UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
ESCOLA DE QUÍMICA
RODRIGO DE SIQUEIRA MELO

Ação Anti-incrustante e Anticorrosiva de Tintas a base de Óxido de Nióbio e Óxido de Cobre na Presença de Exopolissacarídeos

Rio de Janeiro
2014

RODRIGO DE SIQUEIRA MELO

Ação Anti-incrustante e Anticorrosiva de Tintas a base de Óxido de Nióbio e Óxido de Cobre na Presença de Exopolissacarídeos

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Dr.ª Simone Louise Delarue Cezar Brasil
Co-orientador: Dr. Ladimir José de Carvalho
Dr. Aricelso Maia Limaverde Filho

Rio de Janeiro
2014

Melo, Rodrigo de Siqueira.

Ação Anti-incrustante e Anticorrosiva de Tintas a base de Óxido de Nióbio e Óxido de Cobre na Presença de Exopolissacarídeos / Rodrigo de Siqueira Melo – 2014.

xxiii, 187 p.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, 2014.

Orientador: Simone Louise Delarue Cezar Brasil, Ladimir José de Carvalho e Aricelso Maia Limaverde Filho.

1. Exopolissacarídeos. 2. Anti-incrustante. 3. Revestimentos. 4. Proteção Catódica. I. Brasil, Simone Louise Delarue Cezar (Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química. III. Título.

RODRIGO DE SIQUEIRA MELO

Ação Anti-incrustante e Anticorrosiva de Tintas a base de Óxido de Nióbio e Óxido de Cobre na Presença de Exopolissacarídeos

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em: _____ / _____ / _____.

_____

Simone Louise Delarue Cezar Brasil, D.Sc.
(Orientadora e presidente da banca – Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Ladimir José de Carvalho, D.Sc.
(Orientador – Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Aricelso Maia Limaverde Filho, D.Sc
(Orientador – Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ)

_____

Leila Yone Reznik, D.Sc.
(Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Claudinei de Souza Guimarães, D. Sc. – EQ / UFRJ
(Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Luiz Roberto M. Miranda, D. Sc.
(Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE/UFRJ)

_____

Walter Barreiro Cravo Júnior, D. Sc.
(Instituto Nacional de Tecnologia, INT/MCTI)

_____

Ivan Napoleão Bastos, D. Sc.
(Universidade do Estado do Rio de Janeiro, IPRJ)

Dedico esta tese a minha esposa Odara Ramôa B. Melo. Sua personalidade simboliza a solidariedade, carinho, cooperação e amor que recebo todos os dias e que me permitiu chegar hoje aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a minha orientadora Prof^{a}. Dr^{a}. Simone Louise Delarue C. Brasil, pela dedicação, apoio e incentivo à realização desta pesquisa científica e sobretudo por ter acreditado em mim, por seus ensinamentos, lições, orientação e amizade nos momentos mais difíceis. Agradeço principalmente pela sua competência em conduzir a minha orientação.

Agradeço aos meus co-orientadores Prof. Dr. Ladimir J. de Carvalho pela amizade e sua conduta científica oferecendo toda sua experiência a qualquer hora e lugar e, ao Dr. Aricelso Maia Limaverde Filho, pelos ensinamentos científicos e sugestões e amizade.

Ao Prof. Dr. Cid Pereira pela disponibilidade, compreensão em “emprestar a bancada” e, acima de tudo amizade.

A Prof^{a}. Dr^{a}. Leila Yone Reznik pela amizade, conversas sobre impedância e apoio na realização dos ensaios.

A minha esposa Odara e meus filhos Cauã e Luiza por serem os motores físicos e emocionais de minha vida pessoal e acadêmica. Não faria nada sem vocês!

Aos meus pais Luiz Carlos e Beth, que sempre estiveram ao meu lado em todas as minhas decisões, nos tempos difíceis e nos tempos bons.

As minhas irmãs Tatiana e Gabriela que sempre me apoiaram e se preocuparam comigo.

Ao meu sogro Orlando e minha sogra Martha que me acompanharam nesta empreitada e me ajudaram a seguir em frente.

A Profa. Maria Helena do IEAPM, por ter proporcionado o início e estímulo à continuidade da minha vida científica desde o início da graduação até hoje.

Aos professores da Escola de Química da UFRJ pelas aulas ministradas e os ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos Ana Cristina e Warlley Ligório pela compreensão, apoio e paciência para eu pudesse concluir esta etapa da minha vida.

A CAPES pelo auxílio financeiro concedido para realização desta pesquisa.

A todos que por ventura esqueci de mencionar, mas me ajudaram nessa caminhada.

RESUMO

MELO, Rodrigo de Siqueira. **Ação Anti-incrustante de Exopolissacarídeos em Tintas Pigmentadas com Óxido de Nióbio e Óxido de Cobre para uso em Estruturas com Proteção Catódica**. Rio de Janeiro, 2014. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PALAVRAS-CHAVE: revestimentos orgânicos, biofilme, antifouling, pós-sal e pré-sal.

Os exopolissacarídeos (EPS) são uma classe de polímeros naturais renováveis, que apresentam propriedades anti-incrustantes. Desta forma, estes podem ser utilizados como uma alternativa para os aditivos convencionais atualmente utilizados em tintas anticorrosivas. O óxido de cobre é o aditivo geralmente utilizado devido às suas propriedades anticorrosivas e anti-incrustantes. No entanto, este óxido apresenta toxicidade para alguns organismos marinhos e pode provocar problemas ambientais. A incorporação de EPS em tintas à base de óxido de cobre pode provocar redução do seu conteúdo, uma vez que ambos apresentam características anti-incrustantes. Outra possibilidade é incorporar os polímeros a uma tinta que apresenta características anticorrosivas , tais como tintas à base de óxido de nióbio. Este trabalho apresenta os passos de obtenção de EPS, extraídas da cianobactéria *Phormidium sp*, e a sua incorporação na composição de tintas à base dos óxidos de cobre e de nióbio. O principal objetivo desta pesquisa é propor o desenvolvimento da propriedade anti-incrustante a revestimentos anticorrosivos.

ABSTRACT

MELO, Rodrigo de Siqueira. **Ação Anti-incrustante de Exopolissacarídeos em Tintas Pigmentadas com Óxido de Nióbio e Óxido de Cobre para uso em Estruturas com Proteção Catódica**. Rio de Janeiro, 2014. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

KEYWORDS: organic coating, biofilm, antifouling, post-salt e pre-salt.

The exopolysaccharides (EPS) are a class of renewable natural polymers, which present anti-fouling property. Therefore, it may be used as an alternative to conventional additives currently used in anti-corrosive paints. The copper oxide is an additive commonly used due to its anticorrosive and anti-fouling properties. However, this metal oxide presents toxicity to some marine organisms and it can promote environmental problems. The incorporation of EPS in paints based on copper oxide can reduce their contents, since both present anti-fouling characteristics. Another possibility is to incorporate this polymer to a paint that shows anti-corrosive characteristics, such as niobium oxide based paint. This work presents the steps for obtaining the EPS, extracted from cyanobacterium *Phormidium sp*., and its incorporation to the composition of paints based on copper and niobium oxides. The main objective of this research is to produce an alternative paint to the anticorrosive and anti-fouling coatings used nowadays

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Formação de regiões anódicas e catódicas por presença de falha em revestimento metálico (Curioni *et al*. 2011)..... **07**

Figura 02. Modelo de corrosão proposto por Melchers & Wells (2006)..... **09**

Figura 03. Modelo de formação do biofilme bacteriano proposto por Shan et al. (2011) modificado..... **10**

Figura 04. Fatores que afetam a durabilidade de um sistema de revestimento anticorrosivo, proposto por Sorensen *et al*., (2009)..... **17**

Figura 05. Diagrama esquemático simplificado, resumindo a vias biosintéticas envolvidas na síntese de EPS bacteriano por bactérias gram-negativas..... **28**

Figura 06. Modelo proposto por Wang et al. (2012) da estrutura e propriedades superficiais do EPS em diferentes pH's..... **29**

Figura 07. Arranjo experimental para realização de ensaios de EIE..... **31**

Figura 08. Confecção dos corpos de prova. (A) Fixação dos fios de cobre no aço carbono antes da imersão em resina; (B) Corpos de prova após imersão da resina isolante..... **40**

Figura 09. Sistema de proteção catódica galvânica, onde (A) é o anodo de alumínio, (CP) o corpo de prova e (ER) eletrodo de referência..... **43**

Figura 10. Ensaio laboratorial para avaliação da formação do biofilme marinho com e sem aplicação de proteção catódica..... **43**

Figura 11. Instrumental empregado na realização dos ensaios de EIE, com célula de três eletrodos em gaiola da Faraday, acoplados ao potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT30..... **45**

Figura 12. Representação esquemática proposto por Ikuma *et al*. (2013), onde da esquerda para a direita é apresentada a localização dos *algal mats* no meio ambiente, localização da camada de bactérias e cianobactérias nos *algal mats*, aspecto do consórcio bacteriano na camada de interesse e fotomicrografia do EPS..... **47**

Figura 13. Aspecto macroscópico do cultivo unialgal e axênico de Phormidium sp..... **48**

Figura 14. Aspecto do EPS produzido pela cianobactéria *Phormidium sp*. em cultura..... **49**

Figura 15. Espectro de FTIR do EPS após deslipidificação e extração alcalina..... **50**

Figura 16. Reação metacromática indicando à presença de EPS aniônico visto a mudança da coloração de azul (esquerda) para violeta (direita) na presença do EPS..... **51**

Figura 17. Espectro do EPS de Bacillus *megaterium* após purificação (Wang *et al*., 2012)..... **51**

Figura 18. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **55**

Figura 19. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **56**

Figura 20. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Cu_2O: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética..... **57**

Figura 21. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 0 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **59**

Figura 22. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **61**

Figura 23. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Cu_2O e incorporados com EPS: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética..... **62**

Figura 24. Esquema de estratificação geral das películas formadas pelos produtos de corrosão derivados do cobre em água do mar (Kear *et al*., 2004).....**63**

Figura 25. Diagrama E – pH do cobre em água do mar com salinidade de 35 a 25 °C (assumindo atividade química de 10^{-4} dos íons cúpricos e cuprosos em solução) Bianchi & Longhi (1973)..... **63**

Figura 26. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **65**

Figura 27. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **66**

Figura 28. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal..... **67**

Figura 29. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **68**

Figura 30. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **69**

Figura 31. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal..... **71**

Figura 32. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **72**

Figura 33. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **73**

Figura 34. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal..... **74**

Figura 35. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **75**

Figura 36. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **76**

Figura 37. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal..... **77**

Figura 38. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **79**

Figura 39. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **80**

Figura 40. Aspecto visual dos corpos de prova após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de: (A) 10 mV e (B) 350 mV..... **82**

Figura 41. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **84**

Figura 42. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **85**

Figura 43. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O e EPS após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **86**

Figura 44. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **87**

Figura 45. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **88**

Figura 46. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **90**

Figura 47. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV... **91**

Figura 48. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV... **92**

Figura 49. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **93**

Figura 50. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **94**

Figura 51. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV... **95**

Figura 52. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **97**

Figura 53. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.... **98**

Figura 54. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... ..**99**

Figura 55. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **100**

Figura 56. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **102**

Figura 57. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.....**103**

Figura 58. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Nb_2O_5: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV..... **104**

Figura 59. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **106**

Figura 60. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **107**

Figura 61. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Nb_2O_5 incorporado com EPS: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV..... **108**

Figura 62. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **109**

Figura 63. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.. **110**

Figura 64. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV..... **111**

Figura 65. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV... **113**

Figura 66. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **114**

Figura 67. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV..... **115**

Figura 68. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **116**

Figura 69. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV... **117**

Figura 70. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV..... **118**

Figura 71. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.... **119**

Figura 72. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV..... **120**

Figura 73. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV..... **121**

Figura 74. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética , t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **123**

Figura 75. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **124**

Figura 76. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **125**

Figura 77. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imerso em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **127**

Figura 78. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imerso em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **128**

Figura 79. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **129**

Figura 80. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imerso em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **130**

Figura 81. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imerso em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **131**

Figura 82. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **132**

Figura 83. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **133**

Figura 84. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **134**

Figura 85. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **136**

Figura 86. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imersa em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **137**

Figura 87. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imersa em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **138**

Figura 88. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **139**

Figura 89. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **140**

Figura 90. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV..... **141**

Figura 91. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV..... **142**

Figura 92. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas sem exposição (t = 0 dia) contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS..... **145**

Figura 93. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas sem exposição (t = 0 dia) contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS..... **146**

Figura 94. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética..... **148**

Figura 95. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética..... **149**

Figura 96. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal..... **150**

Figura 97. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal..... **151**

Figura 98. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal..... **152**

Figura 99. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal..... **153**

Figura 100. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética..... **155**

Figura 101. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética..... **156**

Figura 102. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal..... **158**

Figura 103. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal..... **159**

Figura 104. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal..... **160**

Figura 105. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal..... **162**

Figura 106. Microscopia Eletrônica de Varredura dos revestimentos: (A) óxido de cobre e (B) óxido de nióbio antes dos ensaios de imersão em água do mar..... **164**

Figura 107. Microscopia Eletrônica de Varredura dos revestimentos incorporados com EPS: (A) óxido de cobre e (B) óxido de nióbio antes dos ensaios de imersão em água do mar..... **165**

Figura 108. Microscopia Eletrônica de Varredura do revestimento de Cu_2O após 7 dias de imersão em água do mar: (A) sem proteção e EPS; (B) com proteção catódica e sem EPS; (C) sem proteção catódica e com EPS; (D) com proteção catódica e EPS..... **167**

Figura 109. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de cobre na (A) ausência e (B) presença da proteção catódica..... **168**

Figura 110. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de cobre com EPS na (A) ausência e (B) presença da proteção catódica..... **169**

Figura 111. Microscopia Eletrônica de Varredura do revestimento de Nb_2O_5 após 7 dias de imersão em água do mar: (A) sem proteção e EPS; (B) sem proteção catódica e com EPS; (C) sem proteção catódica e com EPS; (D) com proteção catódica e EPS..... **170**

Figura 112. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de nióbio sem proteção catódica na (A) ausência e (B) presença de EPS..... **171**

Figura 113. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de nióbio com proteção catódica na (A) ausência e (B) presença de EPS..... **171**

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Número de espécies incrustantes em meio marinho submerso..... **12**

Tabela 02. Composição do meio de cultura BG-11..... **35**

Tabela 03. Constituição da água do mar sintética..... **41**

Tabela 04. Constituição dos fluidos de processo do Pós-sal e do Pré-sal..... **41**

Tabela 05. Descrição dos sistemas analisados..... **44**

Tabela 06. Atribuição dos Picos para o FTIR das Amostras antes do ensaio de imersão..... **144**

Tabela 07. Potenciais eletroquímicos dos diferentes sistemas proposta antes e após 7 dias de imersão em água do mar in natura..... **163**

SUMÁRIO

Capítulo I. Introdução e Objetivos

I.1 Introdução..... 02

I.2 Objetivos..... 04

Capítulo II – Revisão Bibliográfica

II.1 Corrosão..... 06

II.2 Formação do Biofilme Bacteriano..... 09

II.3 *Biofouling* Marinho..... 11

II.4 Técnicas Empregadas para Prevenção da Corrosão e Incrustação Biológica no Ambiente Marinho..... 14

II.4.1 Proteção Catódica..... 14

II.4.2 Revestimentos 16

II.5 Exopolissacarídeos de Cianobactérias como Biocida Auxiliar em Revestimentos Anticorrosivos..... 20

II.6 Análise de Revestimentos pela Técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica..... 30

Capítulo III – Metodologia

III.1 Produção do Biopolímero

III.1.1 Coleta dos Algal Mats..... 35

III.1.2 Elaboração do Meio de Cultura BG-11..... 35

III.1.3 Condições de Cultivo..... 36

III.1.4 Obtenção de Cultura Axênica..... 36

III.2 Análise dos Exopolissacarídeos

III.2.1 Deslipidificação e Despigmentação..... 37

III.2.2 Extração Alcalina dos Exopolissacarídeos..... 37

III.2.3. Purificação do Exopolissacarídeos..... 37

III.2.4 Quantificação das Amostras..... 38

III.2.5 Avaliação dos Grupos Funcionais por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)..... 38

III.3 Incorporação do EPS nas Tintas e Produção dos Corpos de Prova

III.3.1 Incorporação do EPS nas Tintas a Base de Óxido de Cobre (Cu_2O) e Óxido de Nióbio (Nb_2O_5)..... 39

III.3.2 Elaboração dos Corpos de Prova..... 40

III.4 Meios Corrosivos..... 41

III.5. Avaliação da Formação do Biofilme através da Microscopia Eletrônica de Varredura: com e sem aplicação da proteção catódica..... 43

III.6 Análise dos Revestimentos por Espectroscopia de impedância Eletroquímica..... 45

Capítulo IV - Resultados e Discussão

IV. 1 Isolamento e Cultivo da Cianobactéria *Phormidium sp*..... 48

IV. 2 Produção Biotecnológica de EPS..... 50

IV. 3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica – EIE..... 53

IV.3.1 Tinta a Base de Óxido de Cobre..... 53

IV.3.2 Tinta a Base de Óxido de Nióbio..... 102

IV.4 Análise dos Revestimentos e EPS por FTIR..... 144

IV.5 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV..... 164

Capítulo V. Considerações Finais e Conclusões..... 173

Capítulo VI. Referências Bibliográficas..... 181

CAPÍTULO 1

Introdução e Objetivos

I.1 Introdução

As tintas anti-incrustantes marinhas são conhecidas por serem revestimentos altamente especializados que conferem proteção aos cascos de navios e outras estruturas submersas frente a organismos sésseis, liberando compostos ativos de maneira controlada (Yebra *et al*. 2006). Por mais de duas décadas, o copolímero de tributil-estanho (TBT) monopolizou o mercado de tintas *antifouling* graças ao excelente desempenho do revestimento. Entretanto, evidências da persistência desses compostos organoestânicos tóxicos na coluna d'água obrigou o banimento desta tecnologia (Yebra *et al*, 2004). Desencadeada pela proibição de produtos derivados de estanho, novos esforços têm sido realizados com vista de obter uma melhor compreensão dos processos responsáveis pelo desempenho das tintas anti-incrustantes livres de estanho.

Levando-se em conta a importância da indústria naval e do comércio internacional, as perdas econômicas ocasionadas pela incrustação biológica, de acordo com projeções para 2020, podem originar perdas de milhões de dólares por ano em todo o mundo (Bellotti *et al*., 2012). Atualmente, os sistemas protetores mais utilizados são baseados em copolímeros com óxido de cobre (Cu_2O) ou óxido de zinco (ZnO) e biocidas orgânicos (Yebra *et al*., 2004). Entretanto, esses revestimentos não garantem uma proteção maior que 12 - 18 meses, devido a uma constante erosão durante a sua vida útil (Chambers *et al*., 2006). Há uma grande preocupação com os biocidas usados nos sistemas comerciais de proteção *antifouling*, devido à elevada concentração de metais como cobre e zinco encontrados nas zonas costeiras e os potenciais danos que podem ocasionar aos organismos marinhos (Ytreberg *et al*., 2010). A substituição destes biocidas por substâncias ecologicamente corretas é uma questão de grande interesse para todo o segmento industrial. Neste sentido, o uso de produtos naturais que inibem o

estabelecimento de organismos incrustantes é um fator chave na tecnologia de revestimento *antifouling* (Konstantinou & Albanis, 2004). Sob este ponto de vista, os exopolissacarídeos têm sido propostos como uma solução promissora (Scheerder *et al*., 2012).

Os ambientes marinhos são reconhecidos como ambientes muito corrosivos para as ligas de aço ao carbono. Por razões de economia, tais aços ainda são os materiais preferidos para uso em estruturas *on* e *off – shore* (Melchers, 1999). Dados estatísticos demonstram que 90% das falhas nos cascos de navios são atribuídas à corrosão (Emi *et al*., 1991). Para navios petroleiros e graneleiros, houve um número de naufrágios e desastres ambientais atribuídos à falta manutenção de cascos altamente corroídos. Para proteger as estruturas de aço, os revestimentos de pintura e a aplicação de proteção catódica são os principais meios empregados. Com a devida manutenção da estrutura e a aplicação adequada da proteção catódica, a corrosão não deveria ser motivo de preocupação. No entanto, os procedimentos de manutenção nem sempre são suficientes, bem como existem algumas áreas de difícil aplicação de proteção em navios, plataformas, portos e etc (Melchers, 1999).

As tintas *antifouling*, geralmente são combinadas com métodos de proteção da corrosão, como a proteção catódica (CP) (Dong *et al*., 2008). As tintas sofrem, ao longo do tempo, uma redução na eficiência da proteção frente às incrustações e à corrosão. A água, por exemplo, pode penetrar na tinta diminuindo a sua resistividade a espécies corrosivas tais como cloreto Cl^- e gases (O_2 e CO_2) podem difundir-se através de buracos e frestas, alcançando a superfície do aço (Collazo *et al*., 2007). Desta forma, a proteção catódica aplicada deve proteger o aço da corrosão da degradação ou falha na tinta aplicada.

No presente trabalho, foi incorporado o exopolissacarídeo da cianobactéria *Phormidium sp*. coletada nas salinas, como biocida auxiliar nas tintas a base de óxidos de nióbio (Nb_2O_5) e óxidos de cobre (Cu_2O), utilizando corpos de prova de aço ao carbono associados ao uso da aplicação da proteção catódica em água do mar sintética, água de produção do pós-sal e pré-sal. Posteriormente, os corpos de prova foram testados em água do mar natural para avaliar o desempenho desta tinta modificada pela incorporação do EPS frente a formação do biofilme marinho.

