

Copyright 2010, ABRACO

Trabalho apresentado durante o INTERCORR 2010, em Fortaleza/CE no mês de maio de 2010.

As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

Avaliação da atividade do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre biofilmes formados em sistema dinâmico

Marcelino Gevilbergue Viana¹, Márcia Teresa Soares de Lutterbach², Cynthia Cavalcanti de Albuquerque³, Djalma Ribeiro da Silva⁴, Tereza Neuma de Castro Dantas⁵

Abstract

Biocorrosion is a process of dissolution of metal caused or influenced by microorganisms that favor the complete deterioration of materials. Several methods of prevention and control have been used to biocorrosion, but are the most widely used biocides. Currently, with the major environmental concern new effective methods of control are being researched. The species *Lippia gracilis* Schauer, rosemary known as the plateau is typical of the Northeast. The aim of this study was to evaluate the action of the essential oil of *L. gracilis* Schauer on biofilms formed on a dynamic system. A standard concentration of essential oil of 20 mL was drawn from the evaluation of minimum inhibitory concentration (MIC) in type test sensitivity. For the formation of biofilms coupons rectangular carbon steel ASTM 1020 were prepared and inserted into the dynamic system for seven days. The water used was derived from storage tanks of petroleum. The coupons were removed after seven days with full training of biofilms. Each coupon was placed in contact with 20 mL of essential oil for different periods: 0, 60, 90 and 120 minutes. The biocidal effect was determined by the microbial count of five types of groups of microorganisms: aerobic bacteria, bacteria precipitating iron, anaerobic bacteria, sulfate-reducing bacteria (BRS) and fungi. The data showed a reduction to zero of the most probable number (MPN) of bacteria precipitating iron and BRS from 115 to 113 minutes of contact, respectively. There was also inhibition of fungi, reducing to zero the rate of colony forming units (CFU) from 74 minutes of exposure. However, for aerobic and anaerobic bacteria were no significant differences for the exposure time with the essential oil, remaining constant. Considering the results the essential oil of *L. gracilis* Schauer has shown significantly effective action on biofilms.

Key-words: Biofilm, Biocorrosion, *Lippia gracilis*, Essential oil, Biocide.

¹Mestre-Estudante - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

²Dr - Instituto Nacional de Tecnologia.

³Dr-Professora - Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

⁴Dr-Professor - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

⁵Dr-Professora - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Resumo

A biocorrosão é um processo de dissolução metálica provocada ou influenciada por microrganismos que favorecem a completa deteriorização dos materiais. Vários métodos de prevenção e controle têm sido usados para a biocorrosão, mas o mais utilizado são os biocidas. Atualmente, com a grande preocupação ambiental novos métodos efetivos de controle estão sendo pesquisados. A espécie *Lippia gracilis* Schauer, conhecida como alecrim da chapada é típica da região Nordeste. O objetivo desse trabalho foi avaliar a ação do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer sobre biofilmes formados em sistema dinâmico. Uma concentração padrão do óleo essencial de 20 µL foi estabelecida a partir da avaliação da concentração mínima inibitória (CMI) em teste tipo antibiograma. Para a formação dos biofilmes cupons retangulares de aço carbono 1020 ASTM foram preparados e inseridos no sistema dinâmico por sete dias. A água utilizada foi originada de tanques de armazenamento de petróleo. Os cupons foram retirados após sete dias com plena formação dos biofilmes. Cada cupom foi colocado em contato com 20 µL do óleo essencial por diferentes períodos: 0, 60, 90 e 120 minutos. O efeito biocida foi determinado pela contagem microbiana de cinco tipos de grupo de microrganismos: bactérias aeróbicas, bactérias precipitadoras de ferro, bactérias anaeróbicas, bactérias redutoras de sulfato (BRS) e fungos. Os dados mostraram redução a zero do número mais provável (NMP) de bactérias precipitadoras de ferro e BRS a partir de 115 e 113 minutos de contato, respectivamente. Também houve inibição sobre fungos, reduzindo para zero a taxa de unidades formadoras de colônias (UFC) a partir de 74 minutos de exposição. Entretanto, para bactérias aeróbicas e anaeróbicas não houve diferença significativa para o tempo de exposição com o óleo essencial, permanecendo constante. Diante dos resultados o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer demonstrou possuir ação significativamente efetiva sobre biofilmes.

