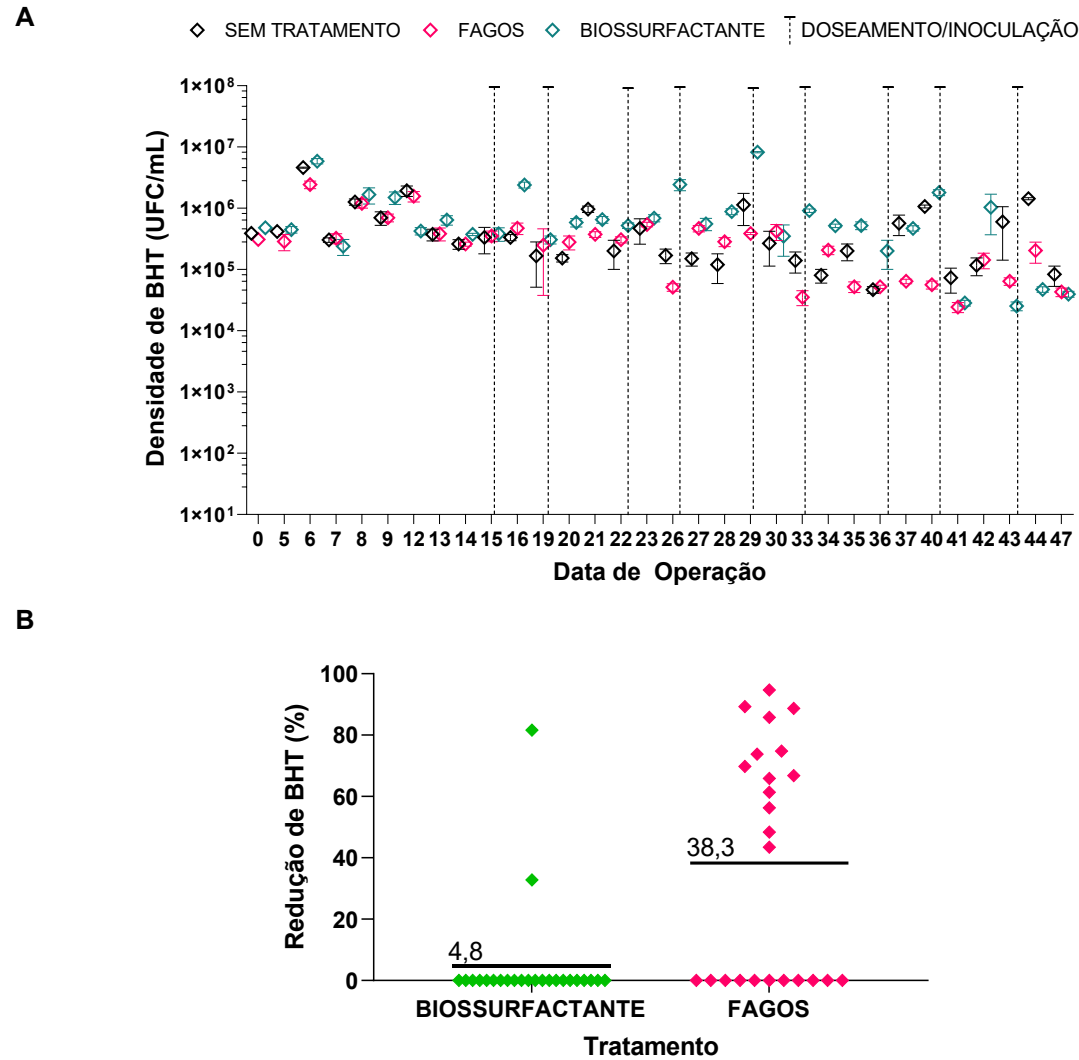


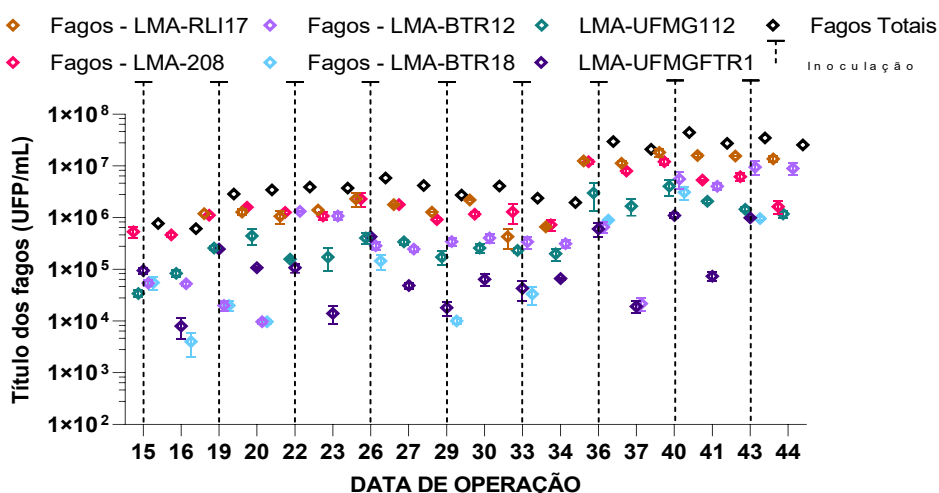
Tabela 19 – Análise da Área sob a curva (AUC) para o experimento com água da Replan.

Tratamento	AUC (média bootstrap)	AUC (IC95%)	Diferença (vs. Controle) IC95%
Controle	$1,32 \times 10^7$	$1,06 \times 10^7 \pm 1,51 \times 10^7$	--
Biossurfactante	$3,22 \times 10^7$	$2,47 \times 10^7 \pm 4,40 \times 10^7$	$1,12 \times 10^7 \pm 3,08 \times 10^7$
Fagos	$6,76 \times 10^6$	$5,88 \times 10^6 \pm 7,67 \times 10^6$	$-8,53 \times 10^6 \pm -3,50 \times 10^6$

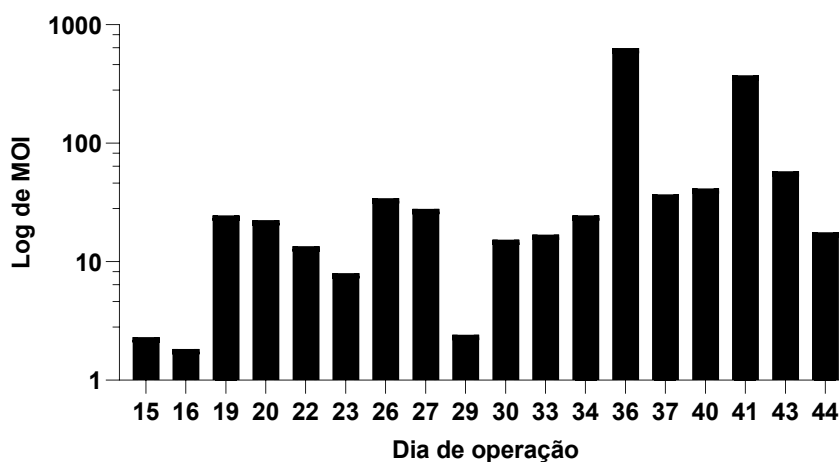
Por sua vez, a densidade dos fagos variou entre $6,1 \times 10^5$ a $4,4 \times 10^7$ UFP/mL, apresentando uma média de $1,2 \times 10^7 \pm 1,41 \times 10^7$ UFP/mL (Gráfico 16-A). Em geral, todos os fagos inoculados apresentaram variações na MOI (Gráfico 16-B). Até o 34º dia do experimento, a variação da MOI foi de 1,84 a 34,42, com valores subsequentes alcançando um máximo de 636,46 e um mínimo de 17,77. Assim, ao ser adicionada uma nova dose do *pool* de fagos, a MOI aumentava, mas diminuía gradualmente após um dia da aplicação até a próxima adição, com exceção dos dados obtidos no 29º, 33º e 40º dias de operação.

Gráfico 16 – Monitoramento de bacteriófagos em ensaio com água da REPLAN: A) Título dos fagos ao longo do experimento, após o período de recirculação. B) Índice de infecção viral (MOI) real.

A



B



6.4.5. Monitoramentos dos parâmetros físico-químicos dos tratamentos propostos

Os parâmetros físico-químicos das águas nos diferentes sistemas de tratamento estão apresentados na Tabela 20, expressos como média $\pm$ desvio padrão. De modo geral, a maioria dos parâmetros não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), refletindo a elevada variabilidade dos dados.

Tabela 20 – Média dos parâmetros físico-químicos avaliados para os tratamentos.

Parâmetro	Amostra original	Sem tratamento	Biossurfactante	Fagos
		MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA
Temperatura da amostra retirada na purga (°C)	-	22,12 $\pm$ 4,00	22,28 $\pm$ 4,06	22,14 $\pm$ 3,93
pH	8,47	8,13 $\pm$ 0,36	8,14 $\pm$ 0,37	8,02 $\pm$ 0,47
ORP (mV)	303,20	269,40 $\pm$ 31,04	268,98 $\pm$ 30,13	269,52 $\pm$ 28,06
O ₂ Dissolvido (mg/L)	9,84	7,56 $\pm$ 1,59	7,55 $\pm$ 1,57	7,57 $\pm$ 1,57
Turbidez (FNU)	7,43	4,47 $\pm$ 3,08	4,44 $\pm$ 3,11	4,33 $\pm$ 3,25
Condutividade. (μ S/cm)	1119,00	1165,00 $\pm$ 50,63	1145,20 $\pm$ 34,94	1166,00 $\pm$ 58,65
Resistividade (Ω -cm)	1097,50	916,84 $\pm$ 109,09	928,42 $\pm$ 101,52	916,32 $\pm$ 110,73
Sólidos Dissolvidos Totais - SDT (mg/L)	727,00	757,20 $\pm$ 32,78	744,40 $\pm$ 22,69	758,00 $\pm$ 38,19
Dureza Total (mg/L)	177,70	192,39 $\pm$ 18,60	186,29 $\pm$ 11,00	192,39 $\pm$ 16,29
Dureza Cálcio (mg/L CaCO ₃)	139,60	137,06 $\pm$ 15,33	141,62 $\pm$ 18,51	137,06 $\pm$ 16,35
Dureza Magnésio (mg/L MgCO ₃)	38,10	55,33 $\pm$ 15,99	44,67 $\pm$ 19,21	55,33 $\pm$ 22,94
Alcalinidade (mg/L CaCO ₃)	125,40	161,88 $\pm$ 19,28	166,90 $\pm$ 26,36	162,79 $\pm$ 20,81
Demanda Química de Oxigênio – DQO (mg/L)	29,68	26,35 $\pm$ 12,09	34,08 $\pm$ 13,33	34,32 $\pm$ 12,86
Amônia (mg/L)	0,56	7,82 $\pm$ 3,47	7,45 $\pm$ 7,10	7,10 $\pm$ 2,61
Nitrato (mg/L)	155,63	89,04 $\pm$ 46,81	93,85 $\pm$ 39,25	81,50 $\pm$ 47,33
Nitrogênio Total (mg/L)	21,93	26,72 $\pm$ 2,34	25,79 $\pm$ 3,34	28,28 $\pm$ 3,98
Fosfato (mg/L)	30,55	40,85 $\pm$ 26,35	57,13 $\pm$ 28,52	43,64 $\pm$ 26,53
Cloreto (mg/L)	251,59	249,74 $\pm$ 77,23	220,89 $\pm$ 13,67	224,66 $\pm$ 15,51
Sulfato (mg/L)	684,64	437,57 $\pm$ 344,83	429,82 $\pm$ 177,80	355,24 $\pm$ 224,33
Carbono Total (mg/L)	38,93	41,33 $\pm$ 3,41	45,42 $\pm$ 7,34	41,73 $\pm$ 4,03
Carbono Inorgânico (mg/L)	25,67	26,95 $\pm$ 4,54	16,49 $\pm$ 12,62	26,77 $\pm$ 4,60
Carbono Orgânico Total (mg/L)	13,26	14,37 $\pm$ 1,46	28,92 $\pm$ 18,30	14,96 $\pm$ 1,73
Cloro livre (mg.Cl ₂ /L)	0,44	0,32 $\pm$ 0,26	0,36 $\pm$ 0,30	0,24 $\pm$ 0,14
LSI	0,97	0,73 $\pm$ 0,36	0,75 $\pm$ 0,37	0,61 $\pm$ 0,44
RSI	6,54	6,68 $\pm$ 0,37	6,63 $\pm$ 0,39	6,79 $\pm$ 0,41

PSI	7,39	7,04 ± 0,16	6,97 ± 0,22	7,03 ± 0,15
-----	------	-------------	-------------	-------------

O tratamento com biossurfactante apresentou aumento na concentração de fosfato total ($57,13 \pm 28,52$ mg/L) em comparação com o controle ($40,85 \pm 26,35$ mg/L) e com o tratamento com fagos ($43,64 \pm 26,53$ mg/L), embora, devido ao desvio-padrão elevado, a diferença não tenha sido significativa. O sulfato foi mais baixo no tratamento com fagos ($355,24 \pm 224,33$ mg/L) em comparação com o controle ($437,57 \pm 344,83$ mg/L) e o biossurfactante ($429,82 \pm 177,80$ mg/L), indicando tendência de redução pelo tratamento, mas sem significância estatística.

A DQO e o COT apresentaram variações entre os tratamentos, com médias ligeiramente maiores nos sistemas tratados com biossurfactante ($34,08 \pm 13,33$ mg/L e $28,92 \pm 18,30$ mg/L, respectivamente), compatíveis com a adição de compostos orgânicos, porém essas diferenças não foram significativas.

Parâmetros como oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade, sólidos dissolvidos totais, dureza total e parcial, alcalinidade, nitrogênio total, cloreto e carbono total apresentaram valores semelhantes entre os tratamentos, indicando que os sistemas mantiveram características físico-químicas estáveis.