I.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar o efeito anti-bacteriano do exopolissacarídeo (EPS) extraído da cianobactéria *Phormidium sp*., e incorporado a duas tintas, uma com nióbio (Nb) e outra com cobre (Cu), aplicadas em estruturas de aço protegidas catodicamente.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Produzir biotecnologicamente o exopolissacarídeo da cianobactéria *Phormidium sp.* e incorporá-lo nas tintas orgânicas à base de pigmentos de óxido de cobre (Cu_2O) e óxido de nióbio (Nb_2O_5), testando em diferentes meios corrosivos;

- Realizar ensaios laboratoriais visando avaliar o desempenho das tintas modificadas em relação à formação do biofilme bacteriano marinho sobre corpos de prova de aço-carbono revestidos com as diferentes tintas na presença ou ausência da proteção catódica.

CAPÍTULO 2

Revisão Bibliográfica

II.1 Corrosão

Como a corrosão é um processo natural e espontâneo, a sua mitigação é um desafio. Para que seja eficientemente controlada, devem-se realizar procedimentos criteriosos de seleção de materiais e aplicação de técnicas adequadas de prevenção e controle. Esta deterioração do material pode afetar seriamente a capacidade mecânica das estruturas metálicas (Soares *et al*., 2011).

Na corrosão eletroquímica é formada uma célula reacional que requer um anodo, um catodo, um condutor elétrico e um eletrólito. No anodo ocorre a dissolução metálica que, no caso de estruturas de aço ao carbono pode ser representada pela oxidação do ferro ($Fe \rightarrow Fe^{2+} + 2e^-$). As reações catódicas podem variar de acordo com o meio reacional. Como exemplo, as reações catódicas associadas a condições anaeróbias podem ser descritas por: $2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ ou $2H_2O + 2e^- \rightarrow H_2 + 2OH^-$ (Johnston & Voordouw, 2012).

A Figura 01 apresenta um esquema proposto por Curioni *et al*., (2011), de um metal com duas regiões distintas (anódicas e catódicas). Na região anódica, ocorre a oxidação do metal, enquanto na região catódica, ocorrem as reações catódicas. A diferença entre os potenciais de equilíbrio das reações anódicas e catódicas fornece a força motriz para o início da corrosão. Em grande parte das ligas metálicas, a interação com o meio ambiente produz uma camada superficial com elevada resistência iônica ou elétrica (hidróxidos, óxidos ou espécies adsorvidas), sendo que a maioria dos efeitos cinéticos pode estar relacionados com as propriedades dos compostos que cobrem as regiões anódicas e catódicas (Curioni *et al*., 2011).

A superfície do metal atua como condutor, os elétrons são transportados entre as regiões anódicas e catódicas, e os sais dissolvidos na água atuam como o eletrólito (Johnston & Voordouw, 2012).

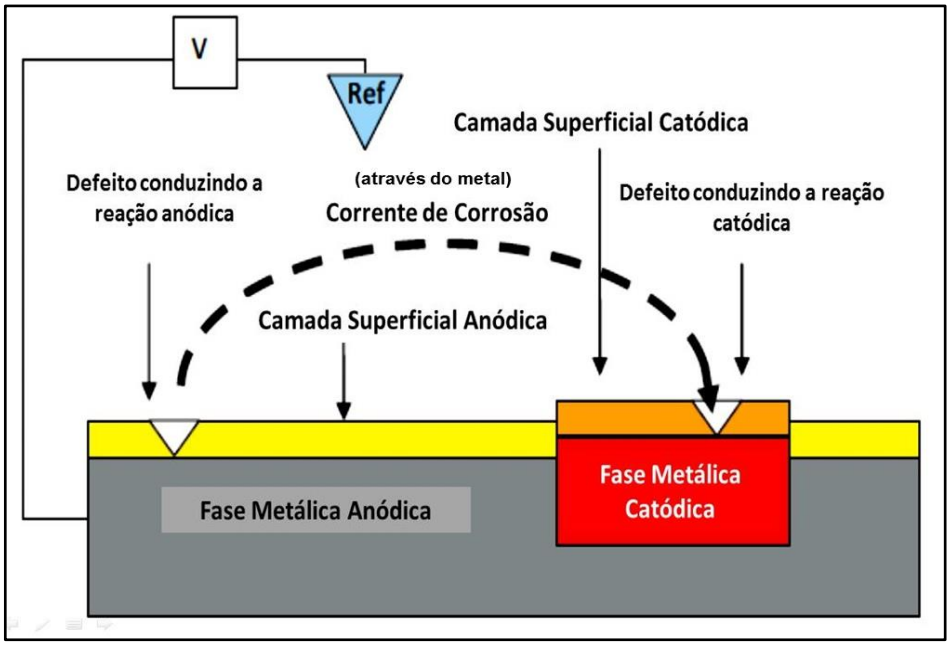


Figura 01. Formação de regiões anódicas e catódicas por presença de falha em revestimento metálico (Curioni *et al*. 2011).

O aspecto mais característico da água do mar é o seu alto teor de sais (Melchers, 2005). Os constituintes químicos da água do mar em todo o mundo são relativamente comuns, variando de local para local, com as estações do ano, as tempestades e os ciclos de marés (Soares *et al*., 2011).

Em especial a corrosão do aço no ambiente marinho é um fenômeno altamente complexo e dependente de diversos fatores ambientais como: presença de bactérias, desenvolvimento de bioincrustação, disponibilidade de oxigênio, dióxido de carbono, salinidade, pH, carbonatos, poluentes, temperatura, pressão, sólidos suspensos, correntes marítimas e ação das ondas (Paik & Kim, 2012). Dependendo da exposição no ambiente, a corrosão marinha pode ser dividida nas seguintes categorias: (i) zonas imersas; (ii) zonas de marés e (iii) atmosférica (Melchers, 1999).

Especificamente, a corrosão por imersão no ambiente marinho pode ser demonstrada na Figura 02, onde é apresentado o modelo fenomenológico descrito por Melchers & Wells (2006). O modelo propões que depois de uma fase inicial

muito curta (fase 0), o processo de corrosão é catodicamente controlado e, portanto, limitado pela difusão de oxigênio pela camada de água imediatamente adjacente à superfície da corrosão (fase 1 - “controle da concentração”). Segundo Gardiner & Melchers (1997), qualitativamente pode-se afirmar que, o início do processo de corrosão, isto é, durante as primeiras horas após a exposição do aço, a temperatura da água apresenta dois efeitos sobre a corrosão: à medida que a temperatura da água aumenta, a taxa do processo de corrosão aumenta e o teor de oxigênio dissolvido na água do mar diminui. Normalmente temperaturas mais elevadas conduzem a uma maior taxa de corrosão, tal como é observado experimentalmente para a exposição de curto prazo e para temperaturas da água do mar superior a cerca de 10°C. Em seguida, a taxa difusional de oxigênio é controlada pelo aumento da espessura da camada formada pelos produtos de corrosão (fase 2). Segundo o modelo, a crescente dificuldade na difusão do oxigênio através do espessamento da camada dos produtos de corrosão irá produzir condições anaeróbias na interface da corrosão. Essas condições, representadas pelas fases 3 e 4, permitem a atividade de bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Segundo Venzlaff *et al*. (2013), podemos considerar que a corrosão do ferro pelo oxigênio atmosférico é um processo puramente eletroquímico, enquanto que a corrosão do ferro em meio neutro, na ausência de ar (ambiente anaeróbico) é, em grande parte, influenciada pelos microorganismos.

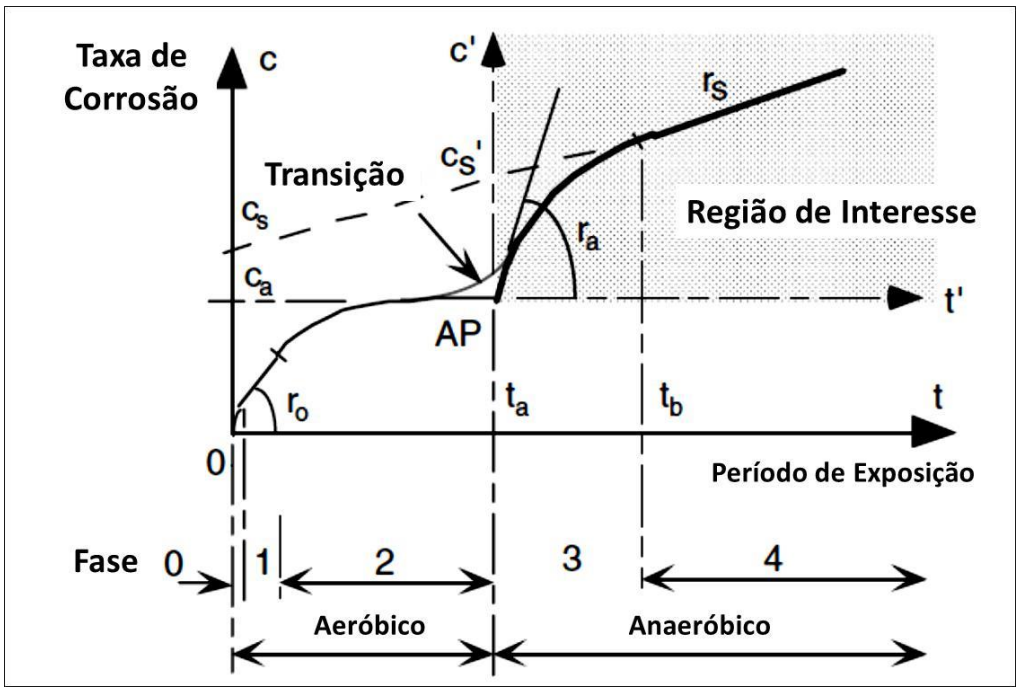


Figura 02. Modelo de corrosão proposto por Melchers & Wells (2006) modificado.

II.2 Formação do Biofilme Bacteriano Marinho

A deterioração da superfície dos metais na presença de microrganismos é normalmente acompanhada pela formação de um biofilme (Siedlarek *et al*., 1994). Ao longo das últimas décadas, uma grande quantidade de intensos estudos de espécies bacterianas em diversos nichos ambientais levou a uma concepção generalizada de como os biofilmes são formados (Stoodley *et al*., 2002; Parsek *et al*., 2003). Para a maioria das espécies bacterianas, a formação do biofilme ocorre em cinco fases distintas definidas por uma combinação de alterações fenotípicas e genéticas (Figura 03) (Shan *et al*., 2011). Inicialmente, as bactérias planctônicas aderem à superfície e permanece em um estado transitório até haver uma sinalização ambiental que, indicará o início da formação do biofilme. Muitos destes sinais são mensageiros químicos intercelulares, compartilhados dentro de uma população, que coordenam a expressão de um gene alterado em resposta à densidade populacional. Este fenômeno é conhecido como *quorum sensing* (Camilli

& Bassler (2006). Durante a primeira fase de adesão, a maioria dos compostos anti-incrustantes e antimicrobianos são mais eficazes, uma vez que as bactérias não estão revestidas por um exopolímero e, desta forma, se encontram em um estado mais vulnerável (Stowe *et al*., 2011).

Segundo o modelo proposto, quando as bactérias começam a secretar o exopolímero, o biofilme atinge uma segunda fase onde o processo se torna irreversível. O exopolímero é uma mistura complexa de hidratos de carbono, proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e heteropolímeros, que fornece às bactérias residentes uma proteção mecânica e química frente a compostos bactericidas (Zhang *et al*., 2012). À medida que o biofilme atinge a maturidade assume uma estrutura tridimensional, onde são formados pequenos canais que facilitam a distribuição de nutrientes, água e resíduos orgânicos que são posteriormente alojados em pequenas cavidades para uso bacteriano. Além da função logística, a morfologia do biofilme apresenta-se como um ambiente ideal para a transferência de genes e aumenta a hipermutação, que leva ao aumento da resistência bacteriana (Davei & O'toole, 2000).

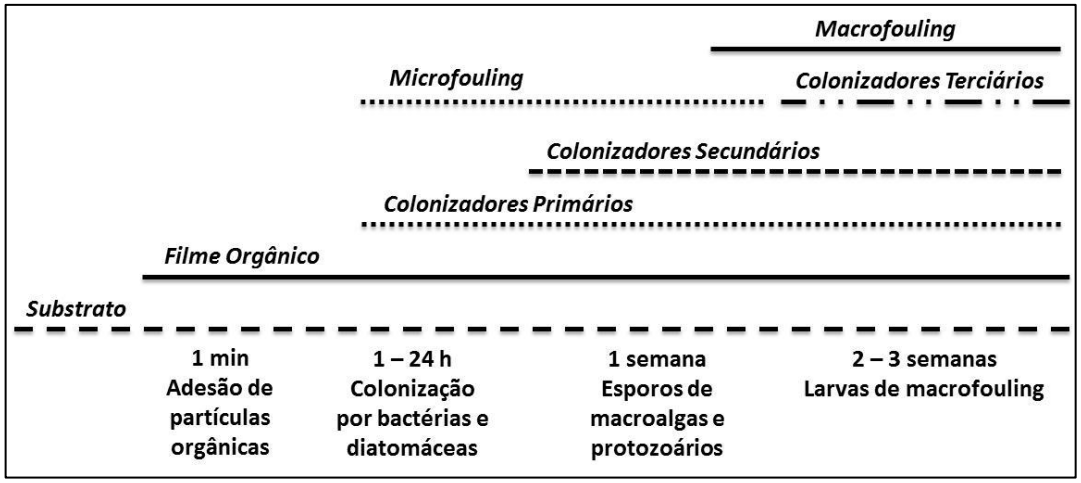


Figura 03. Modelo de formação do biofilme bacteriano proposto por Shan *et al*. (2011) modificado.

Finalmente, uma vez que o biofilme atinge a plena maturidade, são destacados fragmentos do biofilme, liberando as bactérias para o meio ambiente prontas para colonizarem uma superfície próxima (Stowe *et al*., 2011). Além disso, os biofilmes contribuem substancialmente para o fluxo de energia e nutrientes no ambiente, especialmente a ciclagem de nitrogênio (Sanz-Lázaro *et al*., 2011).

II.3 *Biofouling* Marinho

A incrustação biológica ou *biofouling* pode ser definida como o acúmulo indesejável de microrganismos, algas e animais em substratos submersos que conduzem subsequentemente à deterioração da superfície (Maréchal & Hellio, 2009), sendo este problema mundial conhecido há mais de 2000 anos (Shan *et al*., 2011). O *biofouling* é um fenômeno natural destrutivo que afeta quase todos os setores econômicos, ocasionando prejuízos de bilhões de dólares em danos materiais e paradas de produção (Stowe *et al*., 2011). Os problemas associados ao desenvolvimento da bioincrustação passaram a receber maior atenção da comunidade científica, a partir da década de 1960, com o desenvolvimento da indústria naval e das atividades *offshore* (Vedaprakash *et al*., 2013). Segundo Omae (2003), existem mais de 1.746 espécies de organismos marinhos incrustantes, como mostrado na Tabela 01.

Segundo Maréchal & Hellio (2009), o *biofouling* marinho pode ser dividido em três categorias, dependendo do seu impacto sobre o aumento da resistência ao atrito:

- (i) *microfouling* (bactérias, fungos, microalgas e biofilmes microbianos), responsáveis pelo aumento de 1 - 2% na resistência ao atrito;

- (ii) *macrofouling* moles (macroalgas), correspondem a um aumento de até 10% na resistência ao atrito;

- (iii) *macrofouling* rígidos (cracas, mexilhões, vermes tubulares, briozoários), conduzem a um máximo de 40% no aumento da resistência ao atrito.

Tabela 01. Número de espécies incrustantes em meio marinho submerso (Omae, 2003)

Organismos Marinhos	Números de Espécies
bactérias	37
fungos	14
diatomáceas	111
algas	452
protozoários	99
poríferos	33
celenterados	286
anelídeos	108
tentaculata	139
artrópodes	292
equinodermos	19
cordados	127
Outros invertebrados	29
Total	1.746

De acordo com a localização geográfica, as espécies envolvidas variam consideravelmente com as condições ambientais (temperatura, salinidade, nutrientes e intensidade da radiação solar) (Schultz, 2007). Além disso, o desenvolvimento das incrustações é modificado de acordo com a latitude e longitude: menor desenvolvimento da bioincrustação no inverno em zonas temperadas (devido à redução das horas de luz do dia e na temperatura da água do mar) e, as áreas marinhas tropicais e sub-tropicais enfrentam poucas variações de temperaturas da água e níveis de luz, resultando em alto desenvolvimento durante todo o ano (Maréchal & Hellio, 2009).

O mecanismo de formação do *biofouling* é considerado complexo, sendo três aspectos levados em consideração , segundo Al-Juboori & Yusaf (2012):

1. Tipo de Substrato: a aderência de microrganismos pode ser feita em superfícies primitivas ou cobertas com uma película de condicionamento. Esta adesão é controlada por dois processos, um não-específico, é regido principalmente pelas propriedades macroscópicas das superfícies como a sua carga e hidrofilicidade e, um específico controlado por uma película de conteúdo proteico que fornece sítios receptores para a adesão microbiana (Busscher *et al*., 2010).

2. Forças motrizes da Adesão Microbiana: a adesão dos microrganismos na superfície é facilitada por forças hidrodinâmicas e interações físico-químicas dos ligantes (OH^- ou grupos carregados) da película de condicionamento a receptores da membrana celular.

3. Diversos fatores que influem à aderência dos microrganismos a uma superfície, tais como: condições de transporte do líquido, força iônica da solução, o pH da solução, característica da interação superficial devido à morfologia da superfícia, a concentração dos nutrientes na solução e a concentração dos microrganismos na solução.

Para prevenir a bioincrustação, uma variedade de tratamentos como o uso de revestimentos orgânicos e inorgânicos, radiação UV, sistemas de ultra-som e a aplicação da proteção catódica estão entre as técnicas mais citadas que influenciam a formação da bioincrustação (Guezennec *et al*., 2011). Entretanto, o uso de tais técnicas pode ser inviável economicamente, ineficiente e induzir a corrosão microbiológica (Whelan & Regan, 2006).

II.4 Técnicas Empregadas para Prevenção da Corrosão e Incrustação Biológica no Ambiente Marinho

O controle da corrosão é relatado como a maior preocupação para a manutenção da integridade das estruturas enterradas e submersas no ambiente marinho (De Giorgi, 2002). A exigência para proteção das estruturas metálicas em ambientes aeróbicos é reduzindo o contato do oxigênio com a superfície do material metálico (Benedetii *et al*., 2009). A combinação de revestimentos protetores com a proteção catódica é considerada como o método mais eficiente e mais econômico frente ao desenvolvimento da corrosão (Martinez *et al*., 2009). Entretanto, a eficácia desta associação, está vinculada com a compatibilidade entre o sistema de proteção catódica e o revestimento escolhido.

II.4.1 Proteção Catódica

A proteção catódica é uma das tecnologias mais empregadas na prevenção da corrosão de estruturas submersas (De Giorgi, 2002). Existem dois tipos de proteção catódica aplicada a essas estruturas: galvânica (através de anodos de ligas de zinco ou alumínio) e por corrente impressa (Guezennec, 1994). Independente do tipo de proteção catódica aplicada, esta é considerada eficiente quando a taxa de corrosão do material protegido é inferior ou igual a 10 $\mu m.ano^{-1}$ (Barbalat *et al*., 2012).

Segundo Rousseau *et al*. (2009), em água do mar as correntes catódicas aplicadas induzem a redução do oxigênio dissolvido (Equação 1), produzindo íons hidroxila próximos à superfície polarizada. Esta reação ocasiona o aumento do pH na interface do metal/meio induzindo a precipitação de uma camada de material inorgânico, constituída principalmente de carbonato de cálcio ($CaCO_3$), compostos de magnésio e outros constituintes (Equações 02 e 03). Este depósito misto é

geralmente chamado de camada calco-magnesiana, não condutora que recobre a superfície do material, reduzindo a taxa global da reação catódica (redução do oxigênio). A dissolução dos anodos galvânicos, por exemplo, a oxidação do zinco (Equação 04), reduz ainda mais a taxa global da reação, quando aplicado como proteção catódica. Pode ocorrer a formação de camadas de óxidos sobre os anodos, isolando-o do meio eletrolítico. Isso, consequentemente, reduziria a eficiência da proteção catódica (Perkins & Bornholdt, 1977). A formação de produtos sobre o anodo, que pode ser considerada uma passivação, pode ser evitada com a inclusão de alguns elementos metálicos durante a fabricação das ligas de zinco e alumínio, como é feito atualmente pelos fabricantes de anodos.

$$O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightarrow 4OH^-$$ Equação 01

$$Mg^{2+} + 2OH^- \rightarrow Mg(OH)_{2_{(s)}}\ (precipitado)$$ Equação 02

$$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CaCO_{3_{(s)}}\ (precitado)$$ Equação 03

$$Zn \rightarrow Zn^{2+} + 2e^-$$ Equação 04

A interação entre a proteção catódica aplicada em diferentes substratos revestidos ou não e o estabelecimento de espécies bacterianas marinhas, nestes substratos “protegidos”, é influenciada de diferentes formas, segundo Edyvean *et al*. (1992), tais como:

- a proteção catódica reduz o estabelecimento e reprodução das bactérias aeróbias durante as fases iniciais de exposição, sendo variável de acordo com a densidade da corrente aplicada;

- existem diferenças significativas nos valores da densidade de corrente aplicadas nos diferentes ambientes marinhos, principalmente quando há incrustações nos substratos;

- a incrustação dos organismos é influenciada pela formação do biofilme orgânico produzido por microrganismos residentes, que, por sua vez, dita a

densidade de corrente aplicada e a forma em que as reações de precipitação ocorrem.