Palavras-chaves: Biofilme, Biocorrosão, *Lippia gracilis*, Óleo essencial, Biocida.

Introdução

Atualmente, o termo biofilme é definido como complexos ecossistemas microbiológicos, embebidos em uma matriz polimérica de aspecto gelatinoso, aderida a uma superfície sólida, quase sempre imersa em meio líquido. Os biofilmes, também definidos como “filmes microbianos”, são formados por água, microrganismos, substâncias poliméricas extracelulares (EPS), partículas retidas, substâncias dissolvidas e adsorvidas. Os biofilmes estão inteiramente envolvidos no processo de Corrosão Influenciada Microbiologicamente (CIM) que atinge vários setores da indústria petrolífera, como também das indústrias química, petroquímica, civil, naval, automobilística, alimentícia, de papel e aeronáutica, sendo responsável por grandes prejuízos de ordem econômica.

Este tipo de corrosão é provocado pela presença de microrganismos na superfície de metais e seus processos metabólicos, que modificam as condições eletroquímicas da interface metal solução, alterando em particular o valor do pH, a concentração de oxigênio dissolvido e a concentração de componentes orgânicos e inorgânicos. A existência de grandes prejuízos econômicos em diferentes setores industriais causados por esse tipo de corrosão leva à necessidade de se buscar métodos de controle efetivos. Compostos denominados de “biocidas”, substâncias químicas com atividade antimicrobiana, são amplamente utilizados nos diversos setores das indústrias, principalmente na indústria de petróleo. Considerando estes fatos, novos métodos de controle com baixo custo, ausência de riscos ao meio ambiente e com ação efetiva, estão sendo pesquisados para o interesse da indústria. Atualmente, o uso de produtos naturais obtidos a partir de plantas pode se tornar uma alternativa de controle potencialmente efetiva para esse tipo de corrosão, já que são considerados ambientalmente corretos.

Lippia gracilis Schauer, popularmente conhecida como alecrim da chapada, é uma espécie nativa do Nordeste brasileiro que apresenta elevados conteúdos de timol e carvacrol, e seu óleo apresenta atividade antibacteriana e antifúngica já comprovada (Albuquerque *et al.*, 2006).

Os óleos essenciais com atividade antimicrobiana são inofensivos às pessoas e ao ambiente e são considerados de baixo risco para o desenvolvimento de resistência a microrganismos patogênicos. Uma vantagem adicional dos voláteis naturais é ausência de resíduos após o

tratamento, e também a sua característica lipofílica que interage com a membrana microbiana, facilitando a inibição dos microrganismos.

Assim, na perspectiva de alcançar novos métodos de controle que possuam baixo valor econômico, ausência de restrições ambientais e uma ampla ação efetiva sobre o processo de biocorrosão, que o presente trabalho se desenvolveu, objetivando avaliar a ação do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre biofilmes formados em sistema dinâmico.

Referencial Teórico

Os danos econômicos gerados pela biocorrosão atingem vários setores industriais. Na indústria de petróleo dos 50% de danos associados à corrosão 20% desses são devido a este processo, representando milhões em gastos e investimento. Vários métodos de prevenção e controle têm sido usados para a biocorrosão, mas o mais utilizado e que vem sendo sempre pesquisado são as substâncias químicas denominadas de biocidas, que apresentam risco ambiental. De acordo com Videla (2003) este risco ambiental está associado com o controle da biocorrosão quando as concentrações usadas de biocida ultrapassam os limites aceitáveis que afetam a preservação do hábitat e das espécies. O outro ponto negativo para o ambiente é natureza das características tóxicas do material de tratamento descartável que pode afetar a camada de ozônio e influenciar o efeito estufa.