O carbono inorgânico foi reduzido no tratamento com biossurfactante ($16,49 \pm 12,62$ mg/L) em relação aos demais sistemas, possivelmente refletindo a influência da adição de moléculas orgânicas. Os níveis de cloro livre foram levemente menores no tratamento com fagos ($0,24 \pm 0,14$ mg/L) em comparação com o controle ($0,32 \pm 0,26$ mg/L) e o biossurfactante ($0,36 \pm 0,30$ mg/L).

Os índices de estabilidade da água (LSI, RSI e PSI) foram semelhantes entre os tratamentos, indicando tendência à incrustação (LSI $\sim 0,7$) e risco moderado de corrosão (PSI $\sim 7,0$). Todas as amostras contaram com a presença de cloro livre e produtos inibidores de corrosão, contribuindo para a estabilidade do sistema.

6.4.6. Avaliação da corrosão e perda de massa nos sistemas tratados por bacteriófagos e para o sistema sem tratamento.

6.4.6.1. Teste de imersão total de cupons de aço-carbono 1020

Os cupons de aço-carbono 1020 foram submetidos aos tratamentos e, após 28 dias, avaliados quanto à corrosão e perda de massa (Figura 20). Os tratamentos

resultaram em efeitos altamente significativos na mitigação da corrosão, ($p < 0,001$) (Tabela 21).

Figura 20 – Cupons de aço carbono AISI 1020 expostos aos seguintes tratamentos: 1 - Controle sem adição de produtos anticorrosivos; 2 - Controle com adição de produtos anticorrosivos; 3 - Ramnolípídeo + produtos anticorrosivos; 4- Fagos + produtos anticorrosivos.



Tabela 21 – Quantificação da perda de massa nos cupons de aço-carbono e taxa de corrosão.

Tratamento	Perda de massa (g)	Taxa de Corrosão (mpy)	Classificação (NALCO CHEMICAL COMPANY, 2018)
Controle sem adição de produtos anticorrosivos	$0,5351 \pm 0,0305$	$17,0597 \pm 0,9722$	Corrosão severa
Controle com adição de produtos anticorrosivos	$0,0542 \pm 0,0038$	$1,7289 \pm 0,1196$	Corrosão mínima
Ramnolípídeo + produtos anticorrosivos	$0,0347 \pm 0,0039$	$1,1061 \pm 0,1247$	Corrosão mínima
Fagos + produtos anticorrosivos	$0,0242 \pm 0,0022$	$0,7721 \pm 0,0704$	Corrosão negligenciável

Em comparação com o grupo controle desprovido de aditivos anticorrosivos (17,1 mpy), classificado como corrosão severa, a introdução de produtos anticorrosivos resultou em uma redução acentuada na taxa de corrosão, cerca de 89,8%, o que a classifica como corrosão mínima. Ademais, a incorporação de biossurfactantes e outros compostos bioativos intensificou essa proteção, resultando em uma redução de cerca de 93,5% em relação ao controle sem aditivos, também classificado como corrosão mínima. Enquanto o tratamento com fago e produtos anticorrosivos exibiu a maior eficiência, com uma redução notável de

aproximadamente 95,5% em relação ao mesmo controle inicial, sendo classificado como corrosão negligenciável.

Ao comparar os tratamentos que já incluíam produtos anticorrosivos (controle com aditivos) com a adição de compostos bioativos, observa-se que o ramnolípídeo proporcionou uma redução adicional de aproximadamente 36,0% na taxa de corrosão em relação ao controle com aditivos (de 1,7289 mpy para 1,1061 mpy). Por sua vez, o tratamento com fago demonstrou uma superioridade ainda maior, resultando em uma redução adicional de cerca de 55,3% (de 1,7289 mpy para 0,7721 mpy) em comparação com o controle que já possuía aditivos. Tais achados evidenciam a promissora aplicação de abordagens biotecnológicas para aprimorar a proteção contra corrosão em materiais metálicos.

6.5. Efetividade da radiação UV na inativação de fagos e bactérias presentes na água de purga do reator *rack by-pass*.

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficácia da radiação ultravioleta (UV) na inativação de bacteriófagos e na eliminação de bactérias presentes em água proveniente da purga do barrilete do sistema *Rack by-pass*, cujo controle microbiano foi realizado por terapia fágica.

As densidades bacterianas e os títulos de bacteriófagos observados na água do purga estão apresentados na Tabela 22. Todas as doses de radiação UV usadas apresentaram resultados altamente significativos ($p < 0,001$) e foram capazes de inativar tanto bactérias quanto fagos presentes nas amostras de água (Gráfico 17).

Tabela 22 – Densidade das bactérias e título dos fagos utilizadas no ensaio de inativação por UV.

Bactéria	Densidade (UFC/mL)	Bacteriófago	Título (UFP/mL)
<i>P. aeruginosa</i> LMA-RLI17	$3,33 \times 10^1 \pm 3,33 \times 10^1$	LMA-UFMG17.1.4	$9,20 \times 10^5 \pm 1,66 \times 10^5$
<i>S. marcescens</i> LMA-PLA5	$3,33 \times 10^2 \pm 2,91 \times 10^2$	LMA-UFMG12.2.1	$3,93 \times 10^5 \pm 1,13 \times 10^5$
<i>S. maltophilia</i> LMA-94	$1,26 \times 10^3 \pm 1,64 \times 10^2$	LMA-UFMG3.1	$4,89 \times 10^4 \pm 4,29 \times 10^4$
<i>Acinetobacter</i> sp. LMA-112	$2,22 \times 10^1 \pm 3,85 \times 10^1$	LMA-UFMG112	$3,53 \times 10^5 \pm 5,29 \times 10^4$
<i>P. oleovorans</i> LMA-BTR1	$1,82 \times 10^3 \pm 1,68 \times 10^2$	LMA-UFMGFTR1	$1,03 \times 10^6 \pm 9,02 \times 10^4$
<i>G. creatinolyticus</i> LMA-BTR4	$1,67 \times 10^2 \pm 8,82 \times 10^1$	LMA-UFMGB2	$3,96 \times 10^5 \pm 1,39 \times 10^4$
B.H.T	$3,63 \times 10^3$	FAGOS TOTAIS	$3,14 \times 10^6$

7. Discussão

O uso de bacteriófagos e biossurfactantes, como os ramnolipídeos, tem se destacado na indústria petroquímica para combater a corrosão microbiologicamente induzida e a formação de biofilmes (MARINHO; SILVA; LUNA, 2022; ZHANG *et al.*, 2025). Esses agentes biológicos oferecem alternativas sustentáveis aos métodos convencionais, que frequentemente utilizam produtos químicos agressivos e necessitam de agentes anticorrosivos para mitigar processos de corrosão. Esta pesquisa buscou explorar a capacidade dessas biotecnologias em inibir o crescimento bacteriano, remover biofilmes e reduzir a corrosão, visando proteger equipamentos e otimizar processos.

Nossos resultados demonstraram que produtos anticorrosivos e anti-incrustantes formulados pela Kurita para uso em torres de resfriamento da Petrobras, mesmo em concentrações 100 vezes superior à de trabalho, não afetaram de forma significativa ou preocupante o título e, conseqüentemente, a estabilidade da maioria dos bacteriófagos avaliados, as variações mais significativas não conseguiram reduzir a ordem de grandeza do título. Este achado reforça a viabilidade da aplicação combinada dessas biotecnologias em sistemas de resfriamento industrial. Além disso, a estabilidade dos bacteriófagos em ambientes industriais, especialmente em presença de inibidores de corrosão, ainda é pouco estudada, representando uma lacuna importante na literatura, que costuma focar em desinfetantes de uso comum. Foi observado sensibilidade de dois fagos de *E. coli* que tiveram seus títulos significativamente reduzidos após a coincubação com álcool a 70% ou desinfetantes contendo dicloridrato de octenidina e fenoxietanol (CIESLIK *et al.*, 2022). Tomat *et al.* (2018) relataram que pelo menos 10^2 a 10^3 UFP/mL dos fagos testados sobreviveram à exposição a desinfetantes comumente utilizados em ambientes alimentares.

Em outro estudo, Chen *et al.* (2024) demonstraram que fagos de *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *P. aeruginosa* exibiram alta resistência a produtos como dicloroisocianurato de sódio (0,05% p/v), peróxido de hidrogênio (3% p/v) e digluconato de clorexidina (0,5% p/v). No entanto, os fagos mostraram sensibilidade variável ao cloreto de benzalcônio (0,5% p/v).

Contrariando estes achados, Stachler *et al.* (2021) observaram que fagos de *P. aeruginosa* resistiram ao cloreto de benzalcônio, e Agún *et al.* (2018) padrão semelhante para fagos de *Staphylococcus* frente a concentrações bacteriostáticas

deste biocida. Essas discrepâncias podem ser atribuídas às concentrações e tipos bacterianos utilizados, ressaltando a importância de padronização nos protocolos de avaliação da resistência de fagos a desinfetantes químicos.

A resistência de fagos ao cloro tem se tornado um tema central de pesquisa, pois ambientes industriais frequentemente utilizam esse biocida para o controle de microrganismos (WANG *et al.*, 2023). É desejável que fagos apresentem resistência ao biocida para que possam também ser utilizados em conjunto com hipoclorito em ambientes industriais. No presente trabalho, todos os fagos submetidos ao hipoclorito de sódio na concentração de 0,5 ppm de cloro ativo não sofreram variações significativas em seu título inicial, apresentado estabilidade frente ao biocida. Estudos recentes reforçam estes achados indicando a prevalência de fagos resistentes ao hipoclorito de sódio, Khan & Joshi (2024) avaliaram a sensibilidade ao cloro de três fagos de *K. pneumoniae*. Os resultados revelaram uma alta tolerância por parte desses fagos, mesmo sob concentrações de 1 e 2 ppm de cloro e um tempo de exposição prolongado de 30 minutos a 30°C. Outro estudo mostrou que 9 de 11 fagos de bactérias lácticas testados foram resistentes a uma exposição de 800 ppm de hipoclorito de sódio por 30 minutos (MURPHY *et al.*, 2014). Da mesma forma, Halfhide *et al.* (2008) testaram concentrações de até 2500 ppm de cloro livre e encontraram fagos com resistência significativa. Esses resultados sugerem o potencial de uso combinado de fagos e cloro no controle de biofilmes, já que alguns estudos indicam um efeito aditivo dessa estratégia (ZHANG; HU, 2012; STACHLER; KULL; JULIAN, 2021), reforçando o papel promissor dos fagos em cenários de desinfecção complexos.

Quanto à remoção e inibição de biofilmes neste estudo, a análise dos dados indica que a eficácia desses processos variou significativamente entre os diferentes tratamentos e tipos de superfície (aço inox e PVC). Em água sintética, os fagos sem produtos desincrustantes e anticorrosivos demonstraram capacidade de remover biofilme em INOX (67,4%) e PVC (51,3%), exibindo também atividade inibitória (37,5% em INOX e 57,7% em PVC). A inclusão dos produtos aos fagos em água sintética manteve a eficácia de remoção em INOX (67,3%) e potencializou a inibição em ambas as superfícies (53,2% em INOX e 61% em PVC), contudo, resultou em uma redução da remoção em PVC (42%). O cloro com produtos, por sua vez, demonstrou ausência de eficácia na remoção em INOX e baixa eficácia em PVC (27%), mas exibiu capacidade inibitória, notadamente em PVC (63%). A transição para amostras de água de torre de resfriamento evidenciou uma acentuada diminuição na performance

dos tratamentos: o biossurfactante revelou-se ineficaz em todas as categorias (0% a 0,5%), e os fagos com produtos, embora apresentassem alguma capacidade de remoção (19,2% em INOX e 39,7% em PVC) e inibição (48,6% em INOX), sofreram uma perda substancial de inibição em PVC (3,8%), ressaltando a influência da matriz real da água na eficácia global dos agentes testados. Diferenças associadas ao tipo de material também foram reportadas por Rogers *et al.* (1994) e Zhang e Hu (2013), que observaram crescimento bacteriano mais acentuado em superfícies de PVC do que em aço inoxidável, provavelmente em função de propriedades intrínsecas dos materiais, como hidrofobicidade e rugosidade superficial (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Diversos estudos têm comprovado a eficácia de biossurfactantes, biocidas e bacteriófagos na inibição da formação de biofilmes em condições estáticas. Entretanto, ainda são escassas as investigações em sistemas contínuos, como o avaliado no presente trabalho. Pesquisas anteriores reforçam os dados previamente apresentados. Zhang e Hu (2012) relataram uma redução de aproximadamente 75% em biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* tratados com fagos ao longo de 72 horas. Outro estudo relatou que concentrações subótimas de fagos não só falharam em remover biofilmes, como também, em alguns casos, estimularam o seu crescimento (ZHANG *et al.*, 2020). Esses achados divergentes ressaltam a importância da seleção criteriosa e da caracterização detalhada dos fagos para formulações terapêuticas futuras.

Zhang e Hu (2012) relataram que, em um sistema de crescimento contínuo de biofilmes, uma combinação de fagos (tratamento único com concentração de $1,9 \times 10^8$ UFP/mL por 1 hora) e cloro removeu $97 \pm 1\%$ dos biofilmes após 5 dias. Em comparação, o uso isolado de fagos ou cloro resultou em remoções de $89 \pm 1\%$ e $40 \pm 5\%$, respectivamente. Um estudo conduzido por Vieira *et al.* (2021) demonstrou a alta eficácia do fago UFV01 na redução de biofilmes bacterianos. Utilizando o bacteriófago com título de 10^5 UFP/mL e após cinco dias de incubação, o fago se mostrou eficiente contra seu hospedeiro, *Serratia marcescens* MIND01, onde foi observada uma redução de 91% na formação do biofilme. Ao avaliar um total de 15 cepas, incluindo outras espécies de *Serratia* e *E. coli*, o UFV01 reduziu o biofilme em 40% delas.