II.4.2 Revestimentos

Os revestimentos são considerados como um dos métodos mais eficientes para a proteção contra corrosão de objetos metálicos (Yan *et al*., 2010). Em diversas estruturas, os revestimentos são utilizados como defesa primária contra os efeitos da corrosão, por isolar o material do meio ambiente (De Giorgi, 2002). Os revestimentos podem ser degradados pela permeação de água na presença de espécies corrosivas como o Cl^- e os gases O_2 e CO_2, através de um "defeito" no revestimento alcançando o aço (Dong *et al*., 2008).

As tintas orgânicas, consideradas como revestimentos poliméricos, geralmente são preparadas adicionando espécies químicas que combatem a corrosão, agindo como barreiras físicas ou com a ação eletroquímica dos pigmentos. A combinação da proteção por barreira, promovida pelo pigmento contra a corrosão, respectivamente, confere uma maior durabilidade a tinta, em longo prazo, para as estruturas metálicas em contato com um meio corrosivo (Chico *et al*., 2008). A proteção contra a corrosão é obtida por interações físico-químicas de um filme, gerando uma barreira e, impedindo o contato do material com o meio ambiente corrosivo. Contudo, a proteção ativa impingida pelo pigmento visa à diminuição da taxa de corrosão onde a barreira física da tinta estiver danificada e, possivelmente uma espécie corrosiva possa entrar em contato com o substrato (Li *et al*., 2011).

Os sistemas de pintura anticorrosivos consistem, geralmente, de várias camadas com diferentes propriedades e propósitos (Sorensen *et al*., 2009). Um típico sistema de pintura anticorrosivo, para ambientes marinhos altamente abrasivos, consiste de um *primer*, uma ou várias camadas intermediárias, e uma camada final de acabamento (Almeida, 2001). A função das camadas subsequentes

é proteger o substrato frente à corrosão e conferir uma boa aderência ao substrato. Desta forma, pigmentos de óxidos de zinco, cobre, e em nossa proposta, óxidos de nióbio, dentre outros óxidos, são frequentemente adicionados em revestimentos aplicados como *primers*. A função do revestimento intermediário é, em geral, aumentar a espessura do sistema de revestimento para impedir o transporte de espécies agressivas para superfície do substrato. Além disso, a camada intermediária deve também garantir uma boa aderência entre o *primer* e a camada de acabamento. A camada superior é exposta ao meio ambiente externo e deve proporcionar à tinta uma cor e o brilho desejado, bem como um biocida para impedir a bioincrustação.

O desempenho global e durabilidade de um sistema de revestimento é muito difícil de avaliar, pois é afetado por vários fatores internos e externos (Sorensen *et al*., 2009). A complexidade do sistema de revestimento e algumas das variáveis que afetam a durabilidade e o desempenho de um sistema anticorrosivo encontra-se ilustrado na Figura 04.

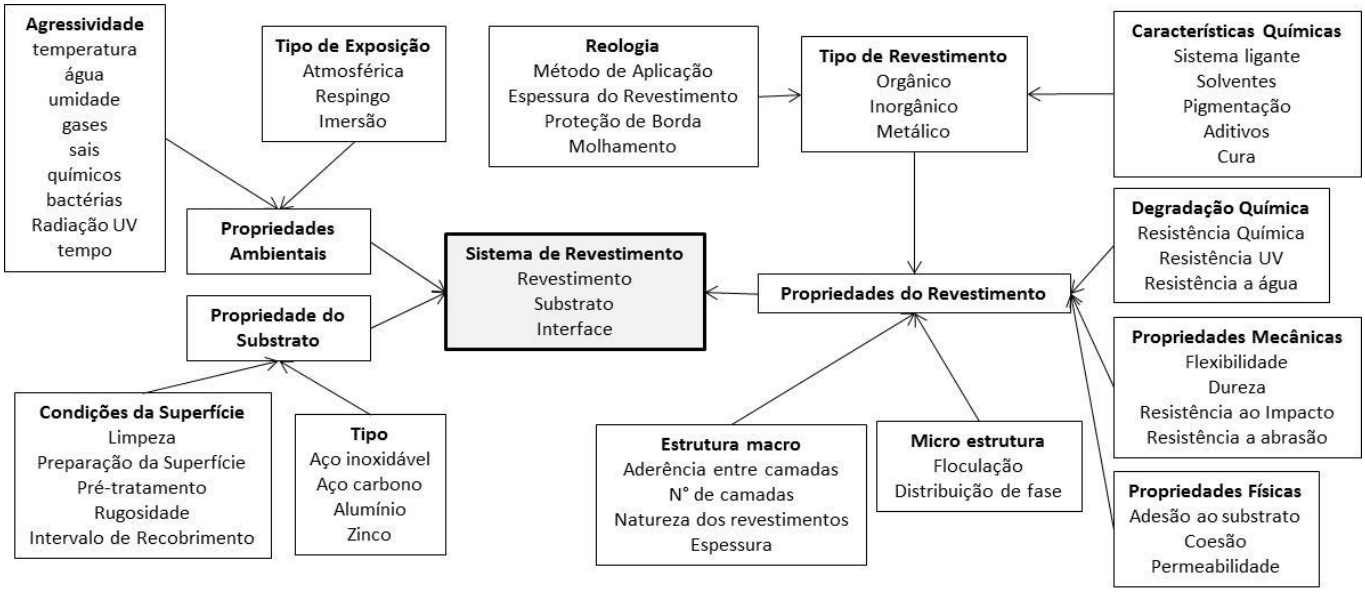


Figura 04. Fatores que afetam a durabilidade de um sistema de revestimento anticorrosivo, proposto por Sorensen *et al*., (2009).

Nas últimas décadas, os sistemas de pintura utilizados na construção naval sofreram um grande desenvolvimento impulsionado por novas leis e regulamentações, especialmente relacionados com a proteção ambiental e da saúde humana. Estas modificações se concentraram, sobretudo, na redução da volatilidade de compostos orgânicos voláteis (VOC), conteúdos orgânicos e eliminação de componentes tóxicos e cancerígenos utilizados nas tintas tradicionais. (Almeida *et al.*, 2007).

Tradicionalmente, as tintas anti-incrustantes utilizam compostos à base de óxido de cobre como pigmento, sendo sua liberação, descrita pelas seguintes reações (Voulvoulis *et al.*, 1999):

$$2\ CuO_{(s)} + 2H^+ + 4Cl^- \rightarrow 2CuCl_2^- + 1\ H_2O \qquad \text{(Equação 05)}$$

$$CuCl_2^- + Cl^- \leftrightarrow CuCl_3^{2-} \qquad \text{(Equação 06)}$$

A reação (1) é considerada irreversível e influenciada pela cinética, enquanto a reação (2) é instantânea e reversível. Como a água do mar é oxigenada os complexos de cobre, como $CuCl_2^-$, são rapidamente oxidados a Cu^{2+}, que é a principal forma de biocida, originado pelo óxido cuproso. Entretanto, os íons de cobre não são igualmente eficientes contra todos tipos de organismos incrustantes, sendo que sua ação diminui na seguinte ordem: microrganismos, invertebrados, algas, bivalvos e macrófitas (Almeida *et al.*, 2007). Além disso, alguns ligantes químicos solúveis em água podem ligar-se aos íons cobre reduzindo significamente a sua toxicidade, reduzindo a sua concentração disponível como biocidas (Voulvoulis *et al.*, 1999). A mesma reação é realizada por alguns agentes quelantes do cobre, sintetizados e excretados pelos próprios microorganismos, bem como a formação espontânea de malaquita ($CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$), que é ligeiramente solúvel. Além do óxido de cobre, usa-se também os óxidos de zinco (II), ferro (III) e de titânio (IV).

Segundo Callow & Callow (2002), a incrustação desenvolvida nos substratos submersos possui diferentes fases. Na primeira fase (primeiros minutos de imersão), moléculas orgânicas, tais como proteínas, polissacarídeos, glicoproteínas e outros, tornam-se fisicamente aderidas à superfície. Na segunda fase, correspondente por aproximadamente as primeiras 24 h de imersão, ocorre a adsorção das bactérias e algas unicelulares. Subsequentemente, a existência do filme microbiano formado anteriormente fornece o ambiente favorável permitindo a fixação, em uma terceira fase, dos esporos de microalgas, e na quarta fase observa-se o estabelecimento de larvas de macrorganismos marinhos, por 2 ou 3 semanas de imersão. No entanto, os revestimentos poliméricos orgânicos carregados com *antifouling* não têm apresentado proteção adequada devido a uma redução na estabilidade do polímero orgânico (Zheludkevich *et al*., 2007).

Miranda *et al*. (2004) apresentaram a patente de invenção referente a composições e revestimentos tendo o nióbio, seus óxidos e possíveis associações com outros óxidos como pigmento, e suas utilizações através de técnicas usuais de pintura, agindo como anticorrosivo em ácidos orgânicos, particularmente o ácido naftênico em meio sulfídrico, persistentemente na indústria petroquímica. O resultado deste trabalho sugere que o óxido de nióbio (NbxOx) apresenta elevada probabilidade de desempenho protetor, uma vez que o filme formado é aderente, não é volumoso e é quimicamente inerte em meios corrosivos. Apesar de não existir uma tinta a base de óxido de nióbio anti-incrustante, Araújo (2011) demonstrou as propriedades antibacterianas do revestimento a base óxido de nióbio frente às bactérias redutoras de sulfato (BRS).

II.5 Exopolissacarídeos de Cianobactérias como Biocida Auxiliar em Revestimentos Anticorrosivos

Segundo a *International Energy Agency* - IEA, o Brasil será o terceiro maior fornecedor de petróleo até 2035 (Pottmaier *el al*., 2013). Entretanto, a exploração na região do Pré-sal pode permitir que o Brasil se torne o maior produtor mundial de petróleo e gás natural. Ainda segundo a IEA, a Petrobras tem planos de produzir 3,95 milhões de barris de petróleo por dia em 2020, sendo que 1,08 milhões (27%) serão provenientes dos reservatórios do pré-sal. Desta forma, há uma necessidade para desenvolver tecnologia e reduzir custos para exploração e produção nos campos maduros e reservatórios do pré-sal.

Estruturas metálicas *off-shore*, tais como navios e plataformas estão sob constantes ataques no ambiente marinho (Chambers *et al*., 2006). Estes materiais precisam ser protegidos de elementos - chave neste ambiente, tais como água salgada, ataque biológico e variações na temperatura.

Os revestimentos orgânicos e películas poliméricas são amplamente utilizados para proteger diferentes substratos metálicos no meio marinho, sendo capazes de aumentar a resistência à permeação de água e diminuir a difusão de íons (Armelin *et al*., 2009). Para um desempenho confiável, pigmentos de óxidos inorgânicos que retardam o processo corrosivo e biocidas são incorporados à formulação destes revestimentos sendo liberados no meio ambiente gradativamente com a evolução do desgaste do material, ocasionando graves problemas de contaminação ambiental (Bellotti *et al*., 2012).

A exploração de produtos naturais, com origem vegetal, é apresentada como uma fonte de baixo custo e ecologicamente viável de importantes produtos químicos (Oguzie *et al*., 2012). Muitos pesquisadores começaram a extrair e analisar os produtos naturais a partir de uma gama de plantas e organismos marinhos, em um

esforço para encontrar fontes viáveis de agentes anti-incrustantes (Armstrong *et al*., 2000). Muitos destes compostos são metabólitos secundários gerados pelos organismos em resposta a pressões externas sendo representados por: alcalóides, taninos, flavonóides, aminoácidos, carboidratos, ligninas e etc, e estão armazenados em extratos da biomassa ou resíduos de vegetais e plantas podendo facilitar o desenvolvimento de alternativas ambientalmente viáveis para processos químicos industriais (Oguzie *et al*., 2012). Extratos de biomassa são utilizados extensivamente na medicina tradicional, em que os constituintes fitoquímicos demonstram ser eficazes contra um microrganismo patogênico (causador de doença) e, com isso, formaram a base para uma série de importantes formulações de drogas farmacêuticas (Oyedeji *et al*., 2005). As tentativas para aumentar o campo de aplicação dos extratos ativos de biomassa, com o propósito de resolver problemas de corrosão em ambientes agressivos aquosos (corrosão eletroquímica) e, consequentemente, desenvolver novas substâncias de baixo custo de produção e ambientalmente viáveis, representam uma área de pesquisa cada vez mais promissora (Oguzie *et al*., 2012).

Diversas espécies bacterianas são capazes de sintetizar substâncias poliméricas extracelulares (EPS), sendo estas moléculas aderidas na superfície celular por ligações químicas ou liberadas para o meio ambiente (De Philippis & Vincenzini, 2003). Segundo Sutherland (2001), os EPSs são divididos em dois grupos, denominados homopolissacarídeos ou heteropolissacarídeos. Os homopolissacarídeos são compostos por apenas um tipo de monossacarídeo e, são sintetizados, via atividade da sacarase utilizando a sacarose com substrato e, consequentemente, produzem unidades de glicose e frutose. Os heteropolissacarídeos são moléculas hidratadas de alto peso molecular, constituídas com diferentes resíduos de açúcar, e sintetizadas pela ação combinada de

diferentes glicosiltransferases (Arskold *et al*., 2007). Esses complexos poliméricos podem conter amino-açúcares acetilados, fosfato, lactato, acetato e glicerol, sendo que a composição do EPS bacteriano pode variar de acordo com o tipo de microrganismo, disponibilidade de nutrientes, fases de crescimento e condições ambientais (Pereira *et al*., 2009).

As cianobactérias, também conhecidas como algas verde-azuladas, cianofíceas ou cianoprocariotas, possuem a maior diversidade morfológica entre os grupo de organismos procarióticos (Giovannoni *et al*., 1988). Atualmente, são conhecidas mais de 2000 espécies de cianobactérias com diferentes propriedades fisiológicas e morfológicas, com a possibilidade de colonizar um amplo número de habitats. Elas são claramente distinguíveis de outras bactérias fotossintéticas devido ao uso da água como doador de elétrons e produção de oxigênio molecular, que é liberado para o meio ambiente (Regelsberger et al., 2002). As cianobactérias são encontradas em um vasto número de habitats, incluindo os aquáticos (marinhos e dulcícolas), terrestres e meio ambientes extremos (lagoas geladas como as da Antártica ou fontes termais) (Tamagnini et al., 2002). Muitas cianobactérias podem se desenvolver em condições de extremas ou baixas temperaturas (Castenholz, 1969), altas concentrações de sulfetos (Cohen *et al*., 1986), flutuação de presença / ausência de oxigênio (Hershkovitz *et al*., 1991) e ambientes com estresse osmótico (alta concentração salina) (Reed *et al*., 1986). Segundo Badger *et al*., (2006), fisiologicamente as cianobactérias possuem os seguintes mecanismos adaptativos: (I) em altas temperaturas ocorre a redução da atividade da ribulose bisfosfato carboxilase oxigenase (RuBisCO), promovendo maior interação com o O_2 e sendo requerida em maior concentração de CO_2; (II) em pH alcalino, o bicarbonato (HCO_3^-) é a maior fonte de carbono inorgânico disponível, dessa forma, o mecanismo de concentração de CO_2 (CCM) utiliza este bicarbonato para a realização da

fotossíntese; (III) a tolerância à alta intensidade luminosa é conseguida ativando o CCM; (IV) a alta concentração de carbono inorgânico, isto é, o HCO_3^- e o CO_3^{-2} fazem com que ocorra a redução da atividade do CCM.

As cianobactérias representam um grupo de microrganismos foto-autotróficos que conseguem combinar a habilidade de realizar a fotossíntese oxigênica (semelhante a realizada pelos cloroplastos) com as características típicas de um organismo procarionte (Whitton & Potts, 2000). Elas apresentam uma parede celular única associada a lipopolissacarídeos, semelhante às bactérias gram-negativas e, com uma espessa camada de peptidioglicano altamente reticulado, semelhante as bactérias gram-positivas (Stewart *et al*., 2006). Além disso, muitas espécies de cianobactérias possuem estruturas polissacarídicas ao redor das suas células (De Philippis & Vincenzini, 2003). Esses exopolissacarídeos possuem características peculiares quando comparados com polímeros de outros microrganismos, como a presença de um ou dois ácidos urônicos, presentes raramente no EPS de outros grupos microbianos e grupos sulfato, uma característica única nos grupos bacterianos, mas apresentado pelos *archaea* e eucariontes (Pereira *et al*., 2009). Com isso, a presença dos grupos sulfato e dos ácidos urônicos conferem ao EPS das cianobactérias uma natureza aniônica. Além disso, a presença de éster ligado a grupos acetil, peptídeos e desoxiaçúcares, como a fucose e a ramnose, conferem significativa hidrofobicidade a estes EPSs (Shepherd *et al*., 1995).

As cianobactérias produzem heteropolissacarídeos complexos, composto de seis ou mais tipos de monossacarídeos, muito superiores, aos EPSs sintetizados por bactérias e macroalgas que contêm menos que quatro monômeros (De Philippis & Vincenzini, 1998). De acordo com De Philippis *et al*. (2001), já foram identificados 12 monossacarídeos em EPS de cianobactérias, sendo eles: as hexoses (glicose, galactose, manose e frutose), as pentoses (ribose, xilose e arabinose), as desoxi

hexoses (fucose, ramnose e metil-ramnose) e as hexoses ácidas (ácido glucorônico e ácido galacturônico). Em alguns casos, ocorre a presença adicional de alguns tipos de monossacarídeos (açúcares metilados e/ou açúcares aminados) como os *N*-acetil-glicosamina, 2,3-*O*-metil ramnose, 3-*O*-metil ramnose, 4-*O*-metil ramnose e 3-*O*-metil glicose. Devido a grande variedade de monossacarídeos que constitui o EPS das cianobactérias, a complexidade apresentada pelas ligações e interações dos diferentes grupamentos é considerada como a principal explicação para a estruturação e arquitetura dessas macromoléculas.

Revestimentos mucilaginosos são comuns em torno das cianobactérias marinhas que residem em ambientes hipersalinos e, portanto, a maior parte destes organismos podem produzir EPS (Campbell & Golubic, 1985). Algumas espécies de cianobactérias unicelulares produtoras de EPS já foram isoladas a partir de ambientes hipersalinos. Além disso, EPS de Cyanothece, por exemplo, contém ácidos urônicos, de seis a oito monossacáridos, com um ou dois açúcares ácidos. Outros grupos químicos acetil, piruvil, e / ou sulfato também são detectados. Outros exopolissacarídeos de cianobactérias isoladas a partir de ambientes salinos contém diferentes açúcares, como o ácido glicurônico, ácido galacturônico, galactose, glicose, manose, xilose e fucose. Segundo Chi *et al*. (2007), um novo tipo de homoglucana α-D-1,6 foi detectada em 113 isolados de lagos salinos na China.

Durante a última década, vários estudos foram iniciados para tentar compreender os fatores genéticos e bioquímicos da biossíntese de EPS pelas bactérias (Whitfield *et al.,* 2006). No entanto, as cianobactérias não têm sido completamente estudadas e, desta forma, as informações disponíveis sobre sua produção bioquímica do EPS é extremamente limitada. Estudos realizados em bactérias gram-positivas e gram-negativas, revelaram que as vias de produção do EPS são muito complexas, incluindo além das enzimas diretamente envolvidas na

síntese de EPS, as enzimas envolvidas na formação dos polissacarídeos da parede celular e os lipopolissacarídeos (Mozzi *et al*., 2003). Entretanto, os mecanismos envolvidos na síntese do EPS são relativamente conservados entre as espécies bacterianas e as cianobactérias (Pereira *et al*., 2009). Diversos EPSs são sintetizados intracelularmente e exportados para o meio extracelular, como macromoléculas (Freitas *et al*., 2011). Existem algumas exceções conhecidas, como por exemplo, a síntese de levanas e dextranas, cuja síntese e polimerização ocorrem fora das células pela ação de enzimas excretadas que convertem o substrato em polímero no ambiente extracelular.

As vias biossintéticas bacterianas de EPS compreendem a absorção do substrato, a via central do metabolismo e a síntese do exopolissacarídeo (Figura 5) (Freitas *et al*., 2011). Segundo os autores, de acordo com o tipo de substrato utilizado ou disponível para a célula, o sistema de transporte realizado para incorporar o substrato pode ser ativo ou passivo (Figura 5A), onde posteriormente é catabolizado por fosforilação intracelular, ou pode ser transportado e oxidado por via oxidativa periplasmática direta.

No citoplasma, o substrato é catabolizado através da glicólise (Figura 5B) e os seus metabólitos primários formados são utilizados como precursores para a síntese de pequenas biomoléculas (ácidos aminados ou monossacarídeos). A síntese de polissacarídeos requer a ativação biosintética de precursores que são monossacarídeos ricos em energia, principalmente açúcares difosfato de nucleosídeos (NDP-açúcares), os quais são derivados de açúcares fosforilados (Figura 5C) (Freitas *et al*., 2011). A excreção do EPS é um processo desafiador para os microorganismos, pois o EPS possui um elevado peso molecular, é montado no citoplasma e precisa atravessar o envoltório celular, sem comprometer as propriedades da membrana celular (Cuthbertson *et al*., 2009). Os processos mais

relatados para excreção do EPS são: (1) repetição das unidades poliméricas que estão estruturadas na face interior da membrana citoplasmática e são polimerizados no periplasma e (2) através dos transportadores ABC, cuja polimerização ocorre na face citoplasmática da membrana interna (Figura 5D) (Cuthbertson *et al*., 2009).