Atualmente com a grande preocupação ambiental e com as pertinentes resistências dos microrganismos à ação dos biocidas aplicados na indústria de petróleo, novos métodos efetivos de controle e biodegradáveis estão sendo e devem ser pesquisados. O uso de compostos naturais extraídos de plantas no controle de microrganismos não é um fato recente, contudo poucos estudos na literatura tem sido realizados com propósito de usá-los para o controle específico de biofilme e consequente redução da biocorrosão.

Um dos primeiros estudos realizado para controle de biofilme foi feito por Elmina e colaboradores em 1983, onde avaliaram a atividade do extrato aquoso de *Allium sativum* e *Allium cepa* sob fungos e bactérias Gram-positivas e negativas. Neste estudo a atividade do extrato de *A. sativum* foi mais eficiente, reduzindo a quantidade de microrganismos

avaliados em oposição ao extrato de *A. cepa* que apenas reduziu o número de fungos, tendo a sua atividade influenciada pelo tempo de incubação e temperatura.

Em 2002, Bhosale, Nagle e Jagtap pesquisaram na Índia o potencial *antifouling* de extratos puros de alguns organismos marinhos sobre espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas*. Extratos de dez espécies de algas marinhas e nove espécies de animais foram avaliados. Quatro espécies de algas marinhas apresentaram ações variando de moderada a forte sobre *Bacillus pumilus* e *Pseudomonas vesicularis*, favorecendo a redução de *fouling* provocado por estes microrganismos.

Videla e outros pesquisadores em 2004 avaliaram novamente o efeito do extrato aquoso de *Allium cepa* em laboratório sob a espécie de bactéria aeróbica *Pseudomonas fluorescens* na forma planctônicas e séssei em aço inoxidável AISI 304. Foram testados diferentes concentrações do extrato em oito tempos de contato sob quatro diferentes concentrações da bactéria. Similarmente ao trabalho desenvolvido por Elmina *et al.* (1983) o extrato de *A. cepa* não demonstrou nenhuma ação biocida significativa.

No mesmo ano Lowe juntamente com outros pesquisadores avaliaram três tipos de extratos de espécies de pimenta com o objetivo de desenvolver um biocida considerado por eles “ambientalmente correto” na prevenção e controle da corrosão microbiologicamente influenciada (CMI). Em oposição aos resultados encontrados por Videla os extratos desse estudo favoreceram a redução do número de bactérias acidófilas, redutoras de ferro, metanogênicas e, principalmente, influenciou o crescimento e metabolismo das bactérias redutoras de sulfato (BRS), principais responsáveis pela biocorrosão. A análise foi feita levando-se em conta a metodologia do número mais provável (NMP) e a de unidades formadoras de colônia (UFC) pelo método *pour plate*.

Em 2005 Guiamet e Gómez de Saravia fizeram uma pequena revisão bibliográfica sobre o uso de produtos naturais como biocidas no controle da biocorrosão. Nesta revisão os autores destacaram o trabalho realizado em 1998 por Gómez de Saravia e Gaylarde que, utilizando também a metodologia *pour plate*, avaliaram o efeito do extrato aquoso de *Brassicca negra* sob microrganismos planctônicos e séseis do gênero *Pseudomonas sp.*, *Aspergillus fumigatus* e mistura de bactérias redutoras de sulfato (BRS), todos isolados a partir de óleo

diesel contaminado. Os resultados demonstraram que o extrato reduziu o número de todos os microrganismos avaliados a partir de diferentes tempos de contato e concentrações, revelando-se um promissor biocida industrial.

No ano seguinte Guimat *et al.* (2006) seguindo a linha de biodeteriorização em ambiente terrestre demonstrou que a atividade biocida de extratos de vegetais varia com o tipo de solvente utilizado para a extração, apesar da planta ser a mesma para cada solvente. Extratos aquoso, acetônico e etanólicos de *Cichorium intybus* L., *Arctium lappa* L., *Centaurea cyanus* L., *Allium sativum* L., *Pinus caribea*, *Eucalyptus citriodora* e *Piper auritum* agiram de diferentes formas sobre alguns tipos de microrganismos associados ao processo de biodeteriorização isolados da superfície de papéis, mapas e fotografias, além do ar. Nenhum extrato aquoso mostrou atividade satisfatória, apenas os orgânicos de *C. cyanus*, *Cichorium intybus* e *A. lappa* apresentaram ação moderada.