Em relação aplicação dos ramnolipídeos para controle de biofilmes, pesquisas recentes destacam o potencial do biossurfactante como agente antiadesivo. Türkoğlu, Adaleti e Rayaman (2024) avaliaram o ramnolipídeo contra biofilmes de isolados

clínicos de *S. aureus*, *E. faecalis*, *A. baumannii*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. O biossurfactante apresentou atividade antimicrobiana significativa, com MIC entre 5,2 e 20,83 mg/mL, exceto para algumas cepas de *E. coli* e *P. aeruginosa*. O biossurfactante foi capaz de inibir a formação de biofilmes (23–90%) próximo à MIC, sendo mais eficaz contra *S. aureus*, *E. faecalis* e *A. baumannii*, mas a remoção de biofilmes maduros exigiu concentrações superiores a 166,66 mg/mL, indicando maior efeito preventivo que desestabilizador. Gomes e Nitschke (2012) avaliaram ramnolipídeos na remoção de biofilmes patogênicos em poliestireno, obtendo remoção máxima de 24% em um biofilme polibacteriano após 2 h de exposição ao biossurfactante na concentração de 0,25%, tendo sua eficácia reduzida após 12 h (16,5% de redução). Kim et al. (2015) investigaram o uso do biossurfactante como agente anti-incrustante em membranas, observando aumento da permeabilidade sem afetar o crescimento de *P. aeruginosa*. O ramnolipídeo reduziu a formação de biofilmes em até 29,5% (300 µg/mL) e removeu biofilmes maduros com eficiência de até 83,3%, dependendo da concentração e tempo de exposição.

Em nosso estudo, a análise da redução da população bacteriana planctônica demonstra variações na eficácia dos tratamentos. Em água sintética, os fagos sem produtos apresentaram uma redução de 62,3%, indicando sua capacidade de controle sobre as formas livres das bactérias. A utilização dos fagos em água sintética com presença dos produtos anticorrosivos resultou em uma redução ligeiramente menor, de 51,5%. Em relação ao uso de hipoclorito de sódio, após dois dias de cloração houve eliminação das bactérias desse tratamento, o que levou à realização de uma segunda inoculação para monitorar seu efeito sobre o biofilme. Após a reinoculação, a dosagem contínua de biocida em concentrações inferiores a 0,2 mg Cl₂/L reduziu o crescimento de bactérias planctônicas, porém não foi suficiente para inativá-las completamente, resultando em uma redução média de 53% em sua densidade.

A transição para a amostra de água da torre de resfriamento revelou uma diminuição acentuada na eficácia dos tratamentos. O biossurfactante demonstrou uma capacidade de redução mínima, de apenas 4,8%. Da mesma forma, os fagos com produtos em amostra de água da torre de resfriamento exibiram uma redução menor, de 38,3%, em comparação com seu desempenho em água sintética, evidenciando o impacto negativo da água real na ação destes agentes sobre as bactérias planctônicas.

Estudos apontam a efetividade do controle de células bacterianas planctônicas por meio da fagoterapia. Adnam e colaboradores (2020) utilizaram o fago MA-1 para

o controle de *P. aeruginosa*, a fagoterapia demonstrou uma significativa redução de células planctônicas em diferentes MOI, acrescida a redução do biofilme. Os autores Pedramfar et al. (2017) relataram uma redução de 50% em uma curva de crescimento de *Stenotrophomonas maltophilia* após a utilização de bacteriófagos líticos.

A resistência de alguns organismos específicos a concentrações residuais relativamente altas de cloro foi descrita recentemente (SUN *et al.*, 2013; SONG *et al.*, 2019; DIAS-SOUZA *et al.*, 2024), e estudos em torres de resfriamento indicaram que uma concentração residual contínua de cloro livre de 1 mg Cl₂/L é ideal para atingir os critérios recomendados de controle biológico (10⁴ UFC/mL) com NaClO (CHIEN; DZOMBAK; VIDIC, 2013; HELMI *et al.*, 2018). No entanto, concentrações superiores a 0,5 mg Cl₂/L geralmente não são uma opção viável devido à corrosividade do produto químico, à ocorrência de reações secundárias com outros inibidores e à formação de subprodutos de desinfecção tóxicos, como trihalometanos (THMs) (BOULAY; EDWARDS, 2001; HSIEH; DZOMBAK; VIDIC, 2010; PADHI; SUBRAMANIAN; SATPATHY, 2019). Curiosamente, a cloração afetou a composição do microbioma do biofilme; aumentando a abundância relativa de alguns isolados, sugerindo a presença de bactérias resistentes ao cloro (NGUYEN *et al.*, 2024). Alterações similares na estrutura das comunidades bacterianas foram observadas em torre de resfriamento submetidas a cloração contínua (0,35-0,41 mg Cl₂ /L de cloro residual) (PINEL *et al.*, 2020) e em sistema de distribuição de água simulado em escala piloto sob desinfecção com cloro (sem cloro livre), com destaque para os efeitos sobre bactérias e genes de resistência a antimicrobianos (LI *et al.*, 2021).

Em um estudo recente, Jia e colaboradores (2025) relataram que a utilização um ramnolipídeo em baixa concentração (100 mg/mL) reduziu células planctônicas de bactérias redutoras de sulfato em uma ordem de grandeza. Já Bertuso, Mayer e Nitschke (2021) investigaram a atividade dos ramnolipídeos contra *Bacillus cereus* e observaram redução de aproximadamente 4 log₁₀ na viabilidade celular, a qual se manteve estável mesmo após 24 horas de exposição. Contudo, os autores também evidenciaram que as concentrações inicialmente definidas como Concentração Bactericida Mínima (CBM) não foram suficientes para erradicar completamente a população bacteriana, mesmo sendo 16 vezes superiores à concentração inibitória mínima. No presente estudo, as doses do ramnolipídeo comercial utilizadas não foram suficientes para reduzir a densidade de bactérias tanto no biofilme quanto em estado planctônico, chegando a promover aumento no crescimento bacteriano. Esses

resultados indicam que, nas condições avaliadas, doses maiores seriam necessárias para efeito antimicrobiano significativo, mas sua viabilidade para aplicação em torres de resfriamento de grande volume precisa ser considerada.

Na análise dos parâmetros físico-químicos dos experimentos, verificou-se que não houve alterações substanciais na qualidade da água com os diferentes tratamentos, sejam eles tratados por fagos, pelo ramnolípídeo e cloro. Contudo puderam ser observadas algumas variações nesses parâmetros. Os diferentes tratamentos induziram variações no pH, consistentes com a literatura que indica a capacidade de biocidas oxidantes, como o cloro, de modificar o pH por meio da oxidação de substâncias orgânicas (SUN *et al.*, 2013; XU *et al.*, 2017). Adicionalmente, a literatura reporta que biocidas oxidantes, como o cloro, podem reduzir a alcalinidade em decorrência da oxidação de compostos orgânicos e subsequente formação de ácidos (ILHAN-SUNGUR; ÇOTUK, 2010; RUBIO; CASANUEVA; NEBOT, 2015). Em alguns cenários, o tratamento com cloro pode diminuir a dureza total, o que se alinha com estudos que descrevem a interação entre cloro e produtos anticorrosivos na modulação da deposição mineral e na redução da corrosividade (WANG; HU; HU, 2014). Ademais, o aumento nos níveis de cloretos, potencialmente associado ao emprego de cloro, pode exacerbar a corrosão de superfícies metálicas, impactando negativamente os índices de saturação de Langelier (LSI) e de Ryznar (RSI) (GAN *et al.*, 2017). Curiosamente, o tratamento com fagos, embora promova a lise bacteriana e a consequente liberação de matéria orgânica, não resultou em um aumento significativo do Carbono Orgânico Total (COT) (WILHELM; SUTTLE, 1999). A produção de amônia pode ser atenuada pela atividade lítica dos fagos, com implicações no ciclo do nitrogênio (WANG; YANG; JING, 2022; CARLSON *et al.*, 2023). O tratamento com fagos apresentou um nível de fósforo ligeiramente superior ao controle, o que corrobora a liberação de componentes fosforados após a lise bacteriana (MINE; COLEMAN; COLMAN, 2021). Apesar de a lise bacteriana ser conhecida por liberar conteúdo intracelular que pode elevar a condutividade e o Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), as diferenças observadas foram mínimas. Isso sugere que, no ambiente específico de torre de resfriamento estudado, o efeito líquido sobre a condutividade e o SDT não é substancial (MORTARI; ADAMI; LORENZELLI, 2015). Adicionalmente, a lise bacteriana mediada por fagos tem sido associada à redução da turbidez devido à destruição das células bacterianas (SHENDE *et al.*, 2017).

A literatura ainda é limitada no que diz respeito à mitigação da corrosão em superfícies de aço carbono por meio de abordagens biotecnológicas, especialmente quanto ao uso de bacteriófagos. Estudos envolvendo a aplicação de fagos ou biossurfactantes nesse contexto são escassos, apesar do potencial promissor dessas estratégias na prevenção de processos corrosivos associados à presença de biofilmes. Os tratamentos biológicos testados em nosso trabalho apresentaram desempenho superior na mitigação da corrosão: a combinação de fagos e produtos anticorrosivos reduziu a taxa de corrosão de 17,0597 para 0,7721 mpy (95,5% de redução em relação ao controle sem inibidor) e de 1,7289 para 0,7721 mpy (55,3% de redução adicional em relação ao controle com inibidor químico), enquanto o tratamento com ramnolípídeo e produtos anticorrosivos diminuiu a corrosão para 1,1061 mpy, correspondendo a 93,5% de redução em relação ao controle sem inibidor e 36,0% em relação ao controle com inibidor químico. Esses dados evidenciam que ambos os tratamentos biológicos não apenas superam os inibidores convencionais, mas que os fagos combinados com agentes anticorrosivos apresentam a eficiência mais elevada na mitigação da corrosão.

O uso de bacteriófagos desponta como uma estratégia promissora, embora haja poucas pesquisas disponíveis, especialmente com uma metodologia que quantifique a mitigação da corrosão por meio de taxas de corrosão ou perda de massa. Em um estudo recente, Zhang *et al.* (2025), relataram uma redução significativa da corrosão em superfícies metálicas de aço carbono causada por bactérias redutoras de sulfato, por meio da aplicação do fago SRB7757. Os tratamentos com fagos representam uma abordagem sustentável e eficaz para o controle de biofilmes, evitando os efeitos colaterais corrosivos frequentemente associados ao uso contínuo de cloro (QI *et al.*, 2017).

Veiga *et al.* (2010) avaliaram o efeito corrosivo do hipoclorito de sódio sobre cupons de aço carbono 1020 em água sintética. Com uma concentração residual de 0,5 mg/L do biocida, a taxa de corrosão foi de 2,61 mpy na presença de inibidores de corrosão e de 33,6 mpy na ausência destes. Sem a adição do biocida, a taxa de corrosão foi reduzida para 2,08 mpy com o uso de inibidores e elevou-se para 68,2 mpy quando os inibidores também estavam ausentes. Em outro estudo, Pinto *et al.* (2014) avaliaram os efeitos do hipoclorito de sódio e de inibidores de corrosão em água sintética para sistemas de resfriamento. A combinação de hipoclorito (0,3–0,6 mg/L de cloro residual livre) com inibidores (70 mg/L de ácido hidroxietano-1,1-

difosfônico – HEDP, e 10 mg/L de Zn) resultou em uma taxa de corrosão de 7,76 mpy. O uso isolado dos inibidores reduziu a corrosão para 3,06 mpy, enquanto a ausência de ambos elevou a taxa para 19,71 mpy. Já o uso apenas do biocida aumentou a corrosão para 29,18 mpy.

O uso de inibidores de corrosão em águas corrosivas, como a utilizada neste trabalho, é amplamente documentado na literatura. Por exemplo, Lin *et al.* (2020) demonstraram que a combinação dos inibidores lignossulfonato de cálcio (CLS), molibdato de sódio, estanho de sódio, e tungstato de sódio, reduziu a corrosão em aço Q235 em ambientes alcalinos. Em outro estudo, a aplicação de uma mistura de Imidazolina oleica e 2-Mercaptobenzimidazol, na proporção de 1:1, a uma concentração de 75 ppm, inibiu em 97,8% a corrosão em cupons de aço carbono mantidos em solução de HCl 1 mol/L (KHORMALI; AHMADI, 2023). Em um estudo anterior, a combinação de 50/50 ppm de ácido hidroxietano-1,1-difosfônico (HEDP) e hexametáfosfato de sódio (SHMP) resultou em taxas de inibição de corrosão de 98% em água de resfriamento sintética com 692 ppm de íons cloreto (MOUDGIL *et al.*, 2009).

Recentemente, o interesse tem se voltado para o uso de biossurfactantes, que apresentam potencial para atuar como inibidores de corrosão de forma ambientalmente mais amigável. Jia *et al.* (2025) investigaram o efeito de um ramnolípídeo na inibição da corrosão em superfícies de aço carbono X65, obtendo eficiências de inibição de 39% e 70% com concentrações de 100 mg/mL e 250 mg/mL do biossurfactante, respectivamente. Li *et al.* (2022) avaliaram o uso de um ramnolípídeo produzido por *P. aeruginosa* em aço carbono X70 exposto a água do mar simulada, observando redução da taxa de corrosão de 0,18 mm/ano (7,09 mpy) para 0,05 mm/ano (1,96 mpy) com adição de 0,1% (m/v) do biossurfactante. De maneira similar, Parthipan *et al.* (2018) relataram eficiência de inibição de aproximadamente 87% utilizando ramnolípídeo produzido por *Pseudomonas mosselii* F01.

Esses estudos não apenas corroboram o potencial dos fagos como agentes de controle de biofilmes, mas, mais crucialmente, demonstram sua capacidade superior na mitigação da corrosão em ambientes industriais, oferecendo uma alternativa mais sustentável e eficiente em comparação aos métodos tradicionais.