Segundo Doumit & Pinotti (2004), é aceito que a produção de polissacarídeos extracelulares represente uma estratégia metabólica para sobrevivência e crescimento de microrganismos, especialmente sob condições ambientais desfavoráveis, como, por exemplo, em habitats extremos. O EPS das cianobactérias frequentemente possui um ou dois tipos de pentoses, açúcares que normalmente estão ausentes em outros polissacarídeos de procariontes. A maioria dos EPS de cianobactérias é relativamente complexa, sendo esses polissacarídeos compostos de seis ou mais tipos de monossacarídeos, uma característica que também não é apresentada por EPS de outros microorganismos ou macroalgas (Doumit & Pinotti, 2004).

Os EPS de cianobactérias isoladas a partir de ambientes salinos, apresentam segundo Satpute *et al* (2010), ácidos urônicos, ácido galacturônico, ácido glicurônico, galactose, glicose, manose, xilose e fucose. Grupos acetila, piruvil e sulfato são também detectados. De acordo com Buchweishaija *et al*. (2008), alguns polímeros naturais já são considerados bons inibidores de corrosão, como exopolissacarídeos secretados por *Leuconostoc mesenteroides*. Segundo os autores, os exopolissacarídeos substancialmente puros possuem uma estrutura geral que consiste em uma ligação glicosídica α-(1→6) em D-glicose e cerca de 3% a 4% de ligações glicosídicas ramificadas α-(1→3). O perfil de açúcares neutros (manose, ramnose, glucose, galactose, arabinose e xilose) variam de acordo com a espécie e estágio específico de crescimento (Allard & Tazi, 1993). Por comparação,

as microalgas tendem a acumular amido enquanto as cianobactérias acumulam principalmente glicogênio (Madhavi-Shekharam *et al*., 1987).

Os revestimentos orgânicos na presença de polímeros condutores quando apresentam áreas expostas (poros) favorecem a manutenção de uma camada de óxido de ferro (Armelin *et al*., 2008). Além disso, os polímeros em tintas podem atuar como um catalisador redox por terem características aniônicas (Wessling & Posdorfer, 1999).

Desta forma, o EPS de tais organismos são candidatos promissores para várias aplicações industriais (De Philippis *et al*., 1998). Devido à presença de diferentes grupos funcionais, os polímeros podem formar complexos com íons sobre superfícies metálicas (Arthur *et al*, 2013). Estes complexos formados ocupam uma grande área superficial, protegendo os substratos metálicos dos agentes corrosivos presentes no ambiente. Os polímeros que possuem o grupo carboxila (-COOH) se apresentam como sistemas eficazes para inibição da corrosão. Muller *et al*. (1997) estudaram a inibição da corrosão de metais pelo ácido poli(metacrílico) e do copolímero do ácido maléico e estireno com pigmentos de zinco em meio aquoso alcalino.

Vários mecanismos de ação têm sido propostos para demonstrar as propriedades inibitórias dos produtos naturais frente à corrosão. A utilização de compostos orgânicos contendo oxigênio, enxofre, nitrogênio e cadeias fechadas com presença de heteroátomos vem sendo mais estudo nos últimos anos como possíveis inibidores de corrosão em aço ao carbono. Segundo Arthur *et al*. (2013) os inibidores orgânicos adsorvidos sobre a superfície do metal deslocam as moléculas de água por formarem uma barreira compacta hidrofóbica. A disponibilidade de par de elétrons livres e os elétrons da ligação π no inibidor facilitam a transferência de elétrons do inibidor para o metal. Quando um átomo de H ligado ao C em uma

cadeia fechada está substituído por um grupo como -NH_2, -NO_2, -CHO ou -COOH, a densidade de elétrons para metal aumenta, resultando no retardamento das reações catódicas ou anódicas isto é, os elétrons são consumidos no catodo e transportados ao anodo e, assim, a corrosão é minimizada (Umoren *et al*., 2006).

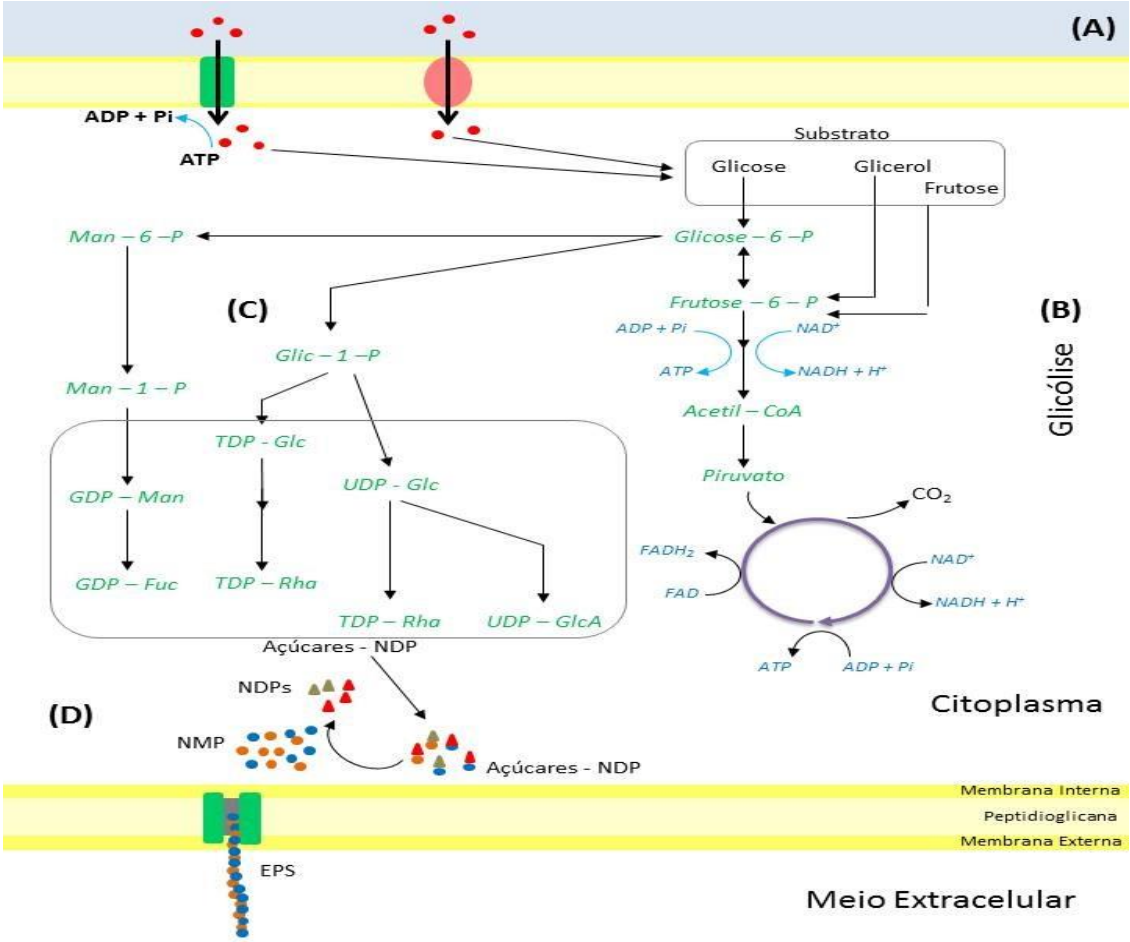


Figura 05. Diagrama esquemático simplificado, resumindo a vias biosintéticas envolvidas na síntese de EPS bacteriano por bactérias gram-negativas.

O mecanismo de dependência do pH com as propriedades de superfície dos EPS microbianos ainda não foram elucidados. Entretanto, Sheng *et al*. (2010) combinaram diferentes técnicas analíticas e observaram que os grupos funcionais presentes no EPS são identificados como os principais contribuintes para as interações intra e intermolecular, sendo dependentes do pH para ocorrência de diferentes interações. Desta forma, Wang *et al*. (2012) propõem um modelo

organizacional da estrutura e propriedade do EPS de acordo com a carga das espécies superficiais serem catiônicas ou aniônicas (Figura 06). Os autores afirmam que o EPS pode facilmente liberar as cadeias em valores de pH mais elevado, o que explica o fato do EPS ser extraído mais facilmente utilizando o NaOH do que outras técnicas de extração.

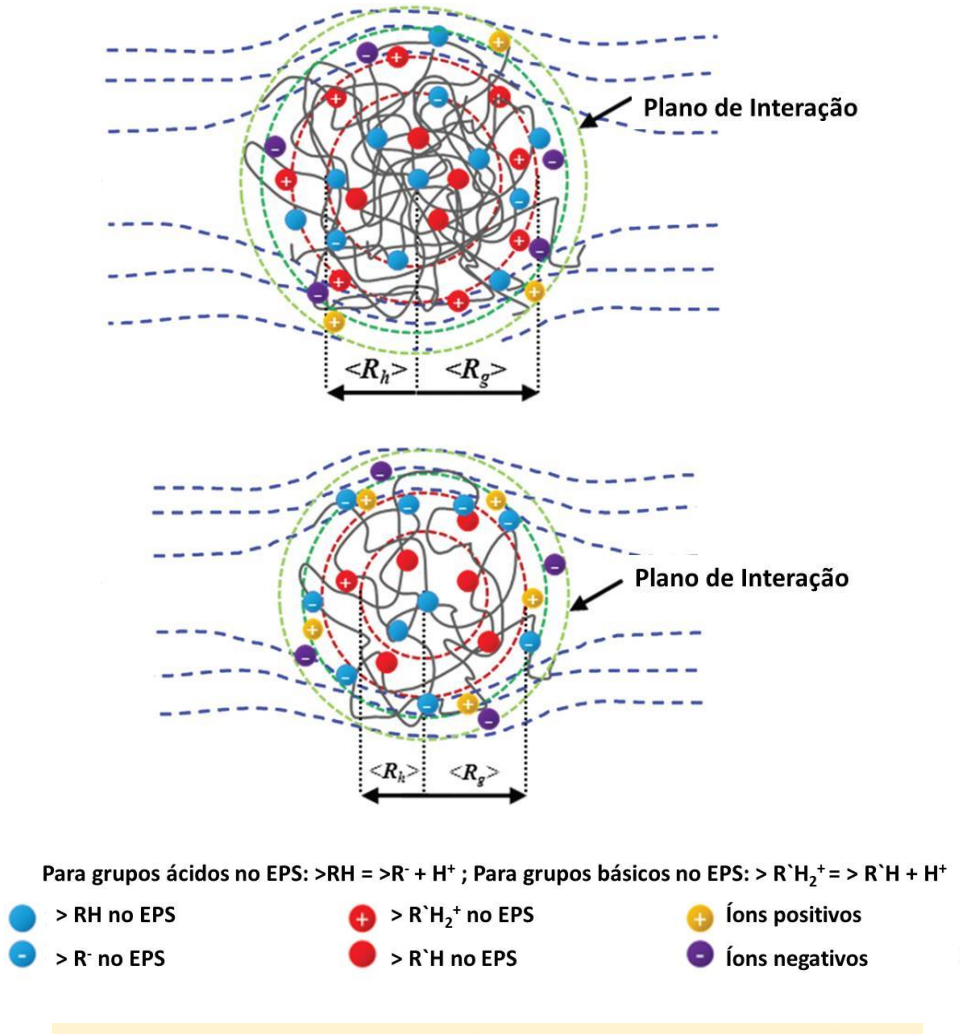


Figura 06. Modelo proposto por Wang et al. (2012) da estrutura e propriedades superficiais do EPS em diferentes pH.

II.6 Análise de Revestimentos pela Técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica – EIE

A técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica – EIE é amplamente aplicada como uma técnica para deduzir os componentes das reações elementares de um processo eletroquímico, fornecendo valores numéricos das constantes de velocidade, bem como, parâmetros cinéticos que caracterizam as etapas da reação (Harrington & Driessche, 2011). A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) é um método de análise que nos últimos anos vem sendo utilizada para caracterização de sistemas eletroquímicos. Esta técnica pode ser usada, dentre outras aplicações, para avaliar as propriedades protetoras de revestimentos orgânicos, monitorando a degradação quando expostos a um ambiente de interesse (Barbalat *et al*., 2012).

As medidas de impedância em sistemas eletroquímicos podem ser realizadas de acordo com o arranjo experimental mostrado na Figura 07. Conforme a figura, observa-se que a aplicação de corrente alternada à célula eletroquímica é feita por meio de um potenciostato. A corrente alternada, com uma dada frequência, é programada pelo microcomputador e aplicada no eletrodo de trabalho pelo equipamento. A resposta do eletrodo é recebida pelo detector de resposta em frequência que encaminha os dados ao microcomputador para processamento (Wolynec, 2003).

A EIE é baseada na análise das interações entre um material e uma corrente alternada (AC) em diferentes frequências analisadas. A resposta AC de sistemas eletroquímicos em altas frequências contém informações importantes sobre os diferentes processos que ocorrem simultaneamente na interface do eletrodo/ eletrólito. Com isso, a análise dos dados EIE permite a avaliação das propriedades físico-químicas dos sistemas sob investigação (Bondarenko, 2012).

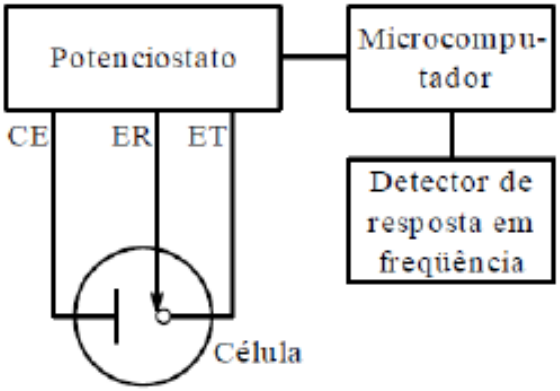


Figura 07. Arranjo experimental para realização de ensaios de EIE.

A análise clássica dos dados obtidos por EIE consiste em duas fases: (i) elucidação de um modelo físico apropriado do sistema e (ii) ajuste dos resultados de EIE por um circuito equivalente para estimar os parâmetros do modelo. No entanto, um dos principais impedimentos para uma aplicação mais ampla e eficiente da abordagem baseada em EIE em diferentes áreas (não só em eletroanalítica, química mas também física, biologia e medicina) é a capacidade de processar grandes conjuntos de dados de impedância em uma escala razoável de tempo, ou seja, cumprir o passo (ii) para grandes conjuntos de dados em prazos curtos (Sanchez *et al*., 2011). Além disso, os parâmetros dos sistemas eletroquímicos podem mudar drasticamente mesmo que as condições experimentais sejam apenas ligeiramente alteradas. De acordo com Bondarenko (2012), as correntes provocadas pelas reações eletroquímicas (Faradaica), são funções exponenciais do potencial de eletrodo e, ao mesmo tempo, funções complexas e não lineares da concentração dos reagentes e produtos na superfície do eletrodo. As concentrações superficiais são determinadas pelas propriedades da interface eletrodo/eletrólito que são, por sua vez, extremamente difíceis de se predizer analiticamente, mesmo com a ajuda de conceitos teóricos modernos. Devido a essa complexidade, a análise de dados

multidimensionais da EIE não é uma tarefa trivial. A otimização com sucesso de um espectro de impedância não garante uma elucidação bem sucedida do conjunto de dados pelo uso de circuitos equivalentes. Por exemplo, na formação de um determinado produto de corrosão por uma sequência de reações consiste geralmente, em reações rápidas e lentas. Com isso, reações cujas constantes de tempo são muito mais curtas que outras, podem não ser visualizadas ns espectros, não importando qual a frequência de observação utilizada (Sengoku *et al*, 2012).

Alguns elementos eletroquímicos relacionadas com processos corrosivos, tais como: resistência e capacitância dos revestimentos, resistência a transferência de massa, e capacitância da dupla camada elétrica podem ser extraídas a partir das medições de EIE. Segundo Deflorian & Rossi (2006), o método de EIE utiliza um potencial DC fixo acompanhado por corrente alternada em baixa perturbação (≤ 10 mV) sob diferentes frequências. Entretanto, para a avaliação de revestimentos espessos podem ser aplicadas maiores amplitudes de sinais (Mojica *et al*., 2001). Segundo os autores, para alguns revestimentos de alto desempenho os valores de EIE mudam muito pouco por um período de imersão menor que um ano. Desta forma, é necessário longo tempo de exposição para classificar estes revestimentos a partir de um ponto de vista de resistência à corrosão. Portanto, avaliar os parâmetros de proteção dos revestimentos em um curto prazo de tempo e, que sejam correlacionados com o comportamento ao longo prazo, é um dos grandes desafios deste tipo de estudos. O problema é mais evidente quando revestimentos intactos com alta resistência apresentam diversos desvios nos dados medidos, o que provoca falta de ajuste nos modelos de circuito equivalentes de EIE (Akbarinezhad *et al*., 2008). Esses autores, realizaram estudos EIE e revestimentos epóxidos com espessura de 1000 µm, imersos durante 90 dias em solução de NaCl 10%, aplicando amplitudes de potenciais de 5 e 400 mV em torno do potencial em

circuito aberto. Eles observaram muitas dispersões nos dados medidos com aplicação de baixos valores de amplitude de sinal no revestimento. Contudo, quando aplicaram altas amplitudes de sinal (400 mV) observaram redução na dispersão dos dados medidos. Desta forma, eles indicam que altas amplitudes nos ensaios de EIE podem ser aplicadas para avaliar revestimentos com grande espessura de camada e alta resistividade. Entretanto, amplitudes muito elevadas podem aumentar a dispersão e ocasionar a degradação do revestimento, devendo ser aplicadas com cautela para obter a melhor amplitude otimizada para a redução das dispersões nos dados medidos.

CAPÍTULO 3

Metodologia

III.1 Produção do Biopolímero

III.1.1 Coleta dos *Algal Mats*

A cianobactéria halotolerante *Phormidium sp*., foi isolada a partir de amostras de "*microbial mats"*, coletados em uma profundidade de 0 – 5 cm nos cristalizadores das salinas de Arraial do Cabo, RJ. A amostra foi avaliada por meio de lupa e de microscópio óptico com o propósito de determinar a camada no "*algal mats"* onde se localiza a cianobactéria de interesse com vista a sua remoção para posterior realização do isolamento.

III.1.2 Elaboração do Meio de Cultura BG-11

O meio de cultura (BG-11) líquido foi preparado dissolvendo todos os componentes mencionados na Tabela 02 em água do mar pré-tratada através de filtração e, posteriormente, esterilizada a 120 °C durante 20 min, possuindo pH final 7,0 e salinidade de 5000 ppm (5,0 % m/m) após seu resfriamento. Após a separação da camada de cianobactérias nos *mats* utilizando espátula, elas foram inoculadas em erlenmeyer de 250 mL de capacidade contendo 100 mL do meio de cultura sintético BG-11 (Stanier *et al*., 1971).

Tabela 02. Composição do meio de cultura BG-11 (Melo *et al*, 2011)

Componentes	Concentração (g/L)
$NaNO_3$	1,5
NaCl	15,0
K_2HPO_4	0,04
$MgSO_4.7H_2O$	0,075
$CaCl_2.2H_2O$	0,036
Na_2CO_3	0,02
$C_6H_8O_7$(Ácido Cítrico)	0,006
$C_6H_8FeNO_7$ (citrato férrico amoniacal)	0,006
EDTA	0,001
Micronutrientes (*)	1 mL / L

***** H_3BO_3: 2,86 g/L; $MnCl_2$ **.** $4H_2O$: 1,81 g/L; $ZnSO_4$ **.** $7H_2O$: 0,222 g/L; Na_2MoO_4 **.** $2H_2O$: 0,39 g/L; $CuSO_4$ **.** $5H_2O$: 0,079 g/L; $Co(NO_3)_2$ **.** $6H_2O$: 0,0494 g/L.

III.1.3 Condições de Cultivo

Cepas, contendo amostras dos *algal mats*, foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio de cultura BG-11, inclinados, sob iluminação constante (20 µmols de fotons.m^{-2}.s^{-1}) provida por lâmpadas fluorescentes e incubados em temperatura ambiente durante 20 dias. Após esse período, foram realizadas repicagens sucessivas com intervalo de 14 dias, com o propósito de separar as diferentes espécies e obter culturas unialgais. Essas culturas foram posteriormente cultivadas em erlenmeyers de 2 L, contendo 600 mL de meio líquido à temperatura ambiente.

III.1.4 Obtenção de Cultura Axênica

Para obtenção da cultura axênica de *Phormidium sp.,*amostras unialgais foram recolocadas em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio líquido. Após acompanhamento do crescimento através de microscopia óptica, as células foram precipitadas por centrifugação a 5000 x g por 10 minutos e ressuspensas em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio líquido, acrescido de um inibidor da cadeia respiratória (azida sódica na concentração final de 5 mM) e um inibidor da glicólise (fluoreto de sódio na concentração final de 50 mM), de modo que apenas o crescimento fotoautotrófico fosse permitido. Após sete dias de crescimento, na presença dos inibidores, as cianobactérias foram subcultivadas em meio líquido na ausência dos inibidores, obtendo assim culturas unialgais e axênicas, mantidas a temperatura ambiente sob iluminação constante (20 µmol de fotons.m^{-2}.s^{-1}) (Melo *et al.*, 2011).

III.2 Análise dos Exopolissacarídeos

III.2.1. Deslipidificação e Despigmentação

A deslipidificação e a despigmentação do material biológico foram realizadas previamente à extração do exopolissacarídeo, segundo o método utilizado por Cipriani (2007). Neste processo, após liofilização da biomassa, esta foi tratada com solvente clorofórmio-metanol ($CHCl_3$-MeOH, 2:1 v/v, 100 mL) em um sistema de refluxo (Extrator Soxhlet), a 70 °C durante 2 h, sendo este processo repetido por mais 2 vezes. Após este procedimento, foi realizada a extração dos polissacarídeos da biomassa residual.