Recentemente Tebaldi (2008) avaliou o ação biocida de óleos essenciais de *Thymus vulgaris*, *Syzygium aromaticum*, *Salvia officinalis* e *Rosmarinus officinalis* sobre *Pseudomonas fluorescens* e biofilme formado por *Pseudomonas aeruginosa* em aço inoxidável AISI 304. Os melhores resultados foram obtidos para o extrato de *T. vulgaris* e em menor escala para o de *S. aromaticum* sobre *P. Aeruginosa*. Já os extratos de *S. officinalis* e *R. officinalis* não demonstraram nenhum tipo de atividade antimicrobiana.

Diante da grande preocupação ambiental e das exigências desencadeadas pela mesma para o campo industrial, há a necessidade do desenvolvimento de biocidas potencialmente efetivos e sem produção de resíduos. O uso de produtos naturais pode ser alternativamente vantajoso como biocidas analisando os resultados desses trabalhos, já que revelam bons resultados na sua maioria. Há uma necessidade de incentivo e investimentos pela a indústria de novas pesquisas nessa área para se ter um bom respaldo. Com isso, os produtos naturais potencializam uma ótima alternativa.

Resultados e Discussão

Ensaio Microbiológicos

O óleo essencial de *L. gracilis* Schauer mostrou atividade diante do controle. Na avaliação *in vitro*, foram observados diferentes comportamentos ($p < 0,05$) entre os microrganismos em relação ao tempo de contato do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer. Conforme análise de variância dos valores de quantificação dos cinco microrganismos em relação a quatro diferentes tempos de contato (0, 60, 90 e 120 minutos), o coeficiente de variação (CV) foi de 26,65. Houve diferença significativa entre o tempo de contato de *L. gracilis* Schauer, o tipo de microrganismo e interação entre esses fatores ($p < 0,05$).

Observou-se que o número mais provável (NMP) de bactérias aeróbicas e de bactérias anaeróbicas não foi influenciado pelo tempo de contato com o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer, não diferindo estatisticamente entre os tratamentos, com uma média geral de $5,081 \times 10^4$ e $4,6 \times 10^4$ células/mL/cm², respectivamente. Resultados similares foram encontrados por Videla e colaboradores em 2004 ao avaliar o efeito do extrato de *Allium cepa* em diferentes concentrações em oito tempos de contato (de 5 minutos a 24 horas) sobre bactérias aeróbicas em biofilme, não obtendo nenhuma ação biocida. Os autores não levaram em consideração nenhuma explicação viável.

O possível fator chave de influência sob a ação do óleo de *L. gracilis* para essas bactérias avaliadas tenha sido a concentração utilizada, já que na forma de biofilme as bactérias tornam-se muito mais resistentes à ação de qualquer tipo de biocida (Macêdo, 2000). Provavelmente, concentrações maiores que 20 µL apresentem melhores resultados, sendo necessário novos ensaios para afirmar a atividade efetiva desse óleo essencial.

Contudo, pelo desdobramento, houve um decréscimo de unidades formadoras de colônia para os fungos em relação ao tempo de contato do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer, obedecendo a um comportamento polinomial, sendo controlado totalmente com o tempo de contato de 74 minutos (Figura 1). Produtos naturais avaliados em outros trabalhos mostraram-se também efetivos sobre fungos presentes em biofilmes. Gómez de Saravia e Gaylarde (1998), por exemplo, avaliando o efeito do extrato de *Brassica nigra* em biofilme obtiveram 87% de inibição sobre *Aspergillus fumigatus*. Extratos aquoso de *Allium sativum* e *A. cepa* também inibiram completamente o crescimento de fungos (Elmina *et al.*, 1983).

A ação antifúngica do óleo de *L. gracilis* Schauer deve-se a presença do timol e carvacrol, que já apresentaram ação comprovada contra outros tipos de fungos (Dorman e Deans, 2000). Nesse ensaio, óleo de *L. gracilis* Schauer mostrou-se um biocida potencialmente

antifúngico, com 100% de inibição, comprovando mais uma vez seu caráter fungicida, como citado por Pascual *et al.* (2001) e Albuquerque *et al.* (2006).