Considerando que aplicações industriais de agentes microbiológicos requerem não apenas eficácia no controle bacteriano, mas também protocolos rigorosos de

biossegurança para a inativação desses agentes, assegurando a segurança operacional e ambiental, neste trabalho foi adotada a radiação ultravioleta como método de inativação de fagos e bactérias. Todas as doses testadas (13,4; 32,1 e 64,7 mJ/cm²) foram suficientes para promover a inativação completa de todos os bacteriófagos e bactérias avaliados. Estudos demonstram que para *P. aeruginosa*, as doses relatadas foram de 1,34 mJ/cm² (MCKINNEY; PRUDEN, 2012), 1,47 mJ/cm² (ZHANG *et al.*, 2015), 0,83 mJ/cm² (CLAUß, 2006), 0,77 mJ/cm² (CLAUß, 2006), 2,27 mJ/cm² (LAKRETZ; RON; MAMANE, 2010), 2,75 mJ/cm² (RATTANAKUL; OGUMA, 2018), bem menores que as utilizadas neste experimento. Uma dose de 2,2 mJ/cm² tem sido recomendada para redução de 1 log de *S. marcescens* (SHARP, 1939). A tecnologia também já foi testada de forma contínua para controle microbiano em águas sintéticas e reais. Zhang *et al.* (2017) obtiveram a maior inativação (6-log₁₀) em uma suspensão de bactérias em solução salina tamponada com fosfato com uma densidade celular inicial de 10⁷ UFC/mL.

Com respeito aos fagos, as doses eficazes podem variar com o tipo do fago. Para os fagos T4 e P1 da família *Myoviridae*¹, já foram relatadas doses superiores às utilizadas neste estudo, nas faixas de 50 a 200 mJ/cm² e 30 a 80 mJ/cm², respectivamente (SOMMER *et al.*, 2008). Para os fagos MS2, Q β e GA, da família *Leviviridae*, as doses relatadas foram de 20 a 100 mJ/cm², 5 a 25 mJ/cm² e 10 a 30 mJ/cm², respectivamente (HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006). Para o fago Φ X174: da família *Microviridae*, a dose foi de 30 a 120 mJ/cm² (Mamane, *et al.*, 2006) e de 5 mJ/cm² em outro estudo (WEYERSBERG *et al.*, 2023). Esse mesmo estudo relatou doses de 40 a 100 mJ/cm² para o fago PM2 da família *Corticoviridae*. Para fago da família *Siphoviridae*, as faixas relatadas foram de 30 a 150 mJ/cm², enquanto para o fago M13 da família *Inoviridae* as doses variaram entre 15 a 50 mJ/cm² (SOMMER *et al.*, 2008). Dada a influência de diversos fatores sobre a eficácia do tratamento, como partículas sólidas, cor, temperatura e altos níveis de amônia (QUALLS ; FLYNN; JOHNSON, 1983; CANTWELL; HOFMANN, 2011; MOUNAOUER; ABDENNACEUR, 2012), novos testes com amostras reais de água de torre de resfriamento são necessários para validar a aplicação do tratamento em larga escala.

¹Todas as famílias de fagos mencionadas neste parágrafo referem-se à classificação do ICTV vigente à época dos estudos originais, anterior à atualização publicada em 2022.

A abordagem biotecnológica empregada neste estudo, baseada na utilização de bacteriófagos e biossurfactantes, representa um paradigma inovador no controle da biocorrosão e biofilmes. Em contraste com os biocidas tradicionais, que levantam preocupações com toxicidade ambiental e resistência microbiana, as descobertas descritas neste trabalho demonstram um caminho mais sustentável para a gestão da integridade de sistemas industriais. A inativação eficiente de fagos e bactérias por radiação UV na purga do sistema, por sua vez, assegura que a solução proposta é ambientalmente responsável em todas as etapas, desde a aplicação até o descarte.

8. Conclusão

Com base nos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que:

- A aplicação de bacteriófagos demonstrou ser uma alternativa eficaz e promissora para o controle microbiano em sistemas de resfriamento industrial. Os fagos foram capazes de reduzir significativamente a densidade de bactérias planctônicas e de biofilmes, tanto em cupons de aço inoxidável quanto de PVC, em ambientes controlados com água sintética.
- A interação de fagos com produtos anticorrosivos e dispersantes não comprometeu a estabilidade dos bacteriófagos, indicando a compatibilidade dessas abordagens para uso combinado em ambientes industriais.
- A fagoterapia, especialmente quando combinada com inibidores de corrosão, resultou em uma notável redução da taxa de corrosão em cupons de aço-carbono (95,47% de redução em relação ao controle sem aditivos), superando a proteção oferecida pelos inibidores químicos isoladamente. Isso evidencia o potencial dos fagos não apenas no controle microbiológico, mas também na mitigação da biocorrosão.
- O biossurfactante ramnolipídeo, embora tenha demonstrado alguma atividade inibitória contra o crescimento bacteriano em testes de microplaca, mostrou eficácia limitada no controle de bactérias planctônicas e na remoção/inibição de biofilmes no reator rack by-pass, especialmente em presença de água de torre de resfriamento industrial, sugerindo que sua aplicação necessita de otimização para ambientes complexos.
- A comparação com o biocida convencional hipoclorito de sódio revelou que, embora o cloro seja eficaz na redução da população bacteriana e na inibição de biofilmes, os fagos apresentaram desempenho comparável ou superior em várias condições, sem os efeitos colaterais corrosivos e de seleção de resistência associados ao cloro.

- A radiação ultravioleta (UV) provou ser altamente eficaz na inativação de fagos e bactérias presentes na água de purga, o que é crucial para o descarte seguro da água tratada, minimizando o risco de liberação de microrganismos e fagos no ambiente.

Em síntese, este trabalho valida o potencial da fagoterapia como uma estratégia biotecnológica inovadora e sustentável para o controle da biocorrosão e biofilmes em torres de resfriamento industrial. A integração de fagos em programas de tratamento de água representa um avanço significativo na busca por soluções mais ecológicas, eficientes e de menor impacto para a indústria petroquímica, contribuindo para a extensão da vida útil dos equipamentos e a redução de custos operacionais. Estudos futuros são recomendados para otimizar as dosagens e frequências de aplicação em escala industrial, bem como explorar o uso de coquetéis fágicos mais complexos e a sinergia com outros agentes biocidas e inibidores de corrosão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDON, S. T.; YIN, J. Bacteriophage Plaques: Theory and Analysis. **In: CLOKIE, M. R. J.; KROPINSKI, A. M. *Methods and Protocols, Volume 1*: Isolation, Characterization, and Interactions. [S.l.]: Humana Totowa, NJ, v. 1, 2009. Cap. 17.**

ACKERMANN, H.-W. Phage Classification and Characterization. **In: CLOKIE, M. R. J.; KROPINSKI, A. M. *Bacteriophages*. 1. ed. [S.l.]: Springer Protocols, 2009. Cap. 13, p. 308p.**

ADNAN, M. *et al.* Isolation and characterization of bacteriophage to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* planktonic cells and biofilm. **Biologicals**, 63, 2020., p. 89-96

AGÚN, S. *et al.* Study of the Interactions Between Bacteriophage phiPLA-RODI and Four Chemical Disinfectants for the Elimination of *Staphylococcus aureus* Contamination. **Viruses**, 103, 2018., p. 12

ALBINO, L. A. A. **Utilização de bacteriófagos no biocontrole de *Salmonella* sp.** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, p. 115. 2016.

APARNA, M.; YADAV, S. Biofilms: microbes and disease. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 12, n. 6, 2008., p. 526-530

ARAUJO, L. V. *et al.* Rhamnolipid and surfactin: Anti-adhesion/antibiofilm and antimicrobial effects. **Food Control**, 63, 2016., p. 171-178

ARAUJO, L. V. D.; FREIRE, D. M. G.; NITSCHKE, M. Biossurfactantes: propriedades anticorrosivas, antibiofilmes e antimicrobianas. **Química Nova**, v. 36, n. 6, 2013., p. 848-858

ARULIAH, R.; TING, Y. Characterization of Corrosive Bacterial Consortia Isolated from Water in a Cooling Tower. **ISRN Corrosion**, 2014, 2014., p. 11p

ASTM, A. S. T. M. **ASTM D2688-05 - Standard Test Methods for Corrosivity of Water in the Absence of Heat Transfer (Weight Loss Methods).** [S.l.], p. 7. 2010.

ASTM, A. S. T. M. **ASTM G1-03 - Standard Practice for Preparing, Cleaning, and Evaluating Corrosion Test Specimens.** [S.l.], p. 9. 2012.

ASTUTI, D. I.; PURWASENA, I. A.; PUTRI, F. Z. Potential of Biosurfactant as an Alternative Biocide to Control Biofilm Associated Biocorrosion. **Journal of Environmental Science and Technology**, 11, n. 2, 2018., p. 2018

BALLEZA, D.; ALESSANDRINI, A.; GARCÍA, M. J. B. Role of Lipid Composition, Physicochemical Interactions, and Membrane Mechanics in the Molecular Actions of Microbial Cyclic Lipopeptides. **The Journal of Membrane Biology**, 252, Maio 2019., p. 131-157

BARBOSA, R. A. **Isolamento e caracterização de bacteriófagos em águas de uso industrial de uma refinaria de petróleo e prospecção do seu potencial de utilização em controle bacteriano**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 124p. 2021.

BARROS, L. L. **Bacteriófagos aplicados ao controle microbiano em sistemas de resfriamento industriais: uma análise em um biorreator de bancada**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 144p. 2023.

BASTOS, P. **Tratamento de água de chuva através de filtração lenta e desinfecção UV**. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, p. 135. 2007.

BATALHA, L. S. **Encapsulamento de bacteriófagos em diferentes matrizes e avaliação do potencial para fagoterapia**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, p. 81. 2017.

BELGINI, D. R. *et al.* Culturable bacterial diversity from a feed water of a reverse osmosis system, evaluation of biofilm formation and biocontrol using phages. **World J Microbiol Biotechnol**, 30, 2014., p. 2689-2700

BERTUSO, P.; MAYER, D.; NITSCHKE, M. Combining Celery Oleoresin, Limonene and Rhamnolipid as New Strategy to Control Endospore-Forming *Bacillus cereus*. **Foods**, 10, n. 455, 2021.

BORENSTEIN, S. W. **Microbiologically Influenced Corrosion Handbook**. 1^a. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1994. ISBN 978-1-85573-127-1.

BOTT, T. R. INTRODUCTION TO THE PROBLEM OF BIOFOULING IN INDUSTRIAL EQUIPMENT. In: MELO, L. F. et al. **Biofilms - Science and Technology**. Alvor: Kluwer Academic Publishers, v. 223, 1992. Cap. 1, p. 679p.

BOTT, T. R. **Industrial Biofouling**. 1^a. ed. Oxford: Elsevier, 2011. ISBN 9780444532244.

BOULAY, N.; EDWARDS, M. Role of temperature, chlorine, and organic matter in copper corrosion by-product release in soft water. **Water Research**, 35, n. 3, 2001., p. 683-690

BRADY, A. *et al.* Molecular Basis of Lysis–Lysogeny Decisions in Gram-Positive Phages. **Annual Review of Microbiology**, 75, 2021., p. 563-581

BRITO, C. D. S. **Bacteriófagos com potencial de aplicação ao controle de biofilmes em membranas de nanofiltração**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 102. 2022.

CANTWELL, R. E.; HOFMANN, R. Ultraviolet absorption properties of suspended particulate matter in untreated surface waters. **Water Research**, 45, n. 3, 2011., p. 1322-1328

CAPELLETTI, R. V. **Avaliação da atividade de biocidas em biofilmes formados a partir de fluido de corte utilizado na usinagem de metais**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 76. 2006.

CARLSON, H. *et al.* Geochemical constraints on bacteriophage infectivity in terrestrial environments Open Access. **ISME Communications**, 3, n. 1, 2023., p. 9p

CARVALHO, J. H. D. S. **Biocorrosão, Biofouling e Biodeterioração de Materiais**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 85. 2006.

CDPH, C. D. O. P. H. Ultraviolet (UV) Inactivation Doses and Information about UV Germicidal Irradiation (UVGI) Applications and Safety, 2020. Disponível em: <https://www.cdph.ca.gov/Programs/CCDPHP/DEODC/EHLB/IAQ/CDPH%20Document%20Library/Appendix%204%20-%20UVGI.pdf>.

CHANG, R. **Physical chemistry with applications to biological systems**. 2. ed. New York: Macmillan Publishing Co. Inc, 1977.

CHEBBI, A. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation and biosurfactant production by a newly isolated *Pseudomonas* sp. strain from used motor oil-contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 122, 2017., p. 128-140

CHEGINI, Z. *et al.* Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 19, n. 45, 2020., p. 17p

CHEN, Z. *et al.* Effective elimination of bacteria on hard surfaces by the combined use of bacteriophages and chemical disinfectants. **Microbiology Spectrum**, 12, n. 4, 2024.

CHIEN, S.; DZOMBAK, D. A.; VIDIC, R. Comprehensive Evaluation of Biological Growth Control by Chlorine-Based Biocides in Power Plant Cooling Systems Using Tertiary Effluent. **Environ Eng Sci**, 30, n. 6, 2013., p. 324-332

CIESLIK, M. *et al.* Two Newly Isolated Enterobacter-Specific Bacteriophages: Biological Properties and Stability Studies. **Viruses**, 14, n. 1518, 2022., p. 28p.

CLAUß, M. Higher effectiveness of photoinactivation of bacterial spores, UV resistant vegetative bacteria and mold spores with 222 nm compared to 254 nm wavelength. **Acta hydrochim. hydrobiol.**, 34, 2006., p. 525-532

CLOKIE, M. R. J. *et al.* Phages in nature. **Bacteriophage**, 1, n. 1, 2011., p. 31-45

COETSER, S. E.; CLOETE, T. E. Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 31, 2005., p. 213-232

COLLA, M.; COSTA, J. A. V. Obtenção e aplicação de biossurfactantes. **VETOR - Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, 13, 2003., p. 85-103 Disponível em: <https://periodicos.furg.br/vetor/article/view/432>.

COSTA, D. M. D. *et al.* Reúso de Efluentes Tratados para Fins de Operação de Torres de Resfriamento. **Brazilian Applied Science Review**, Curitiba, 4, n. 4, Agosto 2020., p. 2568-2577

DAVEY, M. E.; O'TOOLE, G. A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. **MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS**, 64, n. 4, 2000., p. 847-867

DIAS, R. D. **Controle de biofilmes em membranas de osmose inversa através de bacteriófagos**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, p. 60. 2014.