III.2.2. Extração Alcalina dos Exopolissacarídeos (Judice, 1991).

À biomassa residual, obtida na etapa anterior, adicionou-se aproximadamente 200 mL de NaOH 2M. A mistura foi então mantida em agitação lenta, em agitador magnético por aproximadamente duas horas a 80 °C. Depois de decorrido esse tempo, a mistura foi centrifugada a 4000 x g por 15 minutos, o sobrenadante foi levado para etapa de purificação e o precipitado foi descartado.

III.2.3. Purificação do Exopolissacarídeos (Pelli *et al*., 2007)

Para a purificação dos exopolissacarídeos, estes foram passados em coluna de DEAE-celulose (10 x 1,5 cm) tamponada com 0,05 M de acetato de sódio (pH 5,0). A coluna foi lavada com 20 mL de 0,15 M de NaCl do mesmo tampão. Posteriormente, os EPSs aderidos à coluna foram eluídos gradualmente, com 20 mL de 2,0 M de NaCl no mesmo tampão de acetato. Os polímeros eluídos pela coluna foram exaustivamente dialisados contra água destilada e liofilizados. As frações purificadas foram passadas então, em uma coluna MonoQ-FPLC (HR 5/5) tamponada com 20 mM Tris-HCl (pH 8,0). A coluna foi lavada com 20 mL do mesmo

tampão. Os EPSs aderidos à coluna foram eluídos com um gradiente linear de salinidade variando de 0 a 3,0 mol/L de NaCl em tampão Tris:HCl. As frações obtidas foram monitoradas pelo desenvolvimento da propriedade metacromática usando 1,9-dimetil azul de metileno (Farndale *et al*., 1986). As frações foram dialisadas de forma exaustiva contra água destilada e, posteriormente liofilizadas.

III.2.4. Quantificação das Amostras

As amostras foram monitoradas pela sua propriedade metacromática, misturando-se 1 mL de uma solução de 1,9-dimetil azul de metileno com a amostra solubilizada e medindo a 525nm (Farnadale *et al*., 1986). As hexoses foram determinadas pela reação de Dubois (Dubois *et al*., 1956), sendo a massa seca determinada pela pesagem do material liofilizado.

III.2.5 Avaliação dos Grupos Funcionais por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise espectroscópica FTIR foi realizada utilizando o espectrômetro PERKIN-ELMER 400 para determinar os grupos funcionais, com a confecção de pastilhas sólidas contendo 1 mg da amostra e 100 mg de KBr. Para obtenção dos espectros, foram aplicados comandos, normalmente permitidos para a melhora da apresentação das absorções, tais como: alinhamento de linha de base (FLAT), expansão de bandas (ABEX) e suavização de ruídos (SMOOTH), utilizando-se fatores adequados e permitido pelo usuário.

De acordo com Poliskie & Clevenger (2008), a técnica de FTIR pode ser facilmente aplicada à análise de sistemas revestimentos. Um espectro de FTIR contém uma riqueza de informações sobre os grupos químicos funcionais básicos de

uma amostra que pode ser utilizada para a identificação e avaliação das alterações químicas ocorridas como resultado de exposição ambiental ou outros fenômenos.

III.3 Incorporação do EPS nas Tintas e Produção dos Corpos de Prova

III.3.1 Incorporação do EPS nas Tintas à Base de Óxido de Nióbio (Nb_2O_5) e Óxido de Cobre (Cu_2O)

Neste trabalho avaliou-se o emprego de revestimentos à base de óxidos de cobre (tinta comercial) e epóxi à base de óxido de nióbio, com e sem incorporação do EPS para proteção do aço ao carbono frente à corrosão e à formação do biofilme bacteriano marinho. Para incorporação do EPS sólido nas tintas foi realizada a moagem deste material nas tintas em questão com uma concentração de 30 % de EPS.

Particularmente a tinta à base de óxido de nióbio foi preparada segundo o procedimento:

• Componente A: tinta com pigmento de óxido de nióbio (produto fluido de cor branca de massa específica 1,57 g/cm^3), com e sem EPS a 30 **%.** A incorporação do EPS no referido componente foi realizada por aplicação mecânica.

• Componente B: Resina epóxi (produto fluído de cor marrom) com 0,97 g/cm^3 de massa específica.

A mistura dos componentes, conforme especificação do fabricante foi realizada com 78,84 g do componente A e 24,92 g do componente B.

III.3.2 Elaboração dos Corpos de Prova.

Para a realização dos ensaios com e sem EPS incorporado aos revestimentos, foram utilizados corpos-de-prova (CP) de aço ao carbono AISI 1020

com 2,0 cm (largura) x 2,0 cm (comprimento), previamente jateados e lixados até lixa 600, desengordurados por imersão em acetona e, em seguida, secos com jatos de ar quente.

Com o objetivo de monitorar os parâmetros eletroquímicos, foi soldado um fio de cobre nos corpos de prova de modo a ser possível a realização das medidas eletroquímicas (Figura 08A). Posteriormente, os CPs foram embutidos em resina epóxi e a face exposta foi pintada (Figura 08B).

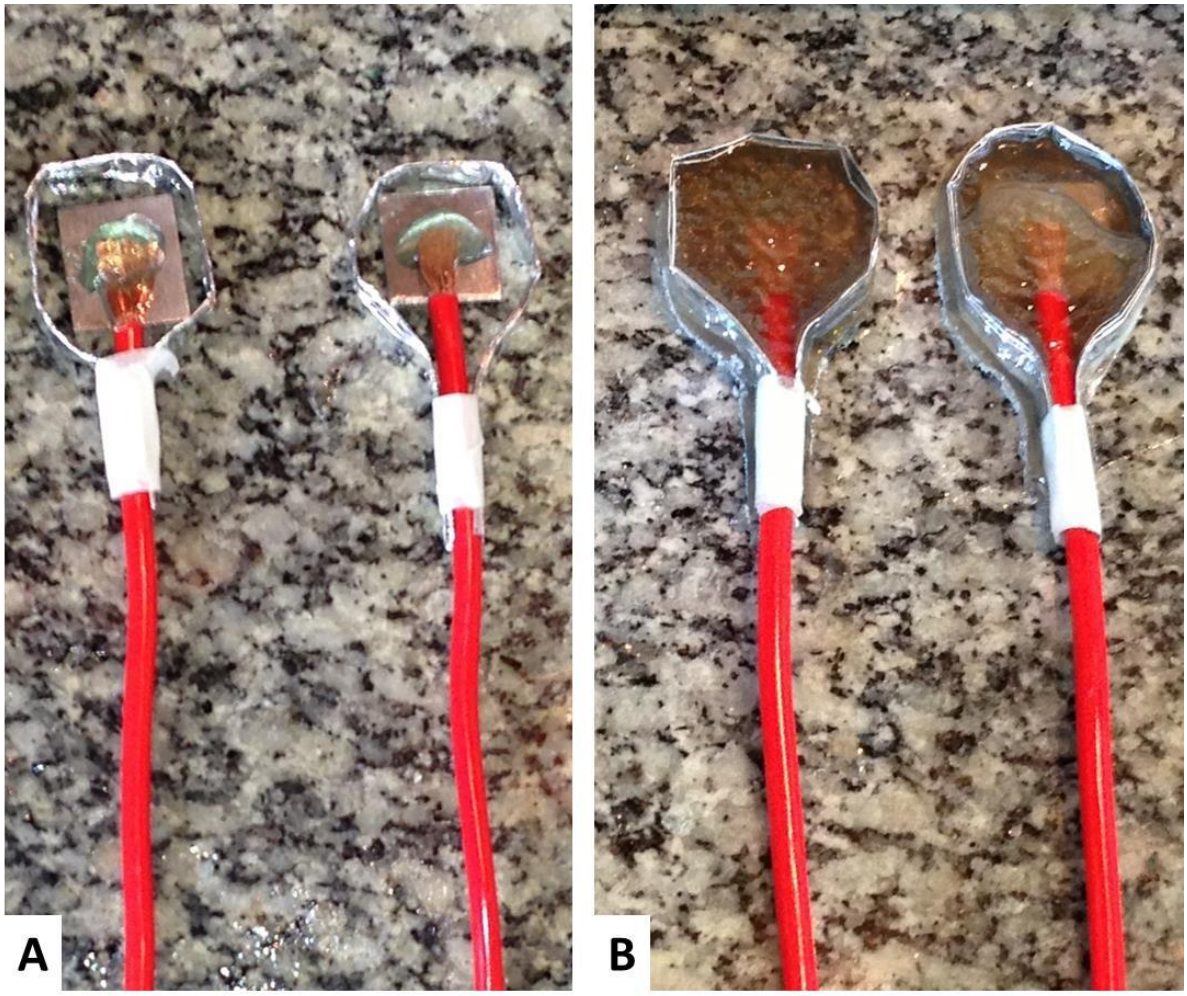


Figura 08. Confecção dos corpos de prova. (A) Fixação dos fios de cobre no aço carbono antes da imersão em resina; (B) Corpos de prova após imersão da resina isolante.

III.4 Meios Corrosivos

Para a realização dos ensaios de imersão foram utilizados três tipos de fluidos: água do mar sintética elaborada em laboratório e águas produzidas de reservatórios do pós-sal e do pré-sal, conforme Tabelas 03 e 04, respectivamente. As águas de produção foram cedidas pela PETROBRAS S.A. Os líquidos foram previamente esterilizados em autoclave à temperatura de 120°C por 15 minutos.

Tabela 03. Constituição da água do mar sintética (CENPES, 2001).

Constituinte	Concentração (g/L)
Na_2SO_4	2,8266
$CaCl_2$	0,8374
$MgCl_2.6H_2O$	7,4714
KCl	0,487
NaCl	23,3780

Tabela 04. Constituição dos fluidos de processo do Pós-sal e do Pré-sal (CENPES, 2001).

Pós-Sal		Pré-Sal	
Composição	Concentração (g/L)	Composição	Concentração (g/L)
$C_2H_3O_2^-$	0,663	B^{3+}	0,216
		HCO_3^-	0,303
Ba^{2+}	0,021	Ba^{2+}	0,041
Ca^{2+}	4,26	Ca^{2+}	3,37
Cl^-	58,587	Cl^-	109,257
Sr^{2+}	0,435	Sr^{2+}	2,31
Fe^{2+} e Fe^{3+}	0,011	Fe^{2+} e Fe^{3+}	<0,001
Mg^{2+}	0,393	Mg^{2+}	0,276
K^+	0,386	K^+	2,44
Na^+	35,3	Na^+	6,669
SO_4^{2-}	0,062	SO_4^{2-}	0,09
$HCOO^-$	0,001	Li^+	0,047
Mn^{2+}	0,0014	Br^-	0,46
Salinidade	96,582	Salinidade	180,282

Para realização do ensaio de formação do biofilme bacteriano marinho e aplicação de proteção catódica, foi utilizada água do mar *in natura* coletada na Praia de Cavaleiros em Macaé – RJ.

III.5. Avaliação da Formação do Biofilme através de Microscopia Eletrônica de Varredura: com e sem aplicação de Proteção Catódica

Para avaliação da influência proteção catódica e EPS na formação do biofilme bacteriano marinho, foram realizados ensaios que consistiram na aplicação de corrente galvânica, através de anodos de ligas de alumínio, conforme esquema apresentado na Figura 09.

Os corpos de prova revestidos foram imersos em água do mar *in natura* por um período total de 7 dias. Metade dos corpos de prova foram submetidos à corrente catódica galvânica (vide Tabela 05). Estes ensaios foram conduzidos em um recipiente com 20 L de capacidade, com 18 L de água do mar *in natura* sem agitação. Antes do experimento, o recipiente foi desinfectado por imersão em solução de 5 g/L de metabissulfito de sódio, sendo a seguir lavado por cinco vezes com água destilada para total remoção do desinfetante. Para montagem do sistema experimental, os corpos-de-prova foram suspensos em uma estrutura externa de PVC, de forma que o aço ao carbono revestido ficasse imerso na água do mar e o contato elétrico ficasse disponível fora da água do mar para aplicação da proteção catódica (PC) por anodos de sacrifício (alumínio) quando necessário (Figura 10). A cuba foi mantida à temperatura ambiente, sendo que a cada 48 h, foram trocados 10 litros de água do mar do experimento por “nova” água do mar *in natura*, com o

propósito de manter as condições nutricionais mínimas para garantir a viabilidade celular.

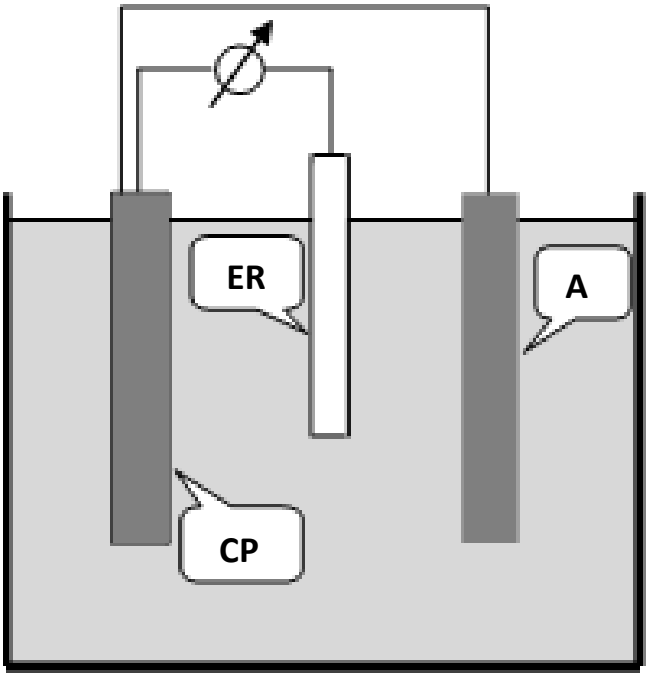


Figura 09. Sistema de proteção catódica galvânica, onde (A) é o anodo de alumínio, (CP) o corpo de prova e (ER) eletrodo de referência.

Figura 10. Ensaio laboratorial para avaliação da formação do biofilme marinho com e sem aplicação de proteção catódica.

Ao final do ensaio (7º dia), foram realizadas fotos por Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV, da superfície dos diferentes corpos-de-prova de cada condição estabelecida (Tabela 05), com o objetivo de visualizar as superfícies colonizadas com as bactérias formadoras do biofilme marinho.

Tabela 05. Descrição dos sistemas analisados (+: presença e -: ausência).

Ensaio	Corpos de Prova	Proteção Catódica	EPS
01	Tinta Cu_2O	-	-
02	Tinta Cu_2O	+	-
03	Tinta Cu_2O	-	+
04	Tinta Cu_2O	+	+
05	Tinta Nb_2O_5	-	-
06	Tinta Nb_2O_5	+	-
07	Tinta Nb_2O_5	-	+
08	Tinta Nb_2O_5	+	+

III.6 Análise dos Revestimentos por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

Foram realizadas medidas de impedância eletroquímica nos corpos-de-prova revestidos com diferentes combinações de tintas e variando: a amplitude de potencial aplicado em 10 mV e 350 mV, a incorporação do EPS nos revestimentos, imersão em 3 fluidos de trabalho estéreis: água do mar sintética e água de produção do pós-sal e pré-sal para avaliação no tempo 0 e após 144 dias de imersão.

A impedância foi medida em função do tempo de imersão, com regulação potenciostática no potencial de corrosão. O instrumental empregado constituiu–se de uma célula de três eletrodos, acoplados ao potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT30 em gaiola de Faraday (Figura 11). A faixa de frequência corrida foi de 100000 Hz a 0,01 Hz. O eletrodo de referência usado foi o de calomelano saturado e

um contra eletrodo de platina. Os resultados obtidos serão apresentados na forma de diagramas de Nyquist e Bode.

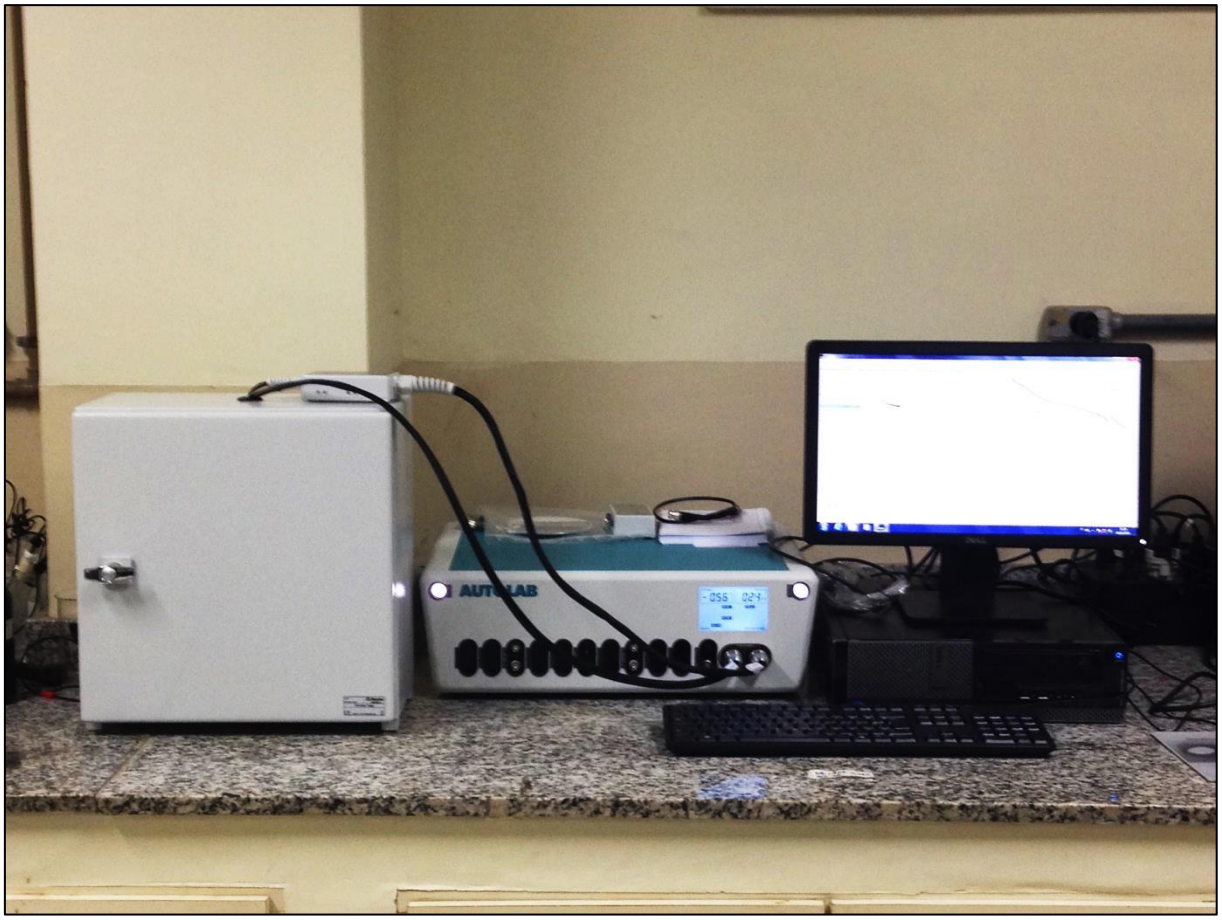


Figura 11. Instrumental empregado na realização dos ensaios de EIE, com célula de três eletrodos em gaiola da Faraday, acoplados ao potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT30.

CAPÍTULO 4

Resultados e Discussão

IV.1 Isolamento e Cultivo da Cianobactéria *Phormidium sp.*

Trabalhos anteriores demonstram o grande recurso biotecnológico vinculado aos EPS das cianobactérias, tais como *Cyanospira capsulata* (Cesàro *et al*., 1990) e *Aphanothece halophytica* (Morris *et al*., 2001) que apresentam comportamento de viscosidade semelhante à xantana. As células de grande parte das cianobactérias são rodeadas por uma camada externa mucilaginosa essencialmente constituída por material polissacarídico. Em atóis da Polinésia Francesa, os *algal mats* se desenvolvem em lagoas marinhas expostas à flutuação da salinidade com elevada irradiação solar (Richert *et al*., 2005) (Figura 12). A cianobactéria *Phormidium sp.*, coletada de amostras de "*microbial mats*", foi avaliada por meio de lupa e de microscópio óptico com o propósito de determinar a camada nos *mats* onde se localiza a cianobactéria de interesse com vista a sua remoção para posterior realização do isolamento.

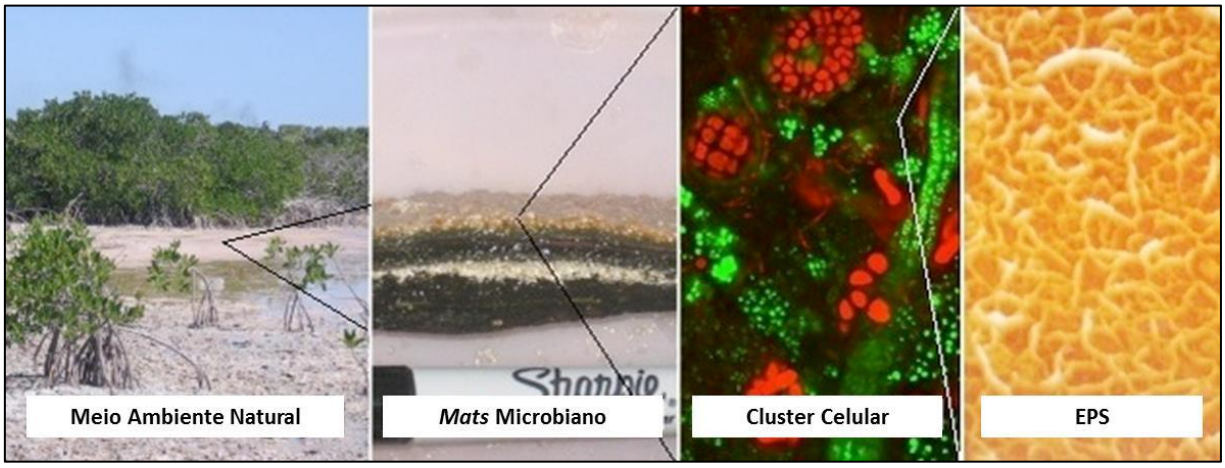


Figura 12. Representação esquemática da localização dos *algal mats* proposto por Ikuma *et al*. (2013), onde da esquerda para a direita é apresentada a localização dos *algal mats* no meio ambiente, localização da camada de bactérias e cianobactérias nos *algal mats*, aspecto do consórcio bacteriano na camada de interesse e fotomicrografia do EPS.