Em relação as bactérias redutoras de sulfato (BRS), o modelo polinomial foi o que melhor se enquadrrou para descrever o seu comportamento diante do crescente tempo de contato com o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer (Figura 2). O menor tempo de exposição que controlou totalmente o número mais provável de BRS foi de 115 minutos.

Pesquisas utilizando produtos naturais no controle de bactérias redutoras de sulfato têm crescido nos últimos tempos, já que esses microrganismos são o foco da biocorrosão. Na literatura, há vários trabalhos avaliando extratos naturais no controle de BRS. Kibane II & Bogan, em 2004, avaliaram o efeito de diferentes extratos de pimenta, obtendo uma pequena redução no número de BRS. Já Gómez de Saravia e Gaylarde (1998) reduziram a taxa de BRS em 58% com o uso do extrato de *B. nigra*.

Por outro lado, trabalhos utilizando óleos essenciais no controle de BRS atualmente são escassos, apesar de se ter trabalhos com avaliação desses produtos em outros tipos de bactérias e fungos associados à corrosão (Singh *et al.*, 2006; Bakkali *et al.*, 2008) Entretanto, o controle de BRS em associação é muito mais difícil, sendo necessário substâncias potencialmente capazes de interagir com o EPS do biofilme (Lowe *et al.*, 2004). O óleo essencial de *L. gracilis* Schauer mostrou-se capaz de controlar a taxa de BRS a zero em uma concentração muito baixa em um curto tempo de contato (115 minutos).

Já o número de bactérias oxidantes de ferro também foi influenciada pelo tempo de contato com o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer, obedecendo um comportamento de decréscimo linear (Figura 3). Houve um controle do número mais provável de tal microrganismo aos 113 minutos de exposição ao óleo essencial de *L. gracilis* Schauer. Os tempos de exposição que mais influenciaram os microrganismos foram entre 90 e 120 minutos e os microrganismos mais influenciados pela exposição ao óleo essencial de *L. gracilis* Schauer, em ordem crescente de ação, foram as BRS, as bactérias oxidantes de ferro e os fungos.

A ação antimicrobiana do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer é bastante discutida na literatura e é principalmente atribuída aos seus princípios ativos: timol e carvacrol, dois diterpenos majoritários na sua composição. O mecanismo de ação dessas substâncias baseia-se no seu caráter lipofílico que interage facilmente com a membrana celular, provocando distorção na sua estrutura física, causando expansão e, conseqüentemente, desestabilidade na membrana, modificando a sua permeabilidade, desnaturando proteínas essenciais e enzimas

ligadas a respiração celular, além de alterar a força próton motora por meio de variações no pH e no potencial elétrico (Burt, 2004; Cavalcanti, 2006).

Já para as bactérias que não foram influenciadas pela ação do óleo essencial, há fatores que podem interferir nessa ação. Segundo Russell (2003) há mecanismos que reduzem a suscetibilidade dos microrganismos à ação do biocida, como: reduzido acesso das moléculas de biocidas às células bacterianas, interações químicas entre biofilme e biocida, modulação do microambiente, produção de enzimas degradativas que podem ser eficazes em baixas concentrações do biocida utilizado, trocas genéticas entre as células, *quorum sensing*, presença de microrganismos persistentes e sobreviventes em bolsas, mutação e adaptação dentro do biofilme, além da própria característica morfológica da célula bacteriana.

Sugerimos aqui novos ensaios com maiores concentrações e novos tempos de contato, já que existem microrganismos que podem ser mais resistentes ou mais sensíveis para certa concentração de biocida empregada em determinado tempo de contato sobre biofilme.

Conclusão

a concentração avaliada, o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer apresentou forte ação antimicrobiana diante das bactérias oxidantes de ferro, fungos e bactérias redutoras de sulfato presentes em biofilmes formados em sistema dinâmico. Entretanto, não houve atividade diferenciada estatisticamente sobre as bactérias aeróbicas e anaeróbicas.