DIAS-SOUZA, M. V. *et al.* The activity of hydrolytic enzymes and antibiotics against biofilms of bacteria isolated from industrial-scale cooling towers. **Microbial Cell Factories**, 23, n. 282, 2024.

DION, M. B.; OECHSLIN, F.; MOINEAU, S. Phage diversity, genomics and phylogeny. **NaTure Reviews | Microbiology**, 18, 2020., p. 125-138

ELIAS, M. A.; BURGARDT, C. C. Vírus em fungos: uma área emergente. **Revista UNINGÁ Review**, 18, Abr - Jun 2014., p. 32-36

FELIPE, L. D. O.; DIAS, S. D. C. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes: vantagens e desvantagens. **Química e Sociedade**, v. 39, n. n. 3, 2017., p. 228-236

FERRIOL-GONZÁLEZ, C.; DOMINGO-CALAP, P. Phages for Biofilm Removal. **Antibiotics**, 9, n. 268, 2020., p. 16p.

FLEMMING, H. -C. Biofouling in water systems – cases, causes and countermeasures. **Appl Microbiol Biotechnol**, 59, 2002., p. 629-640

FLEMMING, H.-C. *et al.* Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Microbiology**, 14, Set. 2016., p. 563-575

FLEMMING, H.-C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature reviews microbiology**, 9, 2010., p. 623-6233

GAN, R. *et al.* Improving surface characteristic and corrosion inhibition of coating on Mg alloy by trace stannous (II) chloride. **Corrosion Science**, 123, 2017., p. 147-157

GENTIL, V. **Corrosão**. 3^a. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1996.

GOMES, I. B.; SIMÕES, M.; SIMÕES, L. C. The effects of sodium hypochlorite against selected drinking water-isolated bacteria in planktonic and sessile states. **Science of The Total Environment**, 565, 2016., p. 40-48

GOMES, M. Z. V.; NITSCHKE, M. Evaluation of rhamnolipid and surfactin to reduce the adhesion and remove biofilms of individual and mixed cultures of food pathogenic bacteria. **Food Control**, 25, n. 2., p. 441-447

HALFHIDE, D. E. *et al.* Wide variation in effectiveness of laboratory disinfectants against bacteriophages. **Letters in Applied Microbiology**, 47, n. 6, 2008., p. 608-612

HAM, Y. *et al.* Effect of Sodium Hypochlorite on the Biofilms of *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus mutans*, and *Yersinia enterocolitica*. **Microbiol. Biotechnol. Lett.**, 51, n. 1, 2023., p. 32-36

HANLON, G. W. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, 2007., p. 118-128.

HARPER, D. R. *et al.* Bacteriophages and Biofilms. **Antibiotics**, 3, jun 2014., p. 270-284

HELMI, K. *et al.* Assessment of flow cytometry for microbial water quality monitoring in cooling tower water and oxidizing biocide treatment efficiency. **Journal of Microbiological Methods**, 152, 2018., p. 201-209

HIJNEN, W. A. M.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. **Water Research**, 40, n. 1, 2006., p. 3-22

HIJNEN, W. A. M.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. **Water Research**, 40, n. 1, 2006., p. 3-22

HOSLETT, J. *et al.* Surface water filtration using granular media and membranes: A review. **Science of the Total Environment**, 639, 2018., p. 1268-1282

HSIEH, M.; DZOMBAK, D.; VIDIC, R. D. Effect of Tolyltriazole on the Corrosion Protection of Copper against Ammonia and Disinfectants in Cooling Systems. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 49, n. 16, 2010., p. 7313-7322

HUBE, S. *et al.* Direct membrane filtration for wastewater treatment and resource recovery: A review. **Science of The Total Environment**, 710, 2020., p. 22

ILHAN-SUNGUR, E.; ÇOTUK, A. Microbial corrosion of galvanized steel in a simulated recirculating cooling tower system. **Corrosion Science**, 52, n. 1, 2010., p. 161-171

INCROPERA, F. P. *et al.* **Fundamentos de Transferência de Calor e de Massa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. ISBN ISBN 9.

JEE, S. *et al.* Efficient Biofilms Eradication by Enzymatic-Cocktail of Pancreatic Protease Type-I and Bacterial α -Amylase. **Polymers**, 3032, n. 12, 2020., p. 13

JIA, T. *et al.* Inhibition of microbiologically influenced corrosion of X65 steel using D-Tyrosine enhanced eco-friendly bacteriostat rhamnolipid. **Progress in Organic Coatings**, 204, 2025.

JOÃO, J. *et al.* Manufacturing of bacteriophages for therapeutic applications. **Biotechnology Advances**, 22 abr. 2021., p. 22

JONCZYK, E. *et al.* The influence of external factors on bacteriophages-review. **Folia Microbiol**, 56, n. 3, 2011., p. 191-200

JONES, E. M.; COCHRANE, C. A.; PERCIVAL, S. L. The Effect of pH on the Extracellular Matrix and Biofilms. **Wound Repair Regen**, 22, 2014., p. 174-186

JONES, I. A.; JOSHI, L. T. Biocide Use in the Antimicrobial Era: A Review. **Molecules**, Basel, 2276, 2021., p. 11p

KADAIKILER, D. G.; DEMIREL, R. Fungal biodiversity and mycotoxigenic fungi in cooling-tower water systems in Istanbul, Turkey. **Journal of Water & Health**, 15, n. 2, 2017., p. 308-320

KAHN, A.; JOSHI, H. M. Combating chlorine-resistant marine *Klebsiella pneumoniae* biofilms with chlorine-tolerant bacteriophages. **Chemosphere**, 368, 2024.

KANEMATSU, H.; BARRY, D. M. **Formation and Control of Biofilm in Various Environments**. [S.I.]: Springer Singapore, 2020. p. 233. ISBN 978-981-15-2239-0.

KARCZEWSKA, M. *et al.* How to Tackle Bacteriophages: The Review of Approaches with Mechanistic Insight. **International Journal of Molecular Sciences**, 24, n. 4447, 2023., p. 29P.

KAYANADATH, S.; NATHAN, V. K.; AMMINI, P. Anti-Biofilm Activity of Biosurfactant Derived from *Halomonas* sp., a Lipolytic Marine Bacterium from the Bay of Bengal, 88, n. 5, 2019., p. 585-599

KHORMALI, A.; AHMADI, S. Synergistic Effect Between Oleic Imidazoline and 2-Mercaptobenzimidazole for Increasing the Corrosion Inhibition Performance in Carbon Steel Samples. **Iran. J. Chem. Chem. Eng.**, 42, n. 1, 2023., p. 321-336

KIM, L. H. *et al.* Use of rhamnolipid biosurfactant for membrane biofouling prevention and cleaning. **Biofouling**, 31, n. 2, 2015., p. 211-220

KOKOLARAMANI, S. *et al.* Application of photoelectrochemical oxidation of wastewater used in the cooling tower water and its influence on microbial corrosion. **Front. Microbiol.**, 15, 2024., p. 15p

KUMLIEN, A. C. M. D. A.; BORREGO, C. M.; BALCÁZAR, J. L. Antimicrobial Resistance and Bacteriophages: An Overlooked Intersection in Water Disinfection. **Trends in Microbiology**, 29, Junho 2021., p. 517-527

KURITA. **Kurita Handbook of water treatment**. 2^a. ed. Toquio: Kurita Water Industries Ltd., 1999. p. 471.

KUTTER, E.; SULAKVELIDZE, A. (Eds.). **Bacteriophages: Biology and Applications**. 1^a. ed. [S.I.]: CRC Press, 2004. p. 528. ISBN 9780429208720.

KWIATEK, M. *et al.* Isolation of bacteriophages and their application to control *Pseudomonas aeruginosa* in planktonic and biofilm models. **Research in Microbiology**, 168, n. 3, 2017., p. 194-207

LAKRETZ, A.; RON, E. Z.; MAMANE, H. Biofouling control in water by various UVC wavelengths and doses. **Biofouling**, 26, n. 3, 2010., p. 257-267

LI, J. *et al.* Chlorination contributes to multi-antibiotic resistance in a pilot-scale water distribution system Open Access. **Water Supply**, 21, n. 8, 2021., p. 4369-4381

LI, Z. *et al.* Rhamnolipid as an eco-friendly corrosion inhibitor for microbiologically influenced corrosion. **Corrosion Science**, 204, 2022.

LIN, B. *et al.* Study on Synergistic Corrosion Inhibition Effect between Calcium Lignosulfonate (CLS) and Inorganic Inhibitors on Q235 Carbon Steel in Alkaline Environment with Cl⁻. **Molecules**, 25, n. 18, 2020.

LIU, F. *et al.* Effect of oxidizing and non-oxidizing biocides on biofilm at different substrate levels in the model recirculating cooling water system. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 27, 2011., p. 2989–2997

LIU, Y. *et al.* Role of bacterial adhesion in the microbial ecology of biofilms in cooling tower systems. **Biofouling**, n. 3, 2009., p. 241-253

LU, T. K.; COLLINS, J. J. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. **PNAS**, 104, 2007., p. 11197-11202

LUCCHESI, E. G. **Desenvolvimento de sistema de obtenção de biofilmes in vitro e avaliação de sua susceptibilidade a biocidas**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 77. 2006.

LUDENSKY, M. Control and monitoring of biofilms in industrial applications. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 51, 2003., p. 255-263

LUDENSKY, M. Microbiological Control in Cooling water Systems. In: PAULUS, W. **Directory of Microbicides for the Protection of Materials - A Handbook**. [S.l.]: Springer Books, 2005. Cap. 5.3, p. 121-139.

MA, W. *et al.* Bacteriophage-based strategies for biofouling control in ultrafiltration: in situ biofouling mitigation, biocidal additives and biofilm cleanser. **Journal of Colloid and Interface Science**, 1', 2018., p. 254-265

MACHADO, L. P. **Reúso de esgotos sanitários tratados para fins de água de reposição em torres de resfriamento - sistemas semi-abertos**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 181. 2004.

MÄNTYNEN, S.; SALOMAA, M. M.; PORANEN, M. M. Diversity and Current Classification of dsRNA Bacteriophages. **Viruses**, 15, n. 2154, Oct. 2023., p. 13

MARCHIOTTI, M. C. *et al.* Fagoterapia: uma alternativa simples e barata para o tratamento de infecções bacterianas resistentes à antibioticoterapia. **Revista UNINGÁ Review**, v. 26, n. 2, 2016., p. 31-34

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; ANDREATTI FILHO, R. L. Fagoterapia: uma opção de controle biológico para a salmonelose aviária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 10, 1 Janeiro 2010., p. 6-13

MARINHO, P. S. D. S.; SILVA, R. R. D.; LUNA, J. M. D. Biossurfactantes microbianos e aplicações ambientais. **Research, Society and Development**, 11, n. 12, 2022., p. 18p.

MAROÑAS, M. E.; DAMBORENEA, C. Efeito de biocidas e tolerância à exposição ao ar. In: DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. **Introdução a Biologia das Invasões**. São Carlos: Cubo Editora, 2009. Cap. 11, p. 169-183.

MARQUES, M. S. **Pesquisa de bacteriófagos de Helicobacter pylori**. Universidade de Lisboa. Lisboa, p. 45p. 2011.

MCKINNEY, C. W.; PRUDEN, A. Ultraviolet disinfection of antibiotic resistant bacteria and their antibiotic resistance genes in water and wastewater. **Environmental Science & Technology**, 46, n. 24, 2012., p. 13393-13400

MEESTERS, K. P. H.; VAN GROENESTIJN, J. W.; GERRITSE, J. Biofouling reduction in recirculating cooling systems through biofiltration of process water. **Water Research**, n. 37, 2003., p. 525 - 532

MEIRELES, A. *et al.* The current knowledge on the application of anti-biofilm enzymes in the food industry. **Food Research International**, 2016., p. 140-146

MINE, A. H.; COLEMAN, M. L.; COLMAN, A. S. Phosphorus Release and Regeneration Following Laboratory Lysis of Bacterial Cells. **Front. Microbiol.**, 12, 2021., p. 12p

MINNOŞ, B. *et al.* The corrosion behaviour of galvanized steel in cooling tower water containing a biocide and a corrosion inhibitor. **Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, Londres, 2014., p. 223-235

MITSUYA, R. T. **Tratamento Biocida de Águas de Resfriamento com Ácido Peracético**. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. [S.l.], p. 95. 2018.

MORTARI, A.; ADAMI, A.; LORENZELLI, L. An unconventional approach to impedance microbiology: Detection of culture media conductivity variations due to bacteriophage generated lyses of host bacteria. **Biosensors and Bioelectronics**, 67, 2015., p. 615-620

MOUCHTOURI, V. A. *et al.* Legionella species colonization in cooling towers: Risk factors and assessment of control measures. **American Journal of Infection Control**, 38, 2010., p. 50-55

MOUDGIL, H. K. *et al.* Synergistic effect of some antiscalants as corrosion inhibitor for industrial cooling water system. **Journal of Applied Electrochemistry**, 39, 2009., p. 1339-1347

MOUNAOUER, B.; ABDENNACEUR, H. Ultraviolet Radiation for Microorganism Inactivation in Wastewater. **Journal of Environmental Protection**, 3, 2012., p. 194-202

MURPHY, J. *et al.* Impact of thermal and biocidal treatments on lactococcal 936-type phages. **International Dairy Journal**, 34, n. 1, 2014., p. 56-61

NALCO CHEMICAL COMPANY. **The Nalco Water Handbook**. 4. ed. [S.l.]: McGraw-Hill Education, 2018. p. 1376. ISBN 978-1-25-986098-0.