Para obtenção da cultura axênica de *Phormidium sp*.,amostras unialgais foram recolocadas em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio líquido. Após acompanhamento do crescimento através de microscopia óptica, as células foram precipitadas por centrifugação a 5000 x g por 10 minutos e ressuspensas em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio liquido, acrescido de um inibidor da cadeia respiratória (azida sódica na concentração final de 5 mM) e um inibidor da glicólise (fluoreto de sódio na concentração final de 50 mM), de modo que apenas o crescimento fotoautotrófico fosse permitido. Apos sete dias de crescimento, na presença dos inibidores, as cianobactérias foram subcultivadas em meio líquido na ausência dos inibidores, obtendo assim culturas unialgais e axênicas, mantidas a temperatura ambiente sob iluminação constante (20 µmols de fotons.m^{-2}.s^{-1}) (Figura 13).

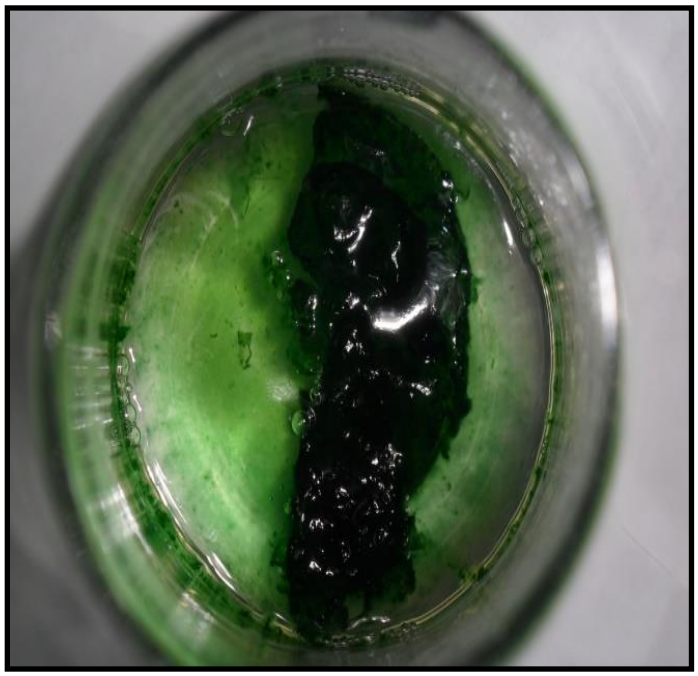


Figura 13. Aspecto macroscópico do cultivo unialgal e axênico de Phormidium sp.

IV.2 Produção Biotecnológica de EPS.

Em cultura no laboratório, *Phormidium sp*. (Figura 14) teve uma produtividade de EPS de aproximadamente 400 (± 15,38) $mg.L^{-1}$ em cultura com um rendimento de extração de 32 (± 0,8) %.

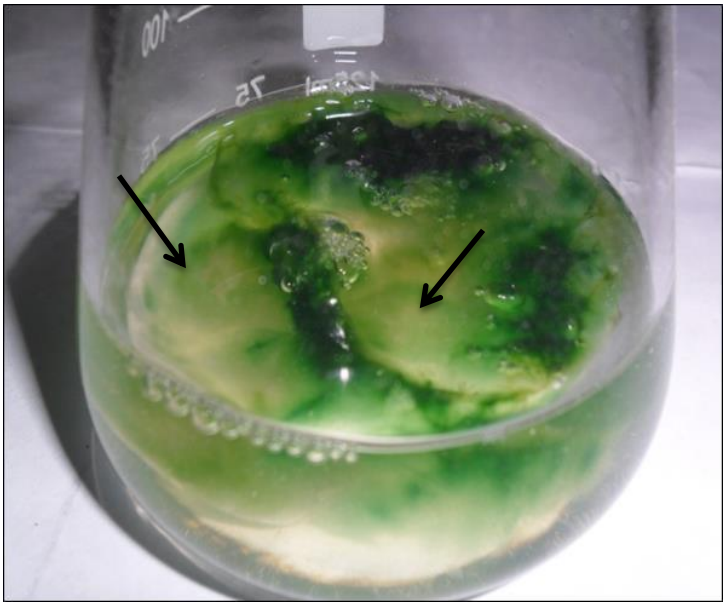


Figura 14. Aspecto do EPS produzido pela cianobactéria *Phormidium sp*. em cultura.

Os grupos funcionais de EPS foram identificados por análise de infravermelho. A Figura 15 mostra o espectro de FTIR do EPS de *Phormidium sp*., obtidos a partir da extração alcalina com os diferente picos de transmitância representando os principais grupos funcionais.

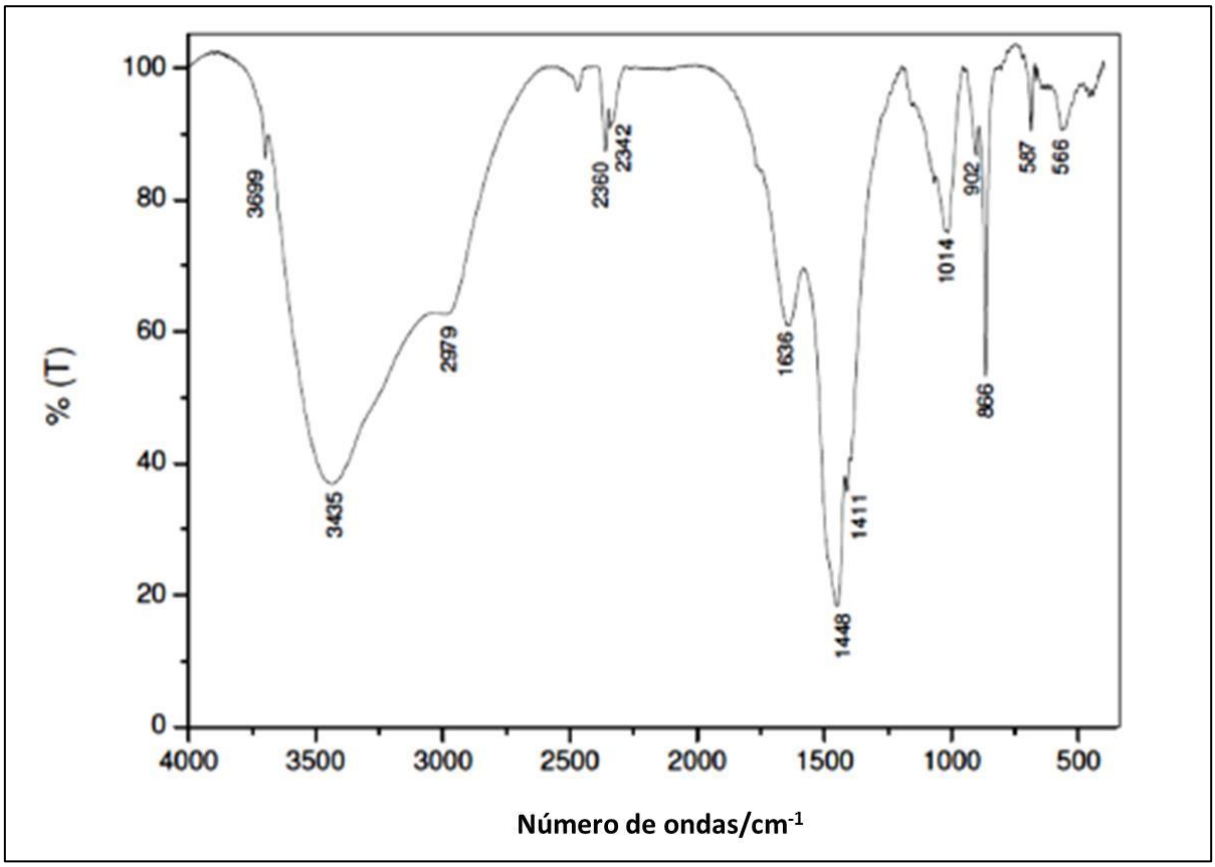


Figura 15. Espectro de FTIR do EPS após deslipidificação e extração alcalina.

O pico a 3699 cm^{-1} é atribuído à ligação O – H livre de ligações de hidrogênio. O pico a 3435 cm^{-1} corresponde à ligação O – H associado a interações poliméricas e o pico a 2979 cm^{-1} é atribuído à ligação C – H de alifáticos. Dois picos a 2360 e 2342 cm^{-1} são atribuídos à ligação C = O do CO_2 do compartimento da amostra. Pico a 1636 cm^{-1} é designado como a ligação C = O de amidas N, N-substituídas. O pico a 1448 cm^{-1} está associado à deformação angular de N – H de aminas e amidas secundárias. O pico a 1411 cm^{-1} é atribuído à deformação angular de $-CH_2$ adjacente à carbonila. O pico a 1014 cm^{-1} é resultado da ligação C – O de álcoois secundários. O pico a 866 cm^{-1} pode ser atribuído à ligação S – O de grupos sulfatos. Esses apontamentos são confirmados com o desenvolvimento da mudança de cor pela propriedade metacromática dos grupos aniônicos presentes no EPS (Figura 16).

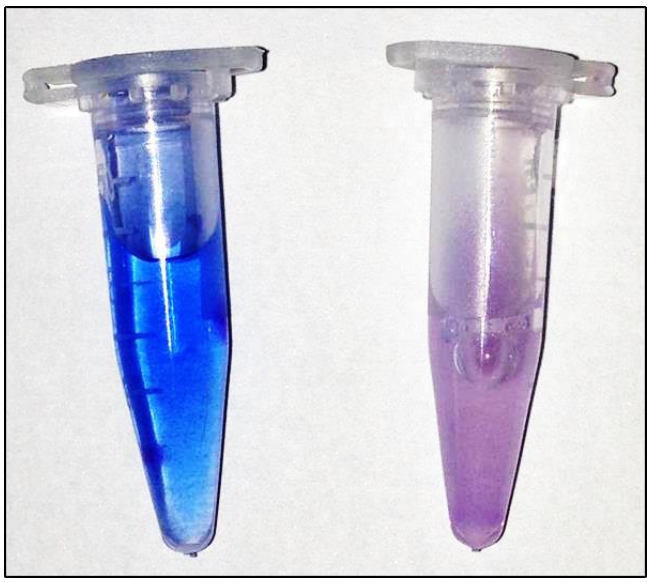


Figura 16. Reação metacromática indicando à presença de EPS aniônico visto a mudança da coloração de azul (esquerda) para violeta (direita) na presença do EPS.

Wang *et al*. (2012) realizaram estudos de comportamento do EPS, de *Bacillus megaterium*, isolados do solo em diferentes pHs. O espectro de EPS obtido pelos autores após purificação (Figura 17) apresenta similaridade do perfil espectral com o obtido em nosso trabalho com *Phormidium sp*., sendo observada pouca diferença na composição orgânica do EPS.

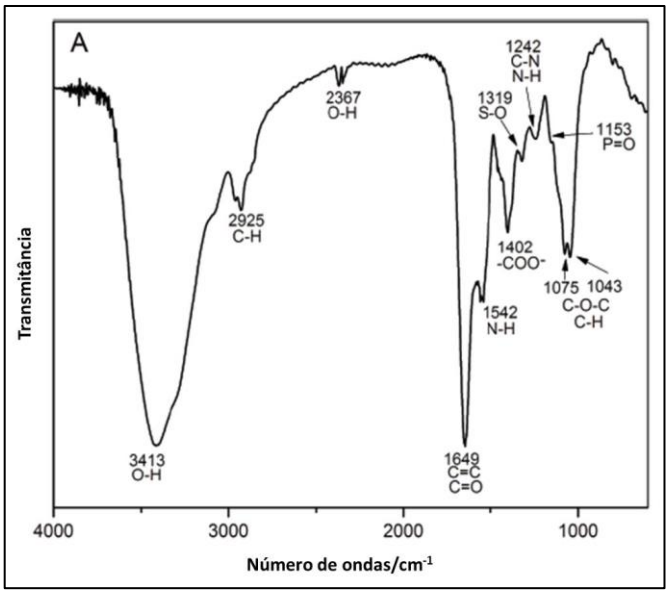


Figura 17. Espectro do EPS de Bacillus *megaterium* após purificação (Wang *et al*., 2012)

IV.3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica - EIE.

Os ensaios de impedância eletroquímica foram realizados nos corpos de prova pintados no instante zero e após imersão por 144 dias em água do mar sintética e águas de produção do pós e pré – sal. Além da aplicação da técnica clássica, ou seja, com a amplitude de 10mv em torno do potencial de circuito aberto, foram realizados ensaios com a aplicação de 350mV, baseado na literatura. Como já apresentado na revisão bibliográfica, Akbarinezhad *et al*. (2008) estudaram a aplicação de maior amplitude de sinal ao se analisar revestimentos a base de poliéster com espessura da película seca de 1000 µm, aplicando amplitudes de 5 e 400 mV.

A seguir serão apresentados os resultados obtidos nas seguintes condições:

- Meios: água do mar sintética e águas de produção do pós-sal e pré-sal.
- Tipos de revestimentos: tinta orgânica a base de Cu_2O com e sem EPS e tinta orgânica a base de Nb_2O_5 com e sem EPS.

Amplitude de sinal: 10 e 350 mV em torno do potencial em circuito aberto (OCP);

Tempo de ensaio: 0 e 144 dias

Os resultados totalizam 96 diferentes sistemas que serão apresentados em diagramas de Nyquist e Bode.

IV.3.1. Tinta a Base de Óxido de Cobre.

- **Ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV**

Na Figura 18 e 19 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 18A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 19A e B).

De acordo com Akbarinezhad *et al*. (2008) os revestimentos em tempos iniciais de imersão se comportam geralmente como uma camada intacta, sendo representados como uma reta perpendicular ao eixo –Z" (eixo real) no gráfico de Nyquist e ângulo de fase de 90° constante até frequências de 0,1 Hz no gráfico de Bode. Desta forma, estas características estão relacionadas a altos valores de impedância do revestimento. Entretanto, nos primeiros momentos de imersão, os sistemas não estão em equilíbrio, pelo que quaisquer conclusões retiradas a partir de medições efetuadas nesse período, devem ser feitas com cuidado e tidas apenas como indicadores.

A análise do sistema inicial (Figura 18A) indica uma contribuição de elementos capacitivos ao total da impedância nos momentos iniciais de imersão, sendo representado, no gráfico de Bode, por valores do ângulo de fase próximos de 90° nas regiões de altas frequências, com valores de impedância crescentes (Figura 18B). Desta forma, o revestimento se apresenta como uma barreira a permeação da água e eletrólitos. Entretanto, só é possível visualizar medições sem dispersão até valores de frequência na ordem de 1000 Hz (Figura 18B). Nas frequências menores que 1000 Hz não foi possível obter valores confiáveis, sendo representados nos gráficos de Nyquist e Bode pela dispersão gráfica. Segundo Silverman (1990), os sistemas eletroquímicos com este tipo de comportamento dispersivo são denominados "sistemas pobremente definidos" (*poorly defined system*). Este autor afirma que, para estes sistemas, ensaios de espectroscopia de impedância eletroquímica podem ser realizados desde que sejam consideradas somente respostas em altas frequências. Estas observações para o revestimento orgânico com pigmento de Cu_2O é análogo a outros revestimentos orgânicos imersos em água do mar, conforme demonstrado por Jie *et al*. (2013).

O valor do potencial em circuito aberto (OCP) encontrado no início e após 144 dias de imersão em água do mar foi modificado de -0,260 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,431 $V_{Ag/AgCl}$, evidenciando um processo de degradação do revestimento. Quando uma tinta fica exposta a um eletrólito, a sua capacidade elétrica aumenta devido à absorção de água por parte da película e a resistência diminui devido à penetração do eletrólito nos poros e locais mais acessíveis da tinta (Amirudin & Thierry, 1996). Segundo Nagiub (2004), o processo de permeação de água e eletrólitos é observado quando, na região de altas frequências, os valores do ângulo de fase são menores que 60°. Podemos observar que, após 144 dias de imersão em água do mar sintética, o revestimento teve uma redução nos valores do ângulo de fase nas regiões de altas frequências, caracterizando uma diminuição da propriedade de barreira do material. Além disso, não é observada dispersão nos valores medidos nas diferentes frequências, o que caracteriza que o sistema não está bloqueando o potencial aplicado (Figura 19A). De acordo com Amirudin & Thierry (1996), a frequência com que o ângulo de fase cai para 45° é denominada frequência de interrupção e, representa uma medida da área de descolamento. Podemos observar no gráfico de Bode (Figura 19B), na frequência logo abaixo de 100000 Hz, temos a mudança no ângulo de fase para 45° evidenciando a perda por descolamento da camada mais externa do revestimento, isto é, a camada antifouling da tinta de cobre.

Além disso, com o aumento da constante dielétrica devido à absorção de água, redução da resistividade global do material e desenvolvimento de defeitos no revestimento, quando o ângulo de fase está com o valor mínimo encontrado para o material degradado, a frequência associada representa a área delaminada. No início da região de médias frequências, o ângulo de fase está aproximadamente com valor de 0°, o que representa que a tinta não está bloqueando a permeação de água e eletrólitos, indicando uma possível delaminação da camada interna, isto é,

anticorrosiva do revestimento. Associado a isso, observamos que após 144 dias de imersão os valores de impedância reduzem significativamente e, é constante nas diferentes frequências analisadas.