Diante dos bons resultados aqui demonstrados pela ação sobre biofilmes, o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer mostra-se como um biocida natural potencialmente promissor para as exigências do mercado industrial devido a sua ação efetiva. Com isso, sugerimos a realização de novos ensaios com o óleo essencial com o intuito de avaliar novas concentrações, outros tempos de contato, bem como sua aplicação direta em sistema dinâmico.

Referências Bibliográficas

- ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; JÚNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian archives of biology and technology**. v.49, p.527-535, 2006.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.
- BHOSALE, S. H.; NAGLE, V. L.; JAGTAP, T. G. Antifouling potential of some marine organisms from India against species of *Bacillus* and *Pseudomonas*. **Marine Biotechnology**, v.4, p.111-118, 2002.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods – a review. **International Journal Food Microbiology**, v.94, p.223-253, 2004.
- CAVALCANTI, V. O. *Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Lippia gracilis Schauer*. 2006. 61f. Dissertação (Mestrado). Centro da Ciência e da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Recife – PE.
- DORMAN, H. J.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. **Journal Applied Microbiology**, v.88, p.308-316, 2000.
- ELMINA, E. I.; AHMED, S. A.; MEKKAWI, A. G.; MOSSA, J. S. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. **Pharmazie**, v.38, p.747-748, 1983.
- GÓMEZ DE SARAIVA, S. G.; GAYLARD, S. Laboratory studies of biocorrosion control using traditional and environmentally friendly biocides: an overview. **Latin American Applied Research**, v.35, p.295-300, 1998.
- GUIAMET, P. S.; SARAIVA, G. G. Laboratory studies of biocorrosion control using traditional and environmentally friendly biocides: an overview. **Latin American Applied Research**. v.35, p.295-300, 2005.
- GUIAMET, P. S.; SARAIVA, G. G.; ARENAS, P.; PÉREZ, M. L.; DE LA PAZ, J.; BORREGO, S. F. Natural products isolated from plants used in biodeterioration control. **Pharmacologyonline**. v.3, p.537-544, 2006.
- KIBANE II, J. J.; BOGAN, W. Environmentally benign mitigation of microbiologically influenced corrosion (MIC). **Ninth Quarter Report, Gas Technology**, p.1-17, 2004.
- LOWE, K. L.; BOGAN, B. W.; SULLIVAN, W. R.; CRUZ, K. M. H.; LAMB, B. M.; KILBANE II, J. J. Development of an environmentally benign microbial inhibitor to control internal pipeline corrosion. **Eleventh Quarter Report**. April-July, 2004.

- MACÊDO, Jorge Antonio Barros. Biofilmes bacterianos, uma preocupação da indústria de farmacêutica. **Revista Fármacos & Medicamentos**, v.2, n.7, p. 19-24, Nov/Dez. 2000.
- PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ MATA, D.; VILLAR, A. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p.201-214, 2001.
- RUSSELL, A. D. Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.52, n.5, p.750-763, 2003.
- SARAVIA, S. G. G.; GAYLARDE, C. C. The antimicrobial activity of an aqueous extract of *Brassica negra*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.41, p.145-148, 1998.
- SINGH, R.; PAUL, D.; JAIN, R. K. Biofilms: implications in bioremediation. **Trends in Microbiology**, v.14, n.9, p.389-397, 2006.
- TEBALDI, V. M. R. *Análise e potencial de uso de óleos essenciais no controle de Pseudomonas sp. e na formação de biofilmes por Pseudomonas aeruginosa*. 2008. 94f. Tese (Doutorado). Departamento de Microbiologia de Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.
- VIDELA, H. A. **Biocorrosão, biofouling e biodegradação de materiais**. São Paulo: Editora Edgard Blucher LTDA, 2003. 148 p.
- VIDELA, H. A.; GUIAMET, P. S.; GÓMES DE SARAVIA, S. G.; GAYLARDE, C. C. Environmentally friendly approaches to inhibit biocorrosion. **Corrosion**, 2004.