NECA, C. S. M. *et al.* O uso de bacteriófagos como solução na resistência antibiótica e suas aplicações na indústria: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, 11, n. 9, 2022., p. 1-10

NGUYEN, H. T. *et al.* omprehensive assessment of chlorination disinfection on microplastic-associated biofilms. **Journal of Hazardous Materials**, 474, n. 134751, 2024., p. 13p

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: Propriedades e aplicações. **Química Nova**, 25, n. 5, 2002., p. 772-776

OECD, O. F. E. C.-O. A. D. Test No. 302B: Inherent Biodegradability: Zahn-Wellens/ EVPA Test. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Paris, n. Section 3, 1992., p. 1-8

OLIVEIRA, P. H. B. D. **Efeito do tratamento do leite por radiação ultravioleta (UV) em comparação à pasteurização**. Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, p. 101. 2012.

OLSZAK, T. *et al.* Phage Life Cycles Behind Bacterial Biodiversity. **Current Medicinal Chemistry**, 24, 2017., p. 3987-4001

PADHI, R. K.; SUBRAMANIAN, S.; SATPATHY, K. K. Formation, distribution, and speciation of DBPs (THMs, HAAs, ClO₂⁻, and ClO₃⁻) during treatment of different source water with chlorine and chlorine dioxide. Chemosphere. **Chemosphere**, 218, 2019., p. 540-550

PAGNIER, I.; MERCHAT, M.; LA SCOLA, B. Potentially pathogenic amoeba-associated microorganisms in cooling towers and their control. **Future Microbiology**, 4, n. 5, 2009., p. 615-629

PAISANO, A. F.; BOMBANA, A. C. Fagoterapia como alternativa no combate às infecções endodônticas. **RGO - Rev Gaúcha Odontol.**, 58, n. 2, 2010., p. 243-252

PARTHIPAN, P. *et al.* Glycolipid biosurfactant as an eco-friendly microbial inhibitor for the corrosion of carbon steel in vulnerable corrosive bacterial strains. **Journal of Molecular Liquids**, 261, 2018., p. 473-479

PAULA, S. D. **Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em água do mar sintética na presença de bactérias redutoras de sulfato**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de JAneiro, p. 105f. 2010.

PEDRAMFAR, A.; MAAL, K. B.; MIRDAMADIAN, S. H. Phage therapy of corrosion-producing bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* using isolated lytic bacteriophages. **Anti-Corrosion Methods and Materials**, 64, n. 11, 2017.

PEREIRA, G. **Avaliação da utilização de biocidas no tratamento de água produzida na indústria de petróleo e seu impacto na resistência bacteriana.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 127p. 2023.

PEREZ, K. J. **Caracterização de lipopeptídeos antimicrobianos e surfactantes produzidos por *Bacillus* spp. isolados de puba.** Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 214f. 2014.

PINEL, I. S. M. *et al.* Bacterial community dynamics and disinfection impact in cooling water systems. **Water Research**, 172, 2020., p. 11p

PINTO, R. C. *et al.* **Estudo de performance de inibidores de corrosão comerciais aplicados em águas de reúso de refinaria.** INTERCORR 2014. Fortaleza: [s.n.]. 2014, p. 8p.

PIPPO, F. *et al.* Biofilm growth and control in cooling water industrial. **FEMS Microbiology Ecology**, 94, n. 5, 2018., p. 13p

PRYFOGLE, P. A. *et al.* Investigation of an electrochemical monitor for tracking biofilm development at the bonnett geothermal plant, Cove Fort, Utah. **TRANSACTIONS-GEOTHERMAL RESOURCES COUNCIL**, 2002., p. 745-748

QI, X. *et al.* Investigation of Corrosion Characteristics of High-Sodium High-Chlorine Lignite during Circulating Fluidized Bed Combustion. **Energy & Fuels**, 31, n. 12, 2017., p. 13627–13638

QUALLS , R. G.; FLYNN, M. P.; JOHNSON, J. The role of suspended particles in ultraviolet disinfection. **Journal of Water Pollution Control Federation**, 55, n. 10, 1983.

RAJITHA, K.; NANCHARAI, Y. V.; VENUGOPALAN, V. P. Inhibition of biofilm formation and settlement of barnacle larvae by a biosurfactant produced from a marine biofilm-forming *Exiguobacterium* sp. R58. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 187, 2024., p. 9p

RAKHUBA, D. V. *et al.* Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell. **Polish Journal of Microbiology**, 59, n. 3, 2010., p. 145-155

RAO, T. S. Biofouling in Industrial Water Systems. In: AHMJAD, Z.; DEMADIS, K. D. **Mineral Scales and Deposits Scientific and Technological Approaches.** [S.l.]: Elsevier, 2015. Cap. 6, p. 747-758. ISBN 978-0-444-63228-9.

RAO, T. S. Microfouling in industrial cooling water systems. **In:** AMJAD, Z.; DEMADIS, K. D. **Water-formed deposits: fundamentals and Mmitigation strategies**. 1^a. ed. [S.I.]: Elsevier, 2022. Cap. 5. ISBN 9780128228968.

RAO, T. S. Industrial applications and implications of biofilms. **In:** DAS, S.; KUNGWANI, N. A. **Understanding microbial biofilms: Funamentals to Applications**. 1. ed. [S.I.]: Elsevier Inc., v. 1, 2023. Cap. 40, p. 774p. ISBN 978-0-323-99977-9.

RATTANAKUL, S.; OGUMA, K. Analysis of Hydroxyl Radicals and Inactivation Mechanisms of Bacteriophage MS2 in Response to a Simultaneous Application of UV and Chlorine. **Environmental science & technology**, 1, 2017., p. 455–462

RATTANAKUL, S.; OGUMA, K. Inactivation kinetics and efficiencies of UV-LEDs against *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, and surrogate microorganisms. **Water Research**, 130, 2018., p. 31-37

RIENZO, M. A. D. D. *et al.* Sophorolipid biosurfactants: Possible uses as antibacterial and antibiofilm agent. **New Biotechnology**, 32, n. 6, 2015., p. 720-726

ROCHA, P. M. D. **Avaliação da formação de biofilme na superfície de membranas de nanofiltração aplicadas na dessulfatação da água do mar**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 117f. 2015.

RODRIGUEZ, R. A. *et al.* Photoreactivation of bacteriophages after UV disinfection: Role of genome structure and impacts of UV source. **Water Research**, 55, n. 2, 2014., p. 143-149

ROGERS, J. *et al.* Influence of pumbling materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water-systems. **Applied and Environmental Microbiology**, 6, 1994., p. 1842-1851

RUBIO, D.; CASANUEVA, J.; NEBOT, E. Assessment of the antifouling effect of five different treatment strategies on a seawater cooling system. **Applied Thermal Engineering**, 85, 2015., p. 124-134

RUBIO, J. C. C.; VIEIRA, L. M. G. Determinação das variáveis de exposição para um sistema de desinfecção por radiação UV. **ACTA MECHANICA ET MOBILITATEM**, 5, 2020., p. 24-28

RUIZ-SORIBAS, A. *et al.* Hydrolytic Enzymes as Potentiators of Antimicrobials against an Inter-Kingdom Biofilm Model. **Microbiology Spectrum**, n. 10, 2022., p. 16

SAMIMI, A. Micro-organisms of cooling tower problems and how to manage them. **International Journal of Basic and Applied Science**, 01, 2013., p. 705-715

SANTOS, A. S. D. **Produção de Ramnolipídeos por Pseudomonas aeruginosa**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio Janeiro, p. 110. 2003.

SANTOS, B. E. D. Desafiando a resistência antimicrobiana: o potencial terapêutico da fagoterapia. **BIOINFO**, v. 3, 2023., p. 60-66

SANTOS, E. D. S. *et al.* Biocorrosão e o biofouling - uma revisão de literatura. In: **OPEN SCIENCE RESEARCH VII**. 1ª. ed. [S.l.]: Editora Científica Digital, v. 7, 2022. Cap. 13, p. 193-205. ISBN 978-65-5360-239-7.

SAUER, K. *et al.* The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. **Nature Reviews Microbiology**, 20, 2022., p. 608-620

SHARP, D. G. The Lethal Action of Short Ultraviolet Rays on Several Common Pathogenic Bacteria. **Journal of Bacteriology**, 37, n. 4, 1939., p. 447-460

SHENDE, R. K. *et al.* Isolation and characterization of bacteriophages with lytic activity against common bacterial pathogens. **Vet World**, 8, 2017., p. 973-978

SILVA, O. D. **Avaliação in vitro de biossurfactantes lipopeptídeos para o controle do crescimento e formação de biofilme de Malassezia furfur**. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, p. 69. 2021.

SILVA, P. S. D. **Avaliação de biocidas no controle da corrosão microbiologicamente induzida do aço carbono 1020 por bactérias redutoras de sulfato**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 149. 2015.

SILVA, R. C. *et al.* Efficacy of Disinfecting Solutions in Removing Biofilms From Polyvinyl Chloride Tracheostomy Tubes. **The Laryngoscope**, n. 123, 2013., p. 259-263

SILVA, S. S. D. **Aplicação de radiação UV para desinfecção de efluente da associação de reator UASB e biofiltro aerado submerso**. Universidade de São Paulo. São Carlos, p. 149. 2007.

SINGH, A.; VAN HAMME, J. D.; WARD, O. P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. **Biotechnology Advances**, n. n. 12, 2007., p. 99-121

SOMMER, R. *et al.* Disinfection of Drinking Water by UV Irradiation: Basic Principles - Specific Requirements - International Implementations. **The Journal of the International Ozone Association** , 30, n. 1, 2008.

SONG, Y. *et al.* Resistance and resilience of representative low nucleic acid-content bacteria to free chlorine exposure. **Journal of Hazardous Materials**, 365, 2019., p. 270-279

SOUSA, A. M. **Bacteriófagos: características gerais, utilidades e aplicações biotecnológicas**. Universidade Federal de Minas Gerais. [S.I.]. 2012.

SOUSA, J. R. *et al.* Cinética e caracterização de ramnolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* MSIC02 utilizando glicerol como fonte de carbono. **Quim. Nova**, 37, n. 3, 2014., p. 431-441

SOUZA, D. O. *et al.* Variações em índices de estabilidade da água em reservatório sob condição de seca acentuada do trópico semiárido brasileiro. **Revista DAE**, São Paulo, 68, n. 277, 2020., p. 132-151

SOUZA, D. O. **Variação de índices iônicos em reservatórios no sertão cearense**. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, p. 152. 2019.

STACHLER, E.; KULL, A.; JULIAN, T. R. Bacteriophage Treatment before Chemical Disinfection Can Enhance Removal of Plastic-Surface-Associated *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, 20, 2021., p. 12p

STOODLEY, P. *et al.* Biofilms as complex differentiated communities. **Annu Rev Microbiol.**, 56, 2002., p. 187-209

SUN, W. *et al.* Characterization and identification of a chlorine-resistant bacterium, *Sphingomonas* TS001, from a model drinking water distribution system. **Science of The Total Environment**, 458-460, 2013., p. 169-175

SUN, W. *et al.* Characterization and identification of a chlorine-resistant bacterium, *Sphingomonas* TS001, from a model drinking water distribution system. **Science of The Total Environment**, 458-460, 2013., p. 169-175

TEUGHEL, W. *et al.* Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. **Clin. Oral Impl. Res.**, 17, 2006., p. 68-81

TEWARI, R.; MEHTA, S.; VAISHNAV, P. Influence of Microbes in Cooling Tower: A Review. **International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)**, 06, 2019., p. 376 - 383

TOLKER-NIELSEN, T. Biofilm Development. **Microbiology Spectrum**, 2015., p. 12p

TOMAT, D. *et al.* Resistance of phages lytic to pathogenic *Escherichia coli* to sanitisers used by the food industry and in home settings. **Int J Food Sci Technol**, 53, n. 2, 2018., p. 533-540

TOTÉ, K. *et al.* Inhibitory Effect of Biocides on the Viable Masses and Matrices of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, 76, n. 10, 2010., p. 3135-3142

TÜRKOĞLU, B. N.; ADALETİ, R.; RAYMAN, E. Antimicrobial and antibiofilm activity of rhamnolipid and sophorolactone on some pathogenic bacteria, 29, n. 2, 2025., p. 497-506

TURNER, D. *et al.* Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. **Archives of Virology**, 168, n. 74, 2023., p. 9p

VEIGA, A. *et al.* A minimização da Cloração no Reúso de Efluentes em Torres de Resfriamento. **REVISTA DE CIÊNCIA & Tecnologia**, 10, 2010., p. 54-68

VEIGA, A. A. **Estudo do Efeito Biocida do Cloro e do Peróxido de Hidrogênio em Sistemas de Resfriamento com Reúso de Efluente como Água de Reposição.** Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ. Rio de Janeiro, p. 286. 2010.

VERMA, V.; HARJAI, K.; CHHIBBER, S. Structural changes induced by a lytic bacteriophage make ciprofloxacin effective against older biofilm of *Klebsiella pneumoniae*. **Biofouling**, 26, n. 6, 2010., p. 729-737

VERT, M. *et al.* Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure and Applied Chemistry**, 84 (2), 11 JAN. 2012., p. 377-410

VICENTE, A. C. **Uso de Ácido Peracético como Biocida em Tratamento de Água de Torre de Resfriamento.** Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 76. 2018.

VIEIRA, G. M. *et al.* Eficácia da fagoterapia para o tratamento de infecções por bactérias multirresistentes e suas aplicações. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, 4, n. 3, 2021., p. 10728-10744

VIEIRA, M. R. S. **Estudo dos processos de corrosão e biocorrosão causados por fluidos da indústria de petróleo**. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p. 129. 2013.

VIEIRA, M. S. *et al.* A highly specific *Serratia*-infecting T7-like phage inhibits biofilm formation in two different genera of the Enterobacteriaceae family. **Research in Microbiology**, 172, 2021.