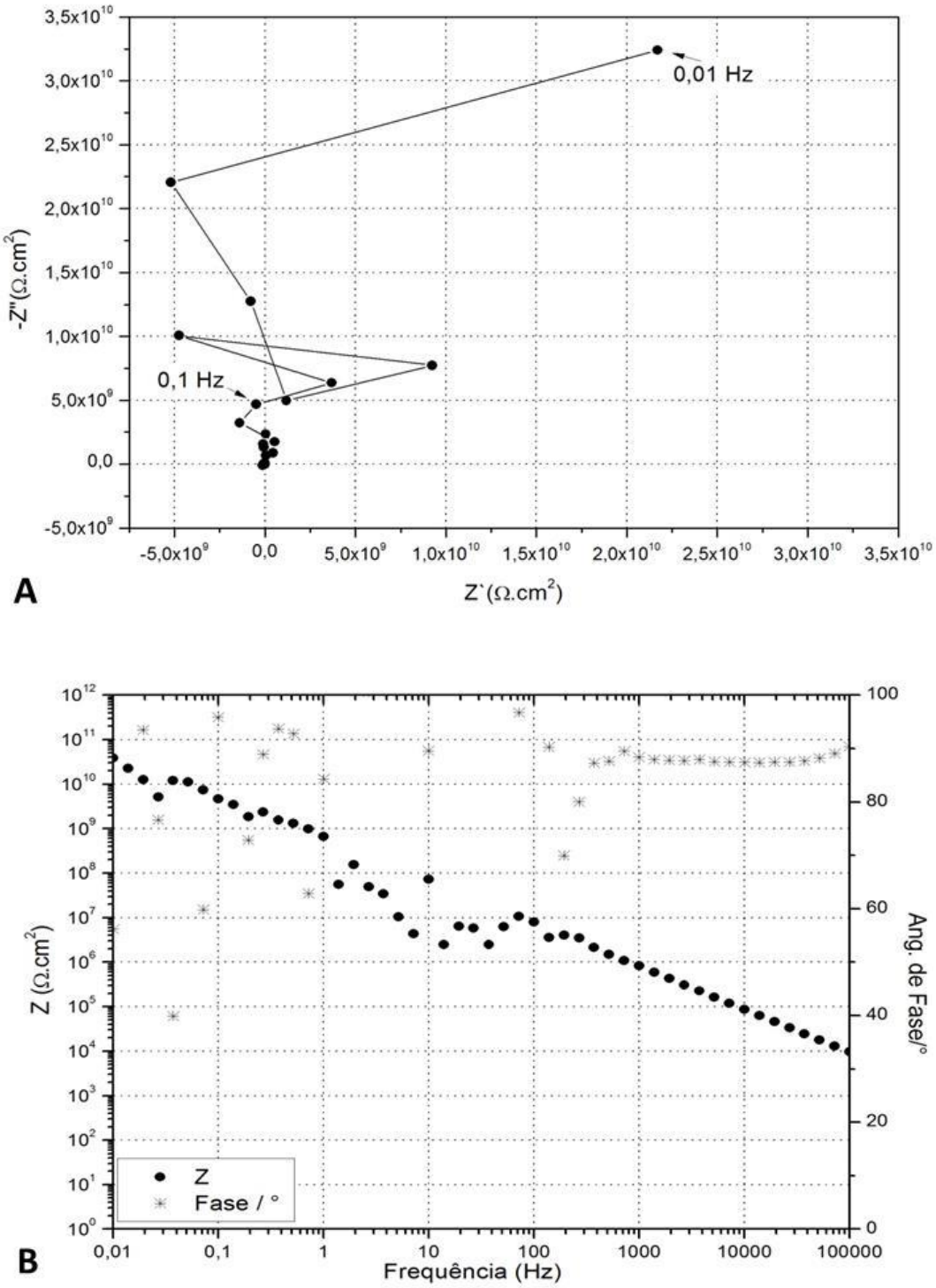


Figura 18. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

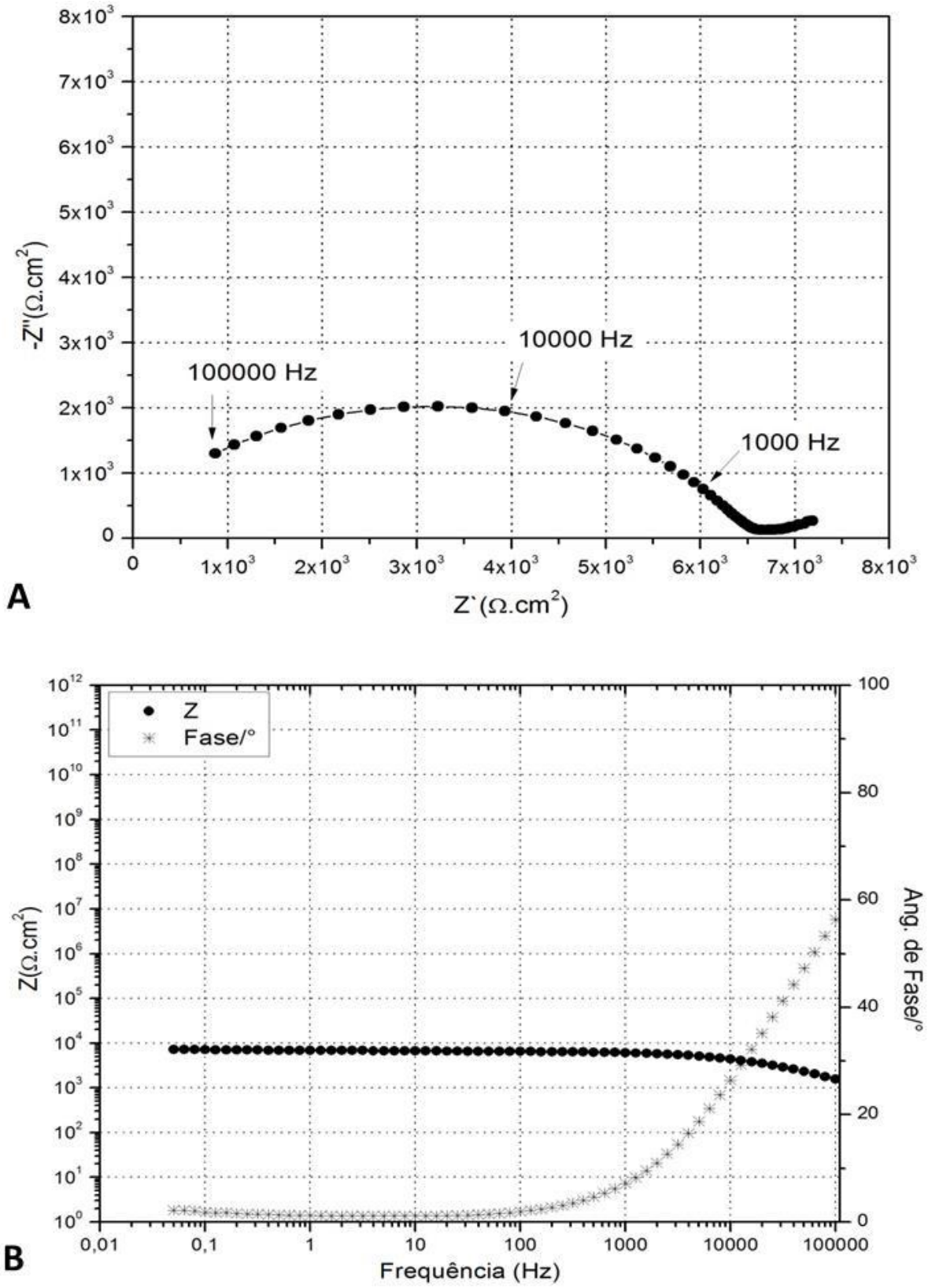


Figura 19. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

A região de baixas frequências está associada à formação de uma segunda constante de tempo, onde o valor da impedância representa a impedância da dupla camada elétrica sendo resultante da soma da resistência à transferência de carga e a resistência a transferência de massa. Observando o gráfico de Nyquist (Figura 19A) é possível observar apenas o início da segunda constante de tempo. Entretanto, observando o gráfico de Bode nesta região, vimos que não há mudança no valor de impedância e ângulo de fase, indicando uma baixa resistência a transferência de carga. Na Figura 20, é apresentado o aspecto macroscópico dos corpos de prova antes da imersão e após 144 dias de imersão.

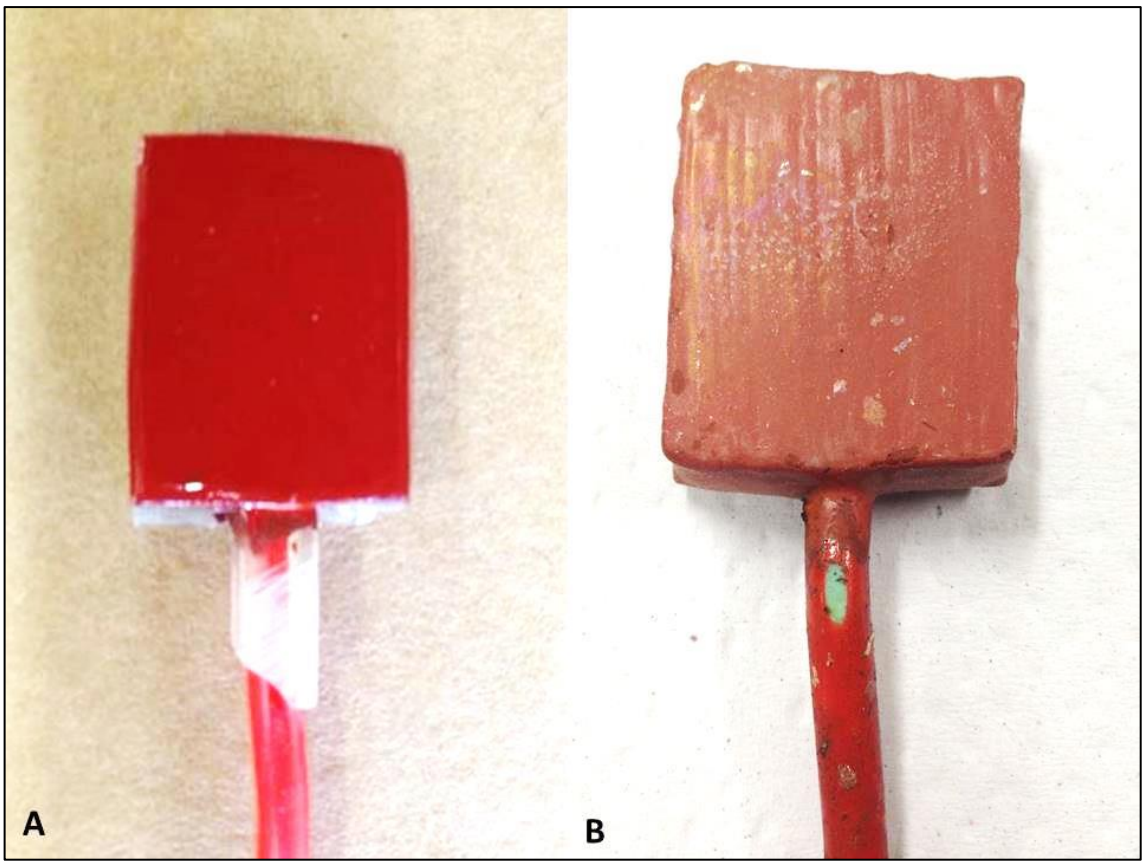


Figura 20. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Cu_2O: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética.

Nas Figuras 21 e 22 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referentes ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O com EPS em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 21A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 22A e B).

Observando os gráficos de Nyquist (Figura 21A) e Bode (Figura 21B) após a incorporação do EPS, não é observada diferença quanto ao comportamento capacitivo nos momentos iniciais de imersão quando comparado com a condição inicial do revestimento na ausência do EPS.

O valor do OCP encontrado no início da imersão em água do mar para o revestimento de Cu_2O incorporado com EPS foi o mesmo obtido para o revestimento na ausência do EPS, isto é, -0,260 $V_{Ag/AgCl}$. Após 144 dias o valor do OCP diminuiu para -0,514 $V_{Ag/AgCl}$, evidenciando um processo de maior corrosão do sistema revestimento/aço carbono quando comparado ao valor final de OCP do sistema sem EPS.

Após 144 dias de imersão em água do mar sintética, podemos observar que na frequência de 100000 Hz o ângulo de fase é 20°, representando que a camada mais externa do material está com um alto nível de descolamento. Da mesma forma que apresentado na ausência do EPS, não é observada dispersão nos valores medidos nas diferentes frequências, o que caracteriza que o sistema não está bloqueando o potencial aplicado (Figura 22A).

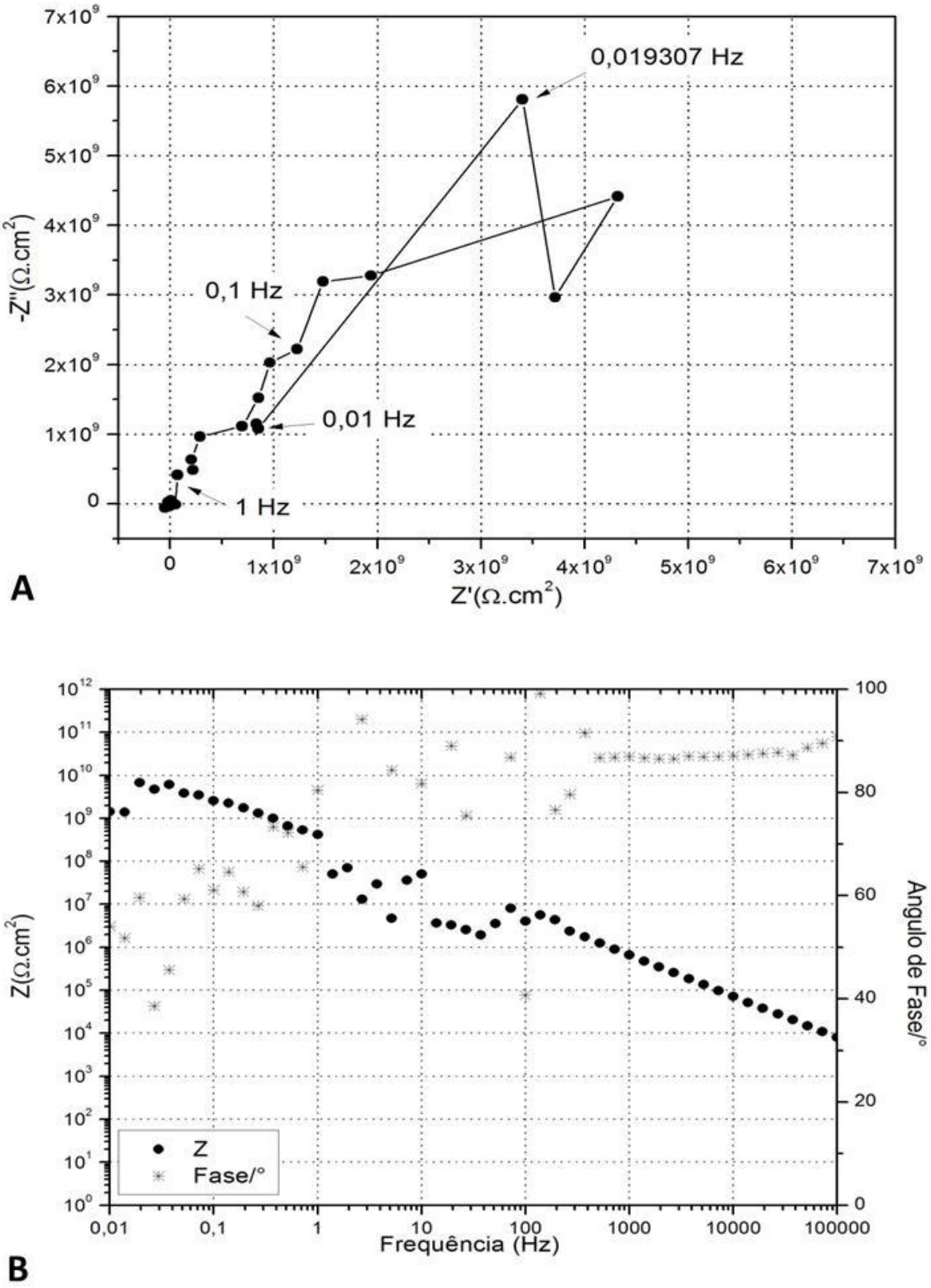


Figura 21. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 0 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Podemos observar no gráfico de Bode (Figura 22B), um valor maior do ângulo de fase nas regiões de média e baixa frequências, quando comparado com os valores do revestimento na ausência do EPS. Entretanto, os valores do ângulo de fase encontrado são muito baixos, o que representa que a tinta não está bloqueando a permeação de água e eletrólitos, indicando uma possível delaminação da camada interna, isto é, anticorrosiva do revestimento. Associado a isso, observamos que após 144 dias de imersão os valores de impedância encontrados são os mesmos valores medidos para o sistema na ausência de EPS. Na Figura 23, é apresentado o aspecto macroscópico do corpo de prova incorporado com EPS, antes e após 144 dias de imersão em água do mar sintética.

Os resultados da EIE com amplitude de sinal de 10 mV indicam que a adição do EPS não alterou o mecanismo de degradação do revestimento por ação química e eletroquímica do meio. Entretanto, observamos que o revestimento contendo EPS, possui uma mudança na sua superfície, após 144 dias de exposição à água do mar, indicando uma maior formação de produtos de corrosão (Figura 23). Kear *et al*. (2004) propõem um modelo estratificado da natureza das incrustações derivadas do cobre metálico em função da concentração de oxigênio (Figura 24).

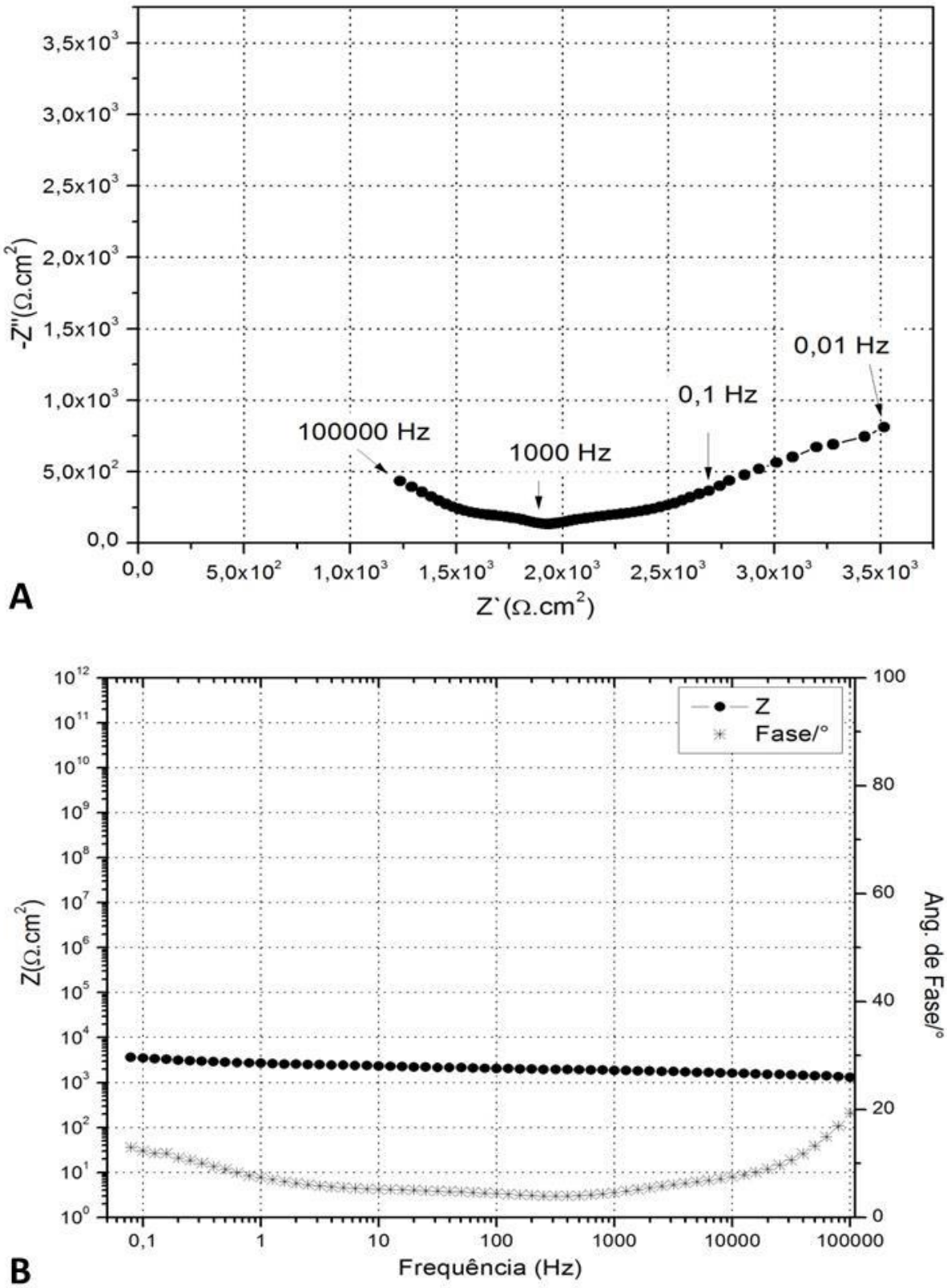


Figura 22. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

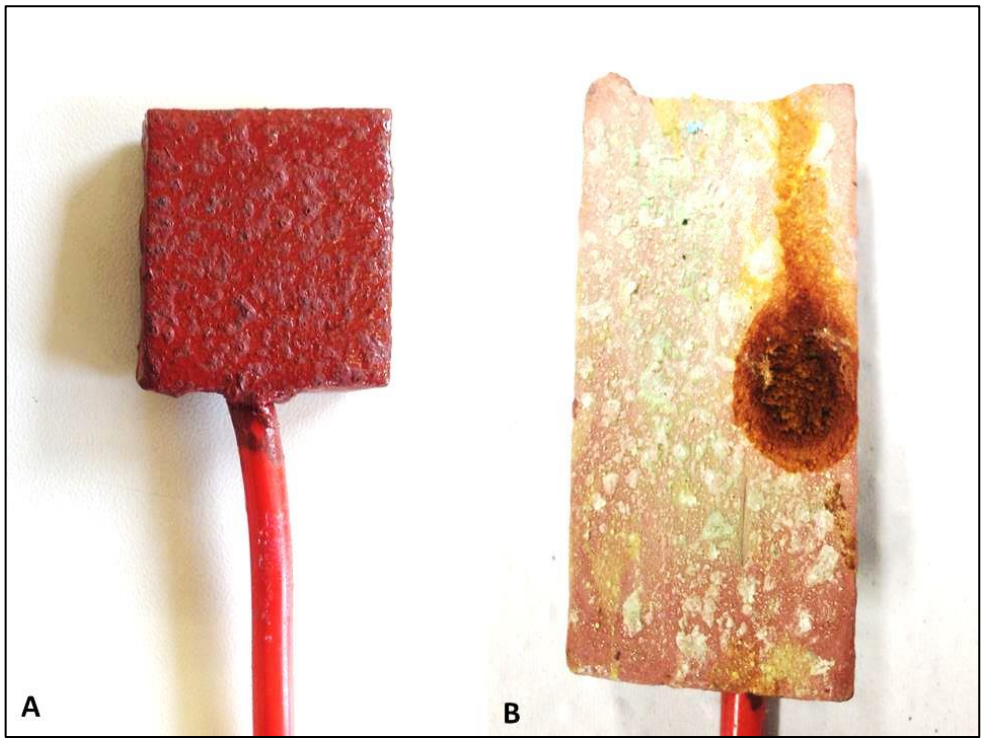


Figura 23. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Cu_2O e incorporados com EPS: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética.

Segundo o modelo proposto, os óxidos de cobre após reação com os eletrólitos da água do mar na presença de oxigênio, podem formar compostos como a atacamita ou malaquita. Da mesma forma, os produtos de corrosão encontrados no revestimento de Cu_2O contendo EPS apresentam coloração esverdeada o que indica a presença destes minerais na superfície. Para demonstrar a formação destes e outros produtos derivados do processo corrosivo do cobre, Bianchi & Longhi (1973) estudaram o comportamento termodinâmico do cobre em meio contendo cloreto e, levando em consideração o diagrama de Pourbaix (potencial / pH) do sistema Cu / H_2O / Cl, propuseram um diagrama que inclui a influência dos íons carbonato e bicarbonatos (Figura 25).