Figuras:

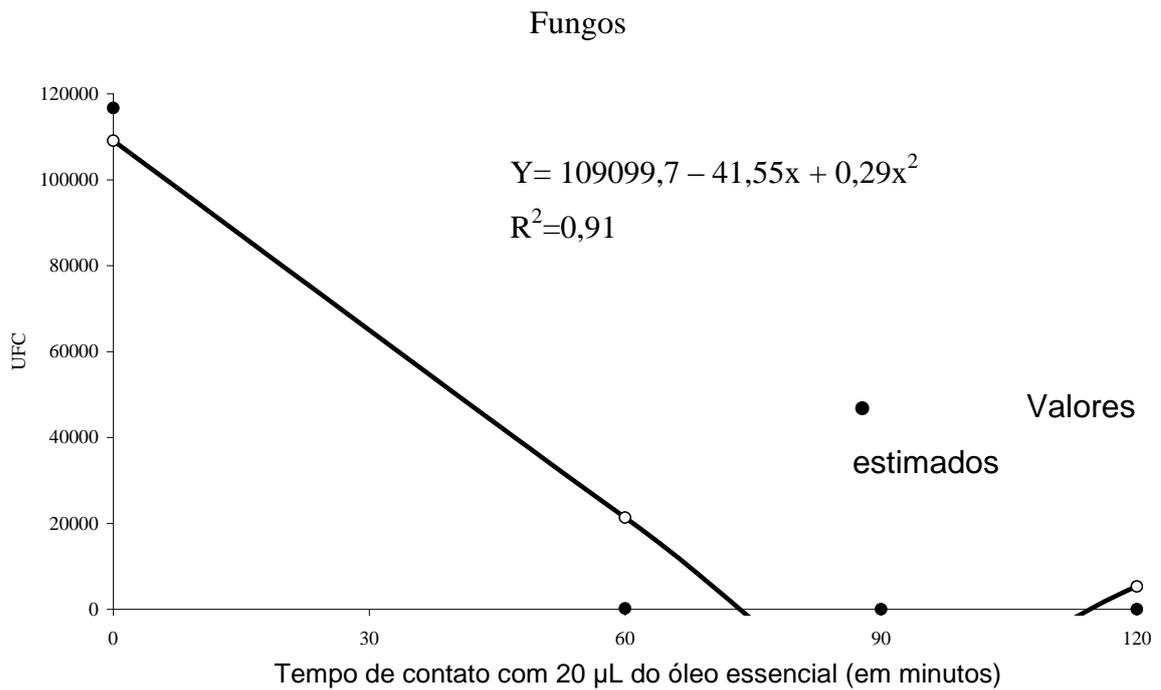


Figura 1: Unidade formadora de colônias (UFC) de fungos retirados de biofilmes submetidos a crescentes tempos de contato, com 20 µL do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer.