WANG, H. *et al.* Biofilms Controlling in Industrial Cooling Water Systems: A Mini-Review of Strategies and Best Practices. **ACS Appl. Bio Mater.**, 6, n. 8, 2023., p. 3213-3220

WANG, H.; HU, C.; HU, X. Effects of combined UV and chlorine disinfection on corrosion and water quality within reclaimed water distribution systems. **Engineering Failure Analysis**, 39, 2014., p. 12-20

WANG, S.; YANG, Y.; JING, J. A Synthesis of Viral Contribution to Marine Nitrogen Cycling. **Front. Microbiol.**, 13, 2022., p. 12p

WEYERSBERG, L. *et al.* UV radiation sensitivity of bacteriophage PhiX174 - A potential surrogate for SARS-CoV-2 in terms of radiation inactivation. **AIMS Microbiology**, 9, n. 3, 2023., p. 431-443

WHITE, S. C.; JERNIGAN, E. B.; VENOSA, A. D. A study of operational ultraviolet disinfection equipment at secondary treatment plants. **Journal of the Water Pollution Control Federation** 58, n. 3, 1986., p. 181-192

WILHELM, S. W.; SUTTLE, C. A. Viruses and Nutrient Cycles in the Sea: Viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs. **BioScience**, 49, n. 10, 1999., p. 781-788

WINTERBURN, J. B.; MARTIN, P. J. Foam mitigation and exploitation in biosurfactant production. **Biotechnology Letters**, 34, 2012., p. 187-195

XU, D. *et al.* Advances in the treatment of problematic industrial biofilms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 33, n. 97, 2017., p. 10p

XU, P. *et al.* MIC in Circulating Cooling Water System. **Journal of Water Resource and Protection**, n. 4, 2012., p. 203-206

YANG, X.; LI, H.; SVENDSEN, S. Alternative solutions for inhibiting Legionella in domestic hot water systems based on low-temperature district heating. **Journal of Building Services Engineering Research & Technology**, 37, 2016., p. 468-478

YAP, M. L.; ROSSMANN, M. G. Structure and function of bacteriophage T4. **Future Microbiology**, 12, n. 9, 2014., p. 1319-1327

YU, M. *et al.* Inactivation of phage phiX174 by UV254 and free chlorine: Structure impairment and function loss. **Journal of Environmental Management**, 340, 2023.

ZARASVAND, K. A.; RAI, V. R. Microorganisms: Induction and inhibition of corrosion in metals. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 2013., p. 66-74

ZHANG, B. *et al.* Hormetic Promotion of Biofilm Growth by Polyvalent Bacteriophages at Low Concentrations. **Environmental Science & Technology**, 54, n. 19, 2020., p. 12358-12365

ZHANG, C. M. *et al.* Effects of ultraviolet disinfection on antibiotic-resistant Escherichia coli from wastewater: inactivation, antibiotic resistance profiles and antibiotic resistance genes. **Journal of Applied Microbiology**, 123, n. 1, 2017., p. 295-306

ZHANG, G. *et al.* Bacteriophage application in inhibiting corrosion-producing bacteria. **BMC Microbiology**, 25, n. 241, 2025.

ZHANG, S. *et al.* UV disinfection induces a VBNC state in Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. **Environmental Science & Technology**, 49, n. 3, 2015., p. 1721-1728

ZHANG, Y.; HU, Z. Combined Treatment of Pseudomonas aeruginosa Biofilms With Bacteriophages and Chlorine. **Biotechnology and Bioengine**, 1, 2012., p. 286-295

ZHU, X. *et al.* A comparative analysis of phage classification methods in light of the recent ICTV taxonomic revisions. **Virology**, 594, 2024., p. 9

ZORTÉA, J. B.; MARTINS, V.; SCIENZA, L. C. **Avaliação da corrosividade do meio e da corrosão do aço carbono em água clarificada de uma estação de tratamento de água industrial**. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais - CBECiMat. Águas de Lindóia: [s.n.]. 2022, p. 6p.

APÊNDICE – RESULTADOS ESTATÍSTICOS

I - Efeito de produtos doseados em torre de resfriamento na estabilidade de fagos em uso nos ensaios de controle microbiano

Tabela I – Resultados estatísticos dos produtos desincrustantes, anticorrosivos e hipoclorito de sódio no título fágico.

Fago	Comparação	Estimativa	Erro_Padrao	Valor_t	Valor_p	Significância
LMA-UFMGP2	KuriroyalF_753 - controle	-0,211	0,046	-4,545	0,014	*
	KurizetS_433 - controle	0,111	0,046	2,378	0,172	ns
	KurizetS_521 - controle	-0,164	0,046	-3,517	0,043	*
	KurizetS_750 - controle	0,057	0,046	1,234	0,638	ns
	NaClO - controle	-0,033	0,046	-0,702	0,921	ns
	KuriroyalF_753 - controle	-0,039	0,065	-0,602	0,954	ns
LMA-UFMG112	KurizetS_433 - controle	-0,086	0,065	-1,324	0,586	ns
	KurizetS_521 - controle	0,132	0,065	2,028	0,265	ns
	KurizetS_750 - controle	0,119	0,065	1,824	0,338	ns
	NaClO - controle	0,075	0,065	1,144	0,692	ns
	KuriroyalF_753 - controle	0,232	0,119	1,942	0,294	ns
	KurizetS_433 - controle	-0,285	0,119	-2,390	0,169	ns
LMA-UFMGB2	KurizetS_521 - controle	0,129	0,119	1,077	0,731	ns
	KurizetS_750 - controle	0,125	0,119	1,047	0,748	ns
	NaClO - controle	0,110	0,119	0,925	0,817	ns
	KuriroyalF_753 - controle	-0,134	0,039	-3,465	0,046	*
	KurizetS_433 - controle	-0,095	0,039	-2,454	0,157	ns
	KurizetS_521 - controle	-0,214	0,039	-5,545	0,006	**
LMA-UFMG12.2.1	KurizetS_750 - controle	-0,056	0,039	-1,452	0,514	ns
	NaClO - controle	-0,137	0,039	-3,562	0,041	*
	KuriroyalF_753 - controle	-0,173	0,054	-3,181	0,064	ns
	KurizetS_433 - controle	-0,162	0,054	-2,990	0,081	ns
	KurizetS_521 - controle	0,009	0,054	0,166	1,000	ns
	KurizetS_750 - controle	-0,173	0,054	-3,181	0,064	ns

LMA-UFMG3.1	NaClO - controle	0,086	0,054	1,592	0,442	ns
	KuriroyalF_753 - controle	0,112	0,132	0,854	0,854	ns
	KurizetS_433 - controle	-0,024	0,132	-0,183	1,000	ns
	KurizetS_521 - controle	-0,296	0,132	-2,248	0,202	ns
	KurizetS_750 - controle	-0,414	0,132	-3,146	0,067	ns
	NaClO - controle	0,050	0,132	0,380	0,993	ns

II - Avaliação do uso de bacteriófagos e cloro no controle microbiano em reator *Rack by-pass* alimentado com água sintética

Tabela II – Resultados obtidos na análise da área total sob a curva (AUC) para as bactérias planctônicas.

Grupo	Tratamento	AUC	slope	r2	AUC _boot_mean	AUC _ci_low	AUC _ci_high	Diff _ci_low	Diff _ci_high
RLI17	controle	8,84E+05	0,217	0,258	8,72E+05	1,89E+05	1,14E+06	NA	NA
	cloro	1,12E+06	0,324	0,030	1,11E+06	9,15E+05	1,26E+06	-5,35E+04	8,82E+05
	fago	8,44E+04	-0,201	0,325	8,38E+04	7,00E+04	9,55E+04	-1,05E+06	-1,09E+05
	fagosprodutos	2,03E+06	0,018	0,013	1,99E+06	3,97E+05	2,54E+06	-4,66E+05	1,86E+06
PLA5	controle	2,82E+06	0,180	0,408	2,74E+06	3,56E+05	3,63E+06	NA	NA
	cloro	2,88E+05	0,325	0,030	2,85E+05	1,61E+05	3,71E+05	-3,40E+06	-6,42E+04
	fago	1,02E+05	-0,114	0,498	1,01E+05	8,32E+04	1,20E+05	-3,52E+06	-2,55E+05
	fagosprodutos	4,68E+05	-0,001	0,000	4,64E+05	2,12E+05	7,57E+05	-3,20E+06	8,04E+04
BTR1	controle	8,63E+06	0,190	0,375	8,43E+06	1,83E+06	1,06E+07	NA	NA
	cloro	1,48E+06	0,458	0,051	1,47E+06	1,18E+06	1,78E+06	-9,18E+06	-3,64E+05
	fago	1,12E+06	-0,022	0,019	1,10E+06	7,13E+05	1,27E+06	-9,51E+06	-7,22E+05
	fagosprodutos	2,81E+07	-0,131	0,841	2,72E+07	1,39E+06	3,54E+07	-7,27E+06	2,70E+07
BRT4	controle	4,25E+06	0,413	0,500	4,18E+06	8,12E+05	5,28E+06	NA	NA
	cloro	4,43E+05	-0,490	0,066	4,46E+05	2,26E+05	6,95E+05	-4,83E+06	-3,61E+05
	fago	7,70E+04	0,592	0,170	7,73E+04	5,50E+04	9,75E+04	-5,19E+06	-7,32E+05
	fagosprodutos	3,47E+06	-0,277	0,397	3,38E+06	4,65E+05	5,38E+06	-3,73E+06	2,23E+06
94	controle	2,71E+07	0,040	0,155	2,64E+07	4,06E+05	3,47E+07	NA	NA
	cloro	5,42E+05	-0,125	0,006	5,39E+05	3,69E+05	6,68E+05	-3,41E+07	1,27E+05
	fago	6,24E+05	-0,049	0,058	6,11E+05	2,24E+05	7,43E+05	-3,40E+07	2,21E+05
	fagosprodutos	5,04E+06	0,173	0,717	4,96E+06	8,76E+05	6,57E+06	-3,00E+07	4,62E+06
112	controle	4,54E+05	0,744	0,260	4,41E+05	5,34E+04	6,71E+05	NA	NA
	cloro	1,17E+05	0,276	0,022	1,15E+05	6,07E+04	1,62E+05	-5,62E+05	5,77E+04
	fago	6,77E+04	-0,087	0,005	6,97E+04	1,53E+04	1,22E+05	-6,04E+05	1,24E+04
	fagosprodutos	8,72E+05	0,041	0,030	8,43E+05	7,44E+04	1,17E+06	-4,02E+05	8,56E+05
Total	controle	4,41E+07	0,200	0,568	4,29E+07	3,65E+06	5,53E+07	NA	NA
	cloro	3,98E+06	-0,082	0,002	3,95E+06	3,17E+06	4,55E+06	-5,13E+07	2,66E+05
	fago	2,07E+06	-0,044	0,132	2,03E+06	1,29E+06	2,36E+06	-5,31E+07	-1,64E+06
	fagosprodutos	4,00E+07	-0,048	0,249	3,86E+07	3,45E+06	5,02E+07	-4,10E+07	3,63E+07

Tab. III – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento de remoção de biofilme em cupons de aço inox e PVC.

Material	Grupo	contrast	estimate	std.error	statistic	adj.p.value
Inox	RLI17	cloro - controle	1,89E+05	1,02E+05	1,843	0,214
		fagos - controle	-3,38E+04	1,11E+05	-0,305	0,981
		fagosproduto - controle	-2,89E+04	1,02E+05	-0,282	0,985
	PLA5	cloro - controle	-1,21E+05	7,03E+04	-1,728	0,254
		fagos - controle	-1,39E+05	6,51E+04	-2,131	0,135
		fagosproduto - controle	-1,39E+05	6,51E+04	-2,139	0,134
	BTR1	cloro - controle	8,45E+05	3,40E+05	2,485	0,071
		fagos - controle	-3,04E+04	3,40E+05	-0,09	0,999
		fagosproduto - controle	-2,11E+04	3,40E+05	-0,062	1
	BTR4	cloro - controle	9,63E+04	2,25E+04	4,275	0,003
		fagos - controle	1,50E+03	2,25E+04	0,067	1
		fagosproduto - controle	2,21E+04	2,25E+04	0,981	0,634
	94	cloro - controle	3,35E+05	1,17E+05	2,87	0,036
		fagos - controle	-8,65E+03	1,17E+05	-0,074	1
		fagosproduto - controle	6,68E+03	1,17E+05	0,057	1
	112	cloro - controle	8,79E+03	6,90E+03	1,275	0,473
		fagos - controle	-6,74E+03	7,45E+03	-0,904	0,706
		fagosproduto - controle	-1,08E+03	6,90E+03	-0,157	0,997
	TOTAL	cloro - controle	1,38E+06	5,95E+05	2,314	0,1
		fagos - controle	-2,16E+05	6,42E+05	-0,335	0,975
		fagosproduto - controle	-1,62E+05	5,95E+05	-0,273	0,986
PVC	RLI17	cloro - controle	-9,31E+03	1,52E+04	-0,611	0,867
		fagos - controle	-2,39E+04	1,63E+04	-1,466	0,360
		fagosproduto - controle	-3,06E+04	1,52E+04	-2,005	0,164
	PLA5	cloro - controle	3,58E+04	1,67E+04	2,142	0,133
		fagos - controle	-4,17E+03	1,81E+04	-0,231	0,991
		fagosproduto - controle	-4,17E+03	1,67E+04	-0,249	0,989
	BTR1	cloro - controle	-7,43E+04	3,24E+04	-2,293	0,110
		fagos - controle	-9,60E+04	3,24E+04	-2,962	0,037
		fagosproduto - controle	-6,88E+04	3,00E+04	-2,292	0,110
	BTR4	cloro - controle	-3,46E+04	2,64E+04	-1,312	0,445
		fagos - controle	-4,17E+04	2,64E+04	-1,580	0,308
		fagosproduto - controle	-6,00E+04	2,64E+04	-2,276	0,102
	94	cloro - controle	1,39E+03	2,00E+04	0,069	1,000
		fagos - controle	5,14E+03	2,00E+04	0,257	0,986
		fagosproduto - controle	7,47E+04	2,00E+04	3,733	0,008

112	cloro - controle	-2,12E+04	5,34E+03	-3,980	
	fagos - controle	-2,21E+04	5,77E+03	-3,830	0,007
	fagosproduto - controle	-2,54E+04	5,34E+03	-4,761	0,002
TOTAL	cloro - controle	-1,02E+05	5,96E+04	-1,713	0,260
	fagos - controle	-1,91E+05	5,52E+04	-3,458	0,014
	fagosproduto - controle	-1,56E+05	5,52E+04	-2,831	0,042

Tabela IV – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento de inibição de biofilme em cupons de aço-inox e PVC (somente os grupos com significância estatística);

Cupom	Contrast	Grupo	Retirada (Dia)	Estimate	SE	df	t.ratio	adj.p.value	
INOX	cloro - controle	112	15	-4,949	1,801	161	-2,748	0,019	*
	fagosprodutos - controle	112	15	-7,510	1,801	161	-4,169	0,000	***
	cloro - controle	94	20	-4,364	1,801	161	-2,423	0,045	*
	fagos - controle	94	22	8,415	1,801	161	4,672	0,000	***
	fagosprodutos - controle	94	22	6,685	1,801	161	3,711	0,001	***
	cloro - controle	94	29	-6,909	1,801	161	-3,836	0,001	***
	cloro - controle	94	34	-4,325	1,801	161	-2,401	0,048	*
	fagosprodutos - controle	94	34	-4,325	1,801	161	-2,401	0,048	*
	fagosprodutos - controle	BTR1	15	-8,308	1,801	161	-4,612	0,000	***
	fagosprodutos - controle	BTR1	29	-5,944	1,801	161	-3,300	0,004	**
	cloro - controle	BTR4	15	-7,241	1,801	161	-4,020	0,000	***
	fagosprodutos - controle	BTR4	15	-7,241	1,801	161	-4,020	0,000	***
	cloro - controle	BTR4	20	-5,154	1,801	161	-2,861	0,014	*
	fagos - controle	BTR4	22	-7,111	1,801	161	-3,948	0,000	***
	cloro - controle	BTR4	22	-7,111	1,801	161	-3,948	0,000	***
	fagos - controle	BTR4	27	6,153	1,801	161	3,416	0,002	**
	fagos - controle	BTR4	34	-6,373	1,801	161	-3,538	0,002	**
	fagosprodutos - controle	BTR4	34	-6,373	1,801	161	-3,538	0,002	**
	fagos - controle	PLA5	15	-4,348	1,801	161	-2,414	0,046	*
	fagosprodutos - controle	PLA5	15	-6,909	1,801	161	-3,836	0,001	***
	cloro - controle	PLA5	20	-5,584	1,801	161	-3,100	0,007	**
	fagos - controle	PLA5	22	-7,332	1,801	161	-4,070	0,000	***
	fagos - controle	PLA5	34	-4,902	1,801	161	-2,721	0,020	*
	cloro - controle	PLA5	34	-4,902	1,801	161	-2,721	0,020	*
	fagosprodutos - controle	PLA5	34	-4,902	1,801	161	-2,721	0,020	*
	fagos - controle	RLI17	22	-5,924	1,801	161	-3,289	0,004	**
	cloro - controle	RLI17	29	4,524	1,801	161	2,511	0,036	*
	fagos - controle	RLI17	34	-5,834	1,801	161	-3,239	0,004	**
	fagosprodutos - controle	RLI17	34	-5,834	1,801	161	-3,239	0,004	**
	fagosprodutos - controle	TOTAL	15	-9,131	1,801	161	-5,069	0,000	***
PVC	fagosprodutos - controle	112	15	-8,967	1,857	161	-4,828	0,000	***
	fagos - controle	112	20	-10,250	1,857	161	-5,519	0,000	***
	cloro - controle	112	20	-7,344	1,857	161	-3,954	0,000	***
	fagos - controle	112	27	-6,818	1,857	161	-3,671	0,001	***
	cloro - controle	112	27	-6,818	1,857	161	-3,671	0,001	***

fagosprodutos - controle	112	27	-6,818	1,857	161	-3,671	0,001	***
cloro - controle	112	29	8,550	1,857	161	4,603	0,000	***
cloro - controle	112	34	7,212	1,857	161	3,883	0,000	***
fagosprodutos - controle	112	34	10,712	1,857	161	5,768	0,000	***
cloro - controle	94	20	-7,363	1,857	161	-3,964	0,000	***
fagos - controle	94	22	6,069	1,857	161	3,267	0,004	**
fagosprodutos - controle	94	22	4,427	1,857	161	2,384	0,050	*
fagos - controle	94	29	10,086	1,857	161	5,430	0,000	***
fagosprodutos - controle	94	29	9,716	1,857	161	5,231	0,000	***
fagosprodutos - controle	BTR1	15	-9,419	1,857	161	-5,071	0,000	***
fagos - controle	BTR1	34	-10,473	1,857	161	-5,639	0,000	***
fagosprodutos - controle	BTR4	15	-9,232	1,857	161	-4,971	0,000	***
cloro - controle	BTR4	20	-5,838	1,857	161	-3,143	0,006	**
fagos - controle	BTR4	27	-7,622	1,857	161	-4,104	0,000	***
cloro - controle	BTR4	27	-7,622	1,857	161	-4,104	0,000	***
fagosprodutos - controle	BTR4	27	-7,622	1,857	161	-4,104	0,000	***
fagos - controle	BTR4	29	-7,632	1,857	161	-4,109	0,000	***
cloro - controle	BTR4	29	-7,632	1,857	161	-4,109	0,000	***
cloro - controle	BTR4	34	8,550	1,857	161	4,604	0,000	***
fagosprodutos - controle	PLA5	15	-8,113	1,857	161	-4,368	0,000	***
fagos - controle	PLA5	22	-7,766	1,857	161	-4,181	0,000	***
fagosprodutos - controle	PLA5	22	-4,514	1,857	161	-2,430	0,044	*
fagos - controle	PLA5	27	-7,857	1,857	161	-4,230	0,000	***
fagosprodutos - controle	PLA5	27	-7,857	1,857	161	-4,230	0,000	***
fagos - controle	PLA5	29	-5,020	1,857	161	-2,703	0,021	*
cloro - controle	PLA5	29	-8,474	1,857	161	-4,562	0,000	***
fagos - controle	PLA5	34	8,481	1,857	161	4,566	0,000	***
cloro - controle	PLA5	34	7,121	1,857	161	3,834	0,001	***
fagosprodutos - controle	RLI17	20	-6,234	1,857	161	-3,356	0,003	**
cloro - controle	RLI17	22	7,314	1,857	161	3,938	0,000	***
fagos - controle	RLI17	27	-7,718	1,857	161	-4,156	0,000	***
fagosprodutos - controle	RLI17	27	-7,718	1,857	161	-4,156	0,000	***
cloro - controle	RLI17	29	5,737	1,857	161	3,089	0,007	**
fagos - controle	RLI17	34	-10,662	1,857	161	-5,740	0,000	***
fagosprodutos - controle	RLI17	34	-10,662	1,857	161	-5,740	0,000	***
fagosprodutos - controle	Total	15	-10,746	1,857	161	-5,786	0,000	***

Tabela V – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento de inibição de biofilme em cupons de aço-inox e PVC (somente os grupos com significância estatística);

Parametro	group1	group2	p_valor_ajustado	Significancia
CONDUTIVIDADE	controle	fagos	1	ns
	controle	cloro	1	ns
	controle	fagosprodutos	1	ns
	fagos	cloro	1	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	1	ns
O2	controle	fagos	1	ns
	controle	cloro	0,008	**
	controle	fagosprodutos	0,78	ns
	fagos	cloro	0,08	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	1	ns
ORP	controle	fagos	1	ns
	controle	cloro	1	ns
	controle	fagosprodutos	1	ns
	fagos	cloro	1	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	1	ns
PH	controle	fagos	0,000000217	****
	controle	cloro	0,00000172	****
	controle	fagosprodutos	0,000000486	****
	fagos	cloro	1	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	1	ns
RESISTIVIDADE	controle	fagos	1	ns
	controle	cloro	1	ns
	controle	fagosprodutos	1	ns
	fagos	cloro	1	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	0,666	ns
SDT	controle	fagos	1	ns
	controle	cloro	1	ns
	controle	fagosprodutos	1	ns
	fagos	cloro	1	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	1	ns
TEMPERATURA	controle	fagos	1	ns

TURBIDEZ	controle	cloro	1	ns
	controle	fagosprodutos	1	ns
	fagos	cloro	1	ns
	fagos	fagosprodutos	1	ns
	cloro	fagosprodutos	1	ns
	controle	fagos	0,005	**
	controle	cloro	0,834	ns
	controle	fagosprodutos	1	ns
	fagos	cloro	0,007	**
	fagos	fagosprodutos	3,74E-09	****
	cloro	fagosprodutos	0,102	ns

III - Teste da eficácia de fagos e ramnolipídeo no controle bacteriano no reator *rack by-pass* com o uso de água de bacia da torre de resfriamento da REPLAN.

Tabela VI – Resultados obtidos na análise da área total sob a curva (AUC) das bactérias planctônicas.

Tratamento	AUC	slope	r2	AUC boot mean	AUC ci low	AUC ci high	Diff ci low	Diff ci high
controle	1,34E+07	0,038	0,018	1,32E+07	1,06E+07	1,51E+07	NA	NA
biossurfactante	3,23E+07	-0,073	0,057	3,22E+07	2,47E+07	4,40E+07	1,12E+07	3,08E+07
fagos	6,82E+06	-0,056	0,136	6,76E+06	5,88E+06	7,67E+06	-8,53E+06	-3,50E+06

Tabela VII – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento de remoção de biofilmes.

Experimento	contrast	estimate	std.error	statistic	adj.p.value
PVC	BIOSURFACTANTE - CONTROLE	-166,665	117,848	-1,414	0,384
	FAGOS - CONTROLE	0,000	117,848	0,000	1,000
INOX	BIOSURFACTANTE - CONTROLE	-83,335	83,057	-1,003	0,566
	FAGOS - CONTROLE	-25,000	83,057	-0,301	0,938

Tabela VIII – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento de inibição de biofilmes.

Cupom	Retirada (Dia)	contrast	estimate	SE	df	t.ratio	adj.p.value
INOX	26	fagos - controle	-1,246	0,429	40	-2,905	0,012 *
	26	biossurfactante - controle	1,197	0,429	40	2,792	0,015 *
	29	fagos - controle	-1,023	0,429	40	-2,385	0,042 *
	29	biossurfactante - controle	1,192	0,429	40	2,780	0,016 *
	33	fagos - controle	-2,358	0,429	40	-5,500	0,000 ***
	33	biossurfactante - controle	1,513	0,429	40	3,530	0,002 **
	36	biossurfactante - controle	1,036	0,429	40	2,415	0,039 *
	40	biossurfactante - controle	1,146	0,429	40	2,673	0,021 *
	43	fagos - controle	-1,201	0,429	40	-2,802	0,015 *
	47	biossurfactante - controle	1,338	0,429	40	3,121	0,007 **
PVC	26	biossurfactante - controle	2,432	0,429	40	5,673	0,000 ***
	29	biossurfactante - controle	2,640	0,429	40	6,157	0,000 ***
	33	biossurfactante - controle	2,098	0,429	40	4,894	0,000 ***
	36	fagos - controle	1,045	0,429	40	2,438	0,037 *
	40	fagos - controle	2,454	0,429	40	5,723	0,000 ***
	47	biossurfactante - controle	1,002	0,429	40	2,336	0,047 *

Tabela IX – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento nos testes de taxa de corrosão em cupons de aço-carbono.

contrast	null.value	estimate	std.error	statistic	adj.p.value	
Fago - Controle_Com_Aditivo	0	-0,957	0,076	-12,555	9,92E-07	
Ramnolipideo - Controle_Com_Aditivo	0	-0,624	0,076	-8,192	3,45E-05	
Fago - Controle_Com_Aditivo	0	-0,957	0,076	-12,555	9,92E-07	
Fago - Controle_Sem_Aditivo	-	0	-16,285	0,349	-46,708	0
Ramnolipideo - Controle_Sem_Aditivo	-	0	-15,952	0,349	-45,754	0
Controle_Com_Aditivo - Controle_Sem_Aditivo	-	0	-15,328	0,349	-43,964	0

IV - Teste da radiação UV na inativação de fagos e bactérias presentes na água de purga do reator rack by-pass.

Tabela IX – Resultados da significância para os grupos tratados no experimento de inativação de bactérias e fagos por radiação UV.

Organismo	Dose UV	Média Contagem	Média Controle (Dose 0)	p-valor (Observado)
BHT	13,4	0	3633,33	< 0.001
	32,1	0	3633,33	< 0.001
	64,7	0	3633,33	< 0.001
BTR1	13,4	0	1823,33	< 0.001
	32,1	0	1823,33	< 0.001
	64,7	0	1823,33	< 0.001
BTR4	13,4	0	166,67	< 0.001
	32,1	0	166,67	< 0.001
	64,7	0	166,67	< 0.001
PLA5	13,4	0	333,33	< 0.001
	32,1	0	333,33	< 0.001
	64,7	0	333,33	< 0.001
RLI17	13,4	0	33,33	< 0.001
	32,1	0	33,33	< 0.001
	64,7	0	33,33	< 0.001
112	13,4	0	22,23	< 0.001
	32,1	0	22,23	< 0.001
	64,7	0	22,23	< 0.001
94	13,4	0	1256,67	< 0.001
	32,1	0	1256,67	< 0.001
	64,7	0	1256,67	< 0.001
FAGO_TOTAL	13,4	0	3140666,67	< 0.001
	32,1	0	3140666,67	< 0.001
	64,7	0	3140666,67	< 0.001
LMA_UFMG112	13,4	0	353000,00	< 0.001
	32,1	0	353000,00	< 0.001
	64,7	0	353000,00	< 0.001
LMA_UFMG3_1	13,4	0	48666,67	< 0.001
	32,1	0	48666,67	< 0.001
	64,7	0	48666,67	< 0.001
LMA_UFMGB2	13,4	0	395666,67	< 0.001
	32,1	0	395666,67	< 0.001
	64,7	0	395666,67	< 0.001
LMA_UFMGFTR1	13,4	0	1029000,00	< 0.001
	32,1	0	1029000,00	< 0.001
	64,7	0	1029000,00	< 0.001