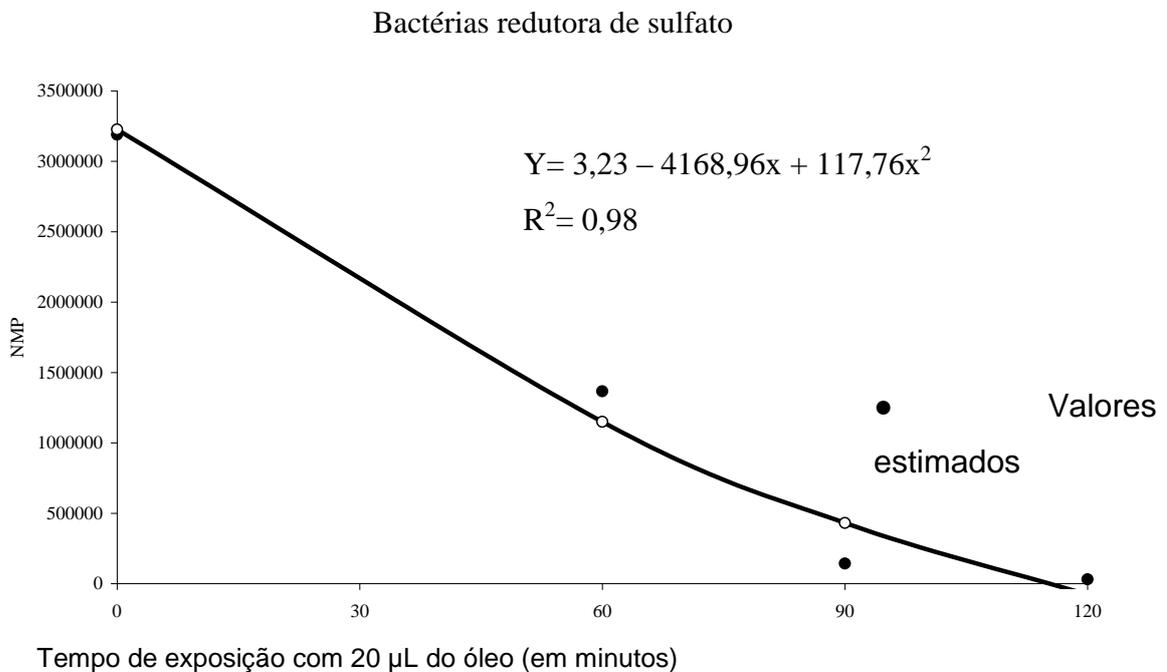


Figura 2: Número mais provável (NMP) de bactérias redutoras de sulfato (BRS) retiradas de biofilmes submetidos à crescente tempos de contato com 20 µL do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer.

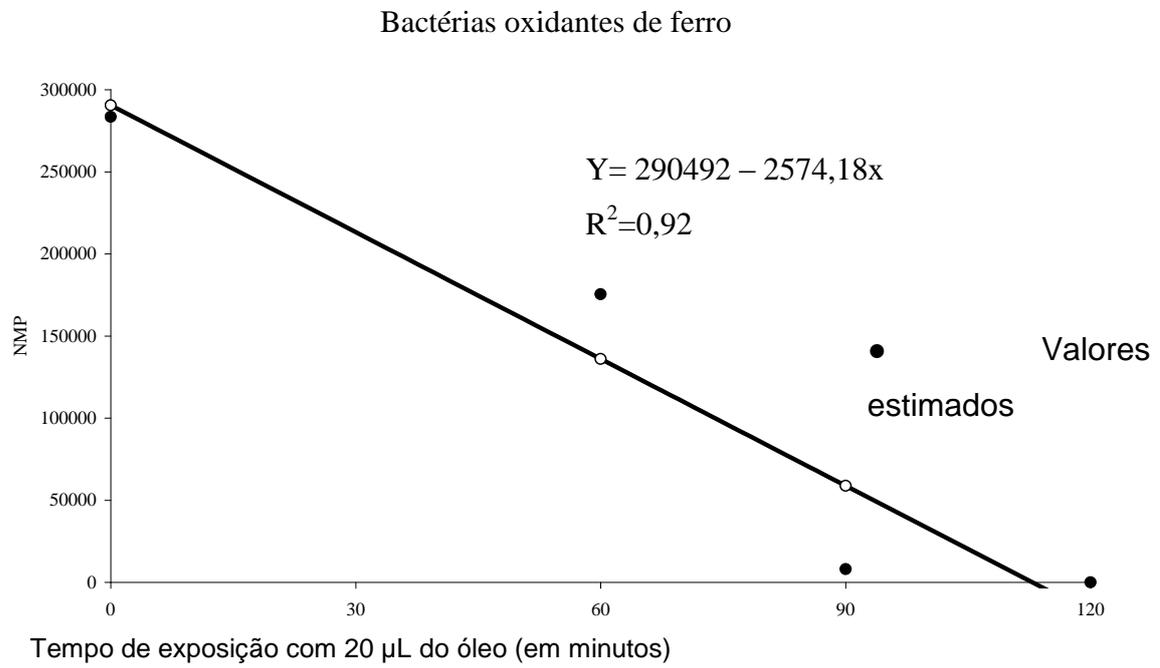


Figura 3: Número mais provável (NMP) de bactérias oxidantes de ferro retiradas de biofilmes submetidos à crescente tempos de contato com óleo essencial