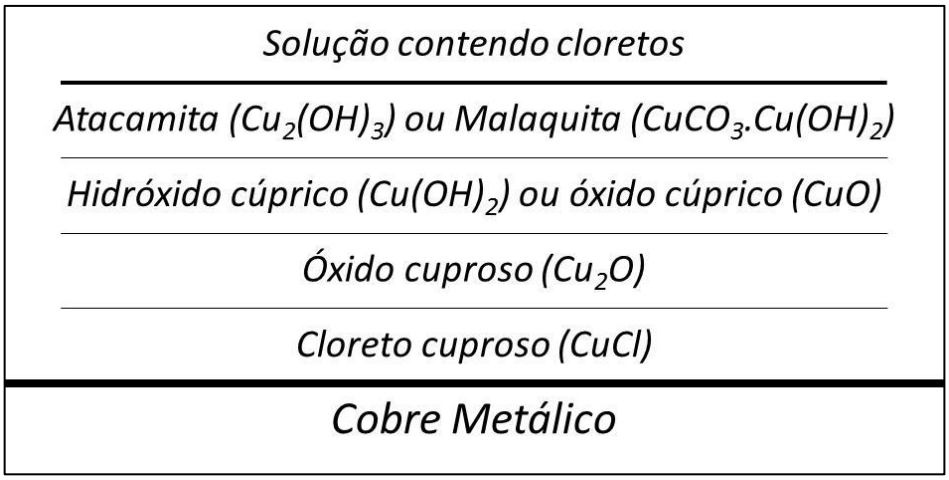


Figura 24. Esquema de estratificação geral das películas formadas pelos produtos de corrosão derivados do cobre em água do mar (Kear *et al*., 2004).

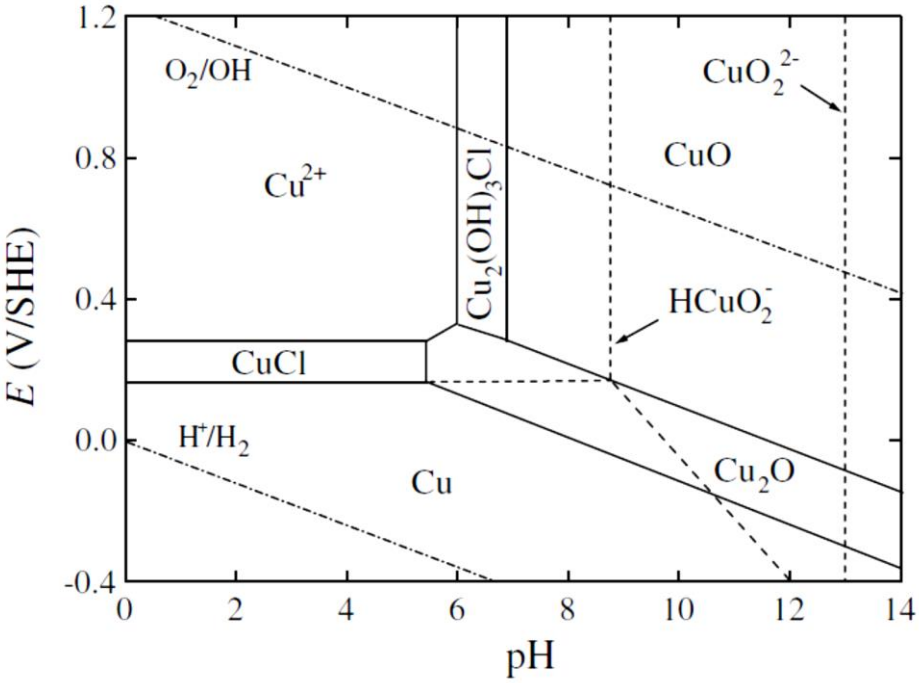


Figura 25. Diagrama E – pH do cobre em água do mar com salinidade de 3,5% a 25 °C (assumindo atividade química de 10^{-4} dos íons cúpricos e cuprosos em solução) Bianchi & Longhi (1973).

Nas Figuras 26 e 27 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 26A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 27A e B).

A análise do sistema inicial (Figura 26A e B) apresentou-se com grande dispersão em toda a faixa de frequência estudada se comportando como um sistema pobremente definido quando imerso em água de produção do pós-sal, devido ao efeito isolante do revestimento.

Devido à degradação da tinta de Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal (Figura 28), no gráfico de Nyquist (Figura 27A), podemos observar a formação de diferentes constantes de tempo, o que leva a crer que estejam formando poros no revestimento. O valor do potencial em circuito aberto encontrado para o revestimento inicial foi maior quando comparado com os demais ensaios realizados com os diferentes revestimentos a base de óxido de cobre em água de produção do pós-sal, sendo de 0,515 $V_{Ag/AgCl}$. As observações do comportamento no revestimento de Cu_2O após 144 dias de imersão, corroboram com a redução brusca no valor final de OCP, sendo de -0,398 $V_{Ag/AgCl}$. Avaliando o gráfico de Bode (Figura 27B), observamos que após 144 dias de imersão em água do pós-sal o sistema encontrado foi similar ao sistema de Cu_2O com EPS em água do mar sintética.

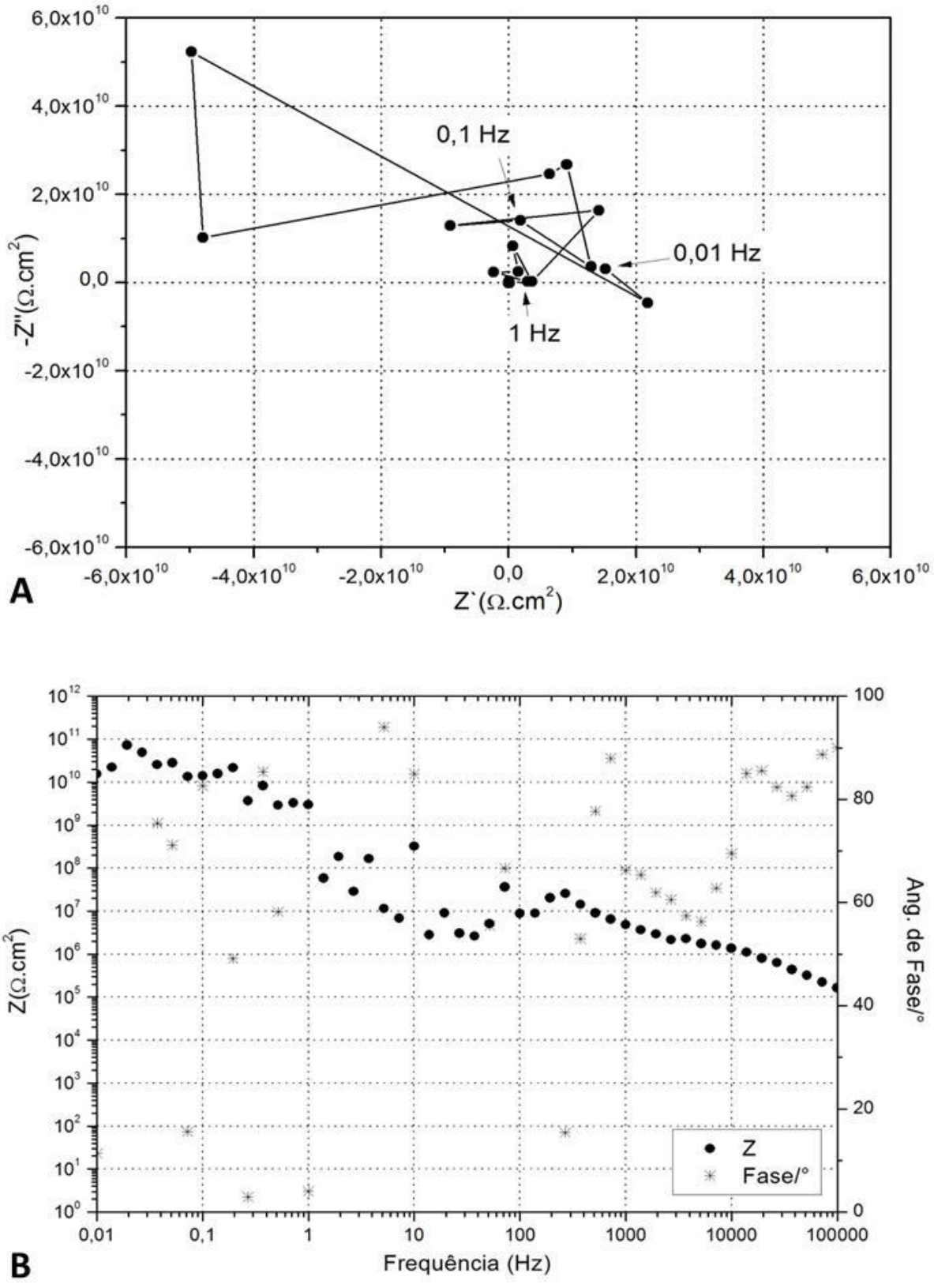


Figura 26. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

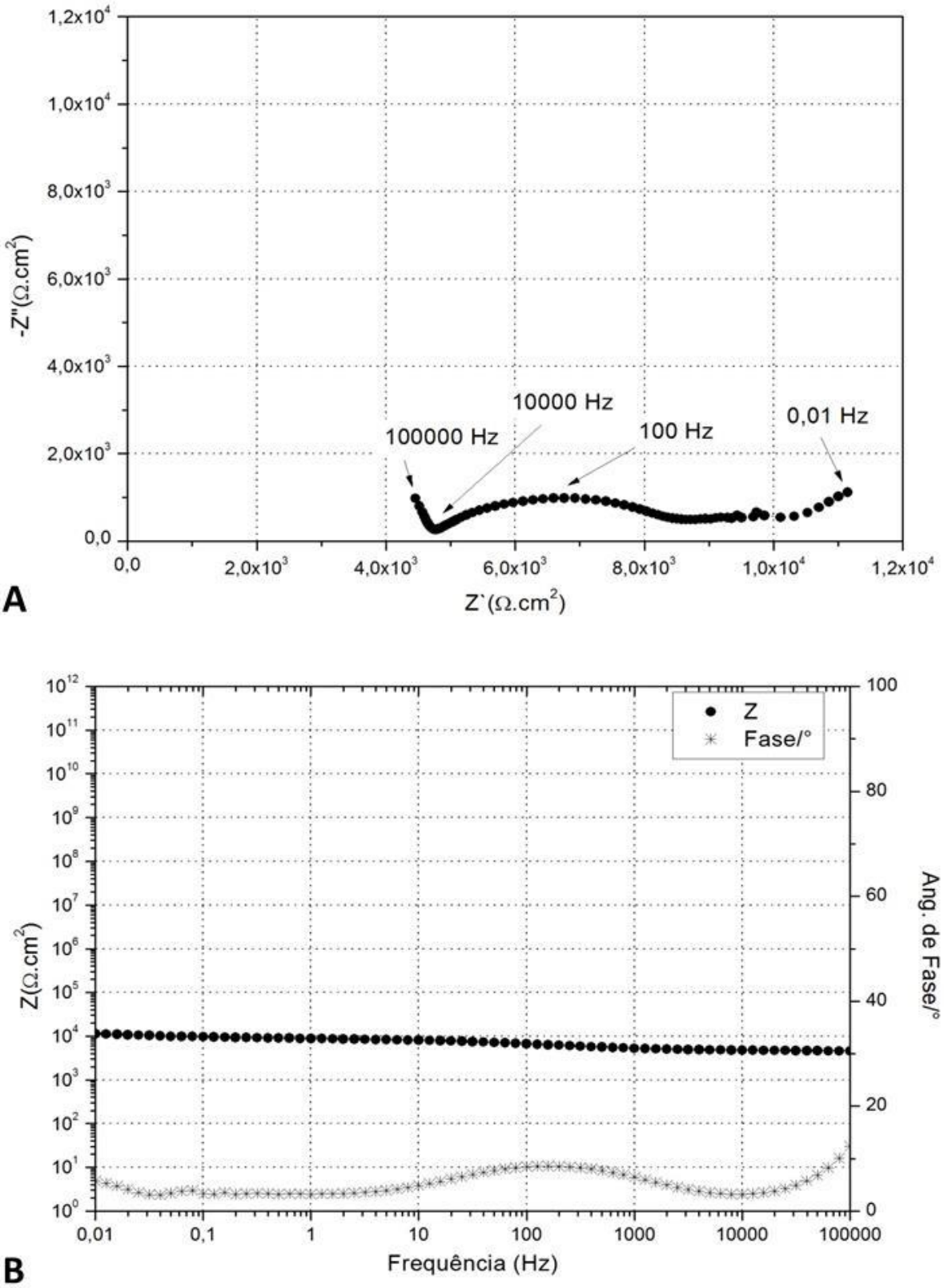


Figura 27. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Figura 28. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal.

Nas Figuras 29 e 30 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 29A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 30A e B). Devido à modificação do revestimento, podemos observar que não há o aparecimento de áreas com dispersão nos valores medidos, quando comparada à análise do revestimento na ausência de EPS.

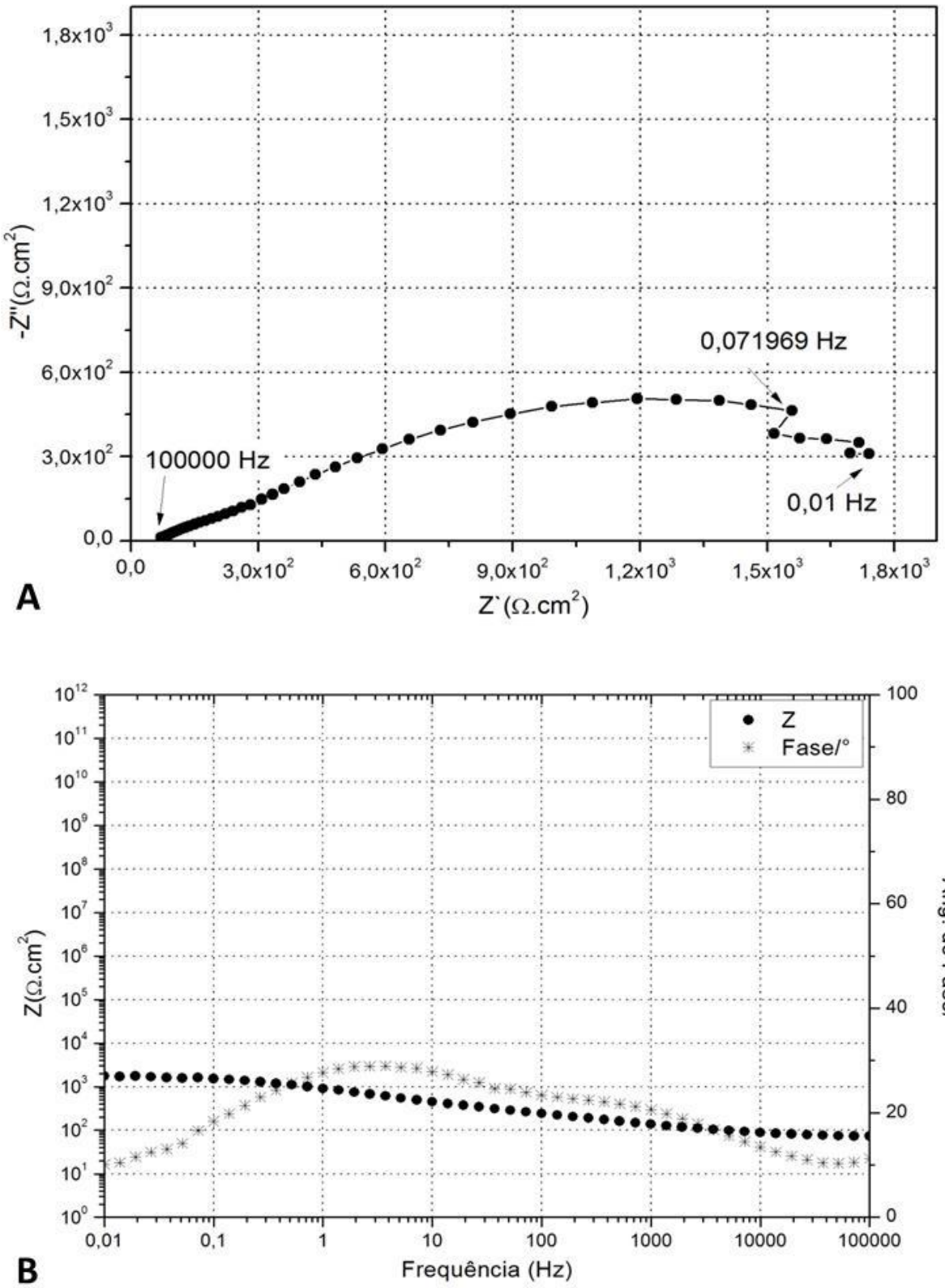


Figura 29. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

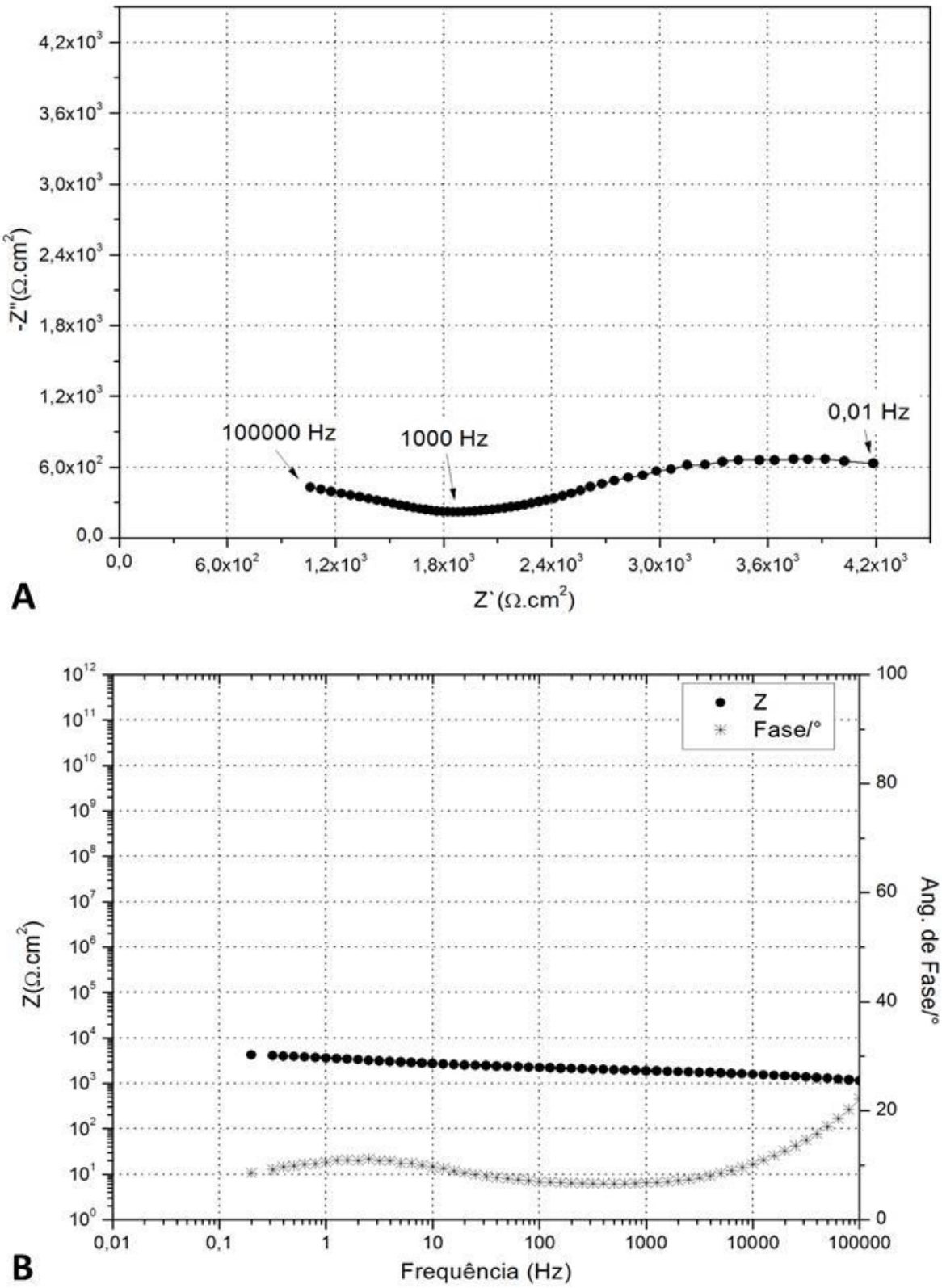


Figura 30. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Com a incorporação do EPS, podemos observar diferentes constantes de tempo no sistema inicial (Figura 29A), onde em baixas frequências se apresenta uma inflexão no gráfico no Nyquist, sendo associada a processos faradáicos. O gráfico de Bode (Figura 29B) apresenta permeação de água e eletrólitos evidenciada pelo ângulo de fase de ~10°, ocasionada pela maior salinidade do meio (2,74x maior) quando comparada a salinidade da água do mar sintética e presença do EPS.

Após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal, observamos que não houve mudança nos valores medidos inicial e final pelo potencial em circuito aberto, sendo de -0,217 $V_{Ag/AgCl}$. No gráfico de Nyquist (Figura 30A) observa-se a indicação de duas constantes de tempo inferindo a formação de poros no revestimento e evidenciado pela análise macroscópica do material (Figura 31). Avaliando o comportamento pelo gráfico de Bode (Figura 30B) não observamos uma diminuição da propriedade de barreira pelo ângulo de fase, indicando que houve uma formação de película de produtos de corrosão com porosidade, o que corrobora com os valores de potencial. Além disso, os valores de impedância não se modificaram ao longo deste ensaio. Pela coloração apresentada, estes produtos indicam a formação de óxidos de ferro. Além disso, o valor de OCP final para o ensaio com EPS foi maior quando comparado com o ensaio nas mesmas condições na ausência de EPS.

Figura 31. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal.

Nas Figuras 32 e 33 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 32A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 33A e B). A análise do sistema inicial (Figura 32A e B) apresentou-se com grande dispersão em toda a faixa de frequência estudada quando imerso em água de produção do pré-sal, devido ao efeito isolante do revestimento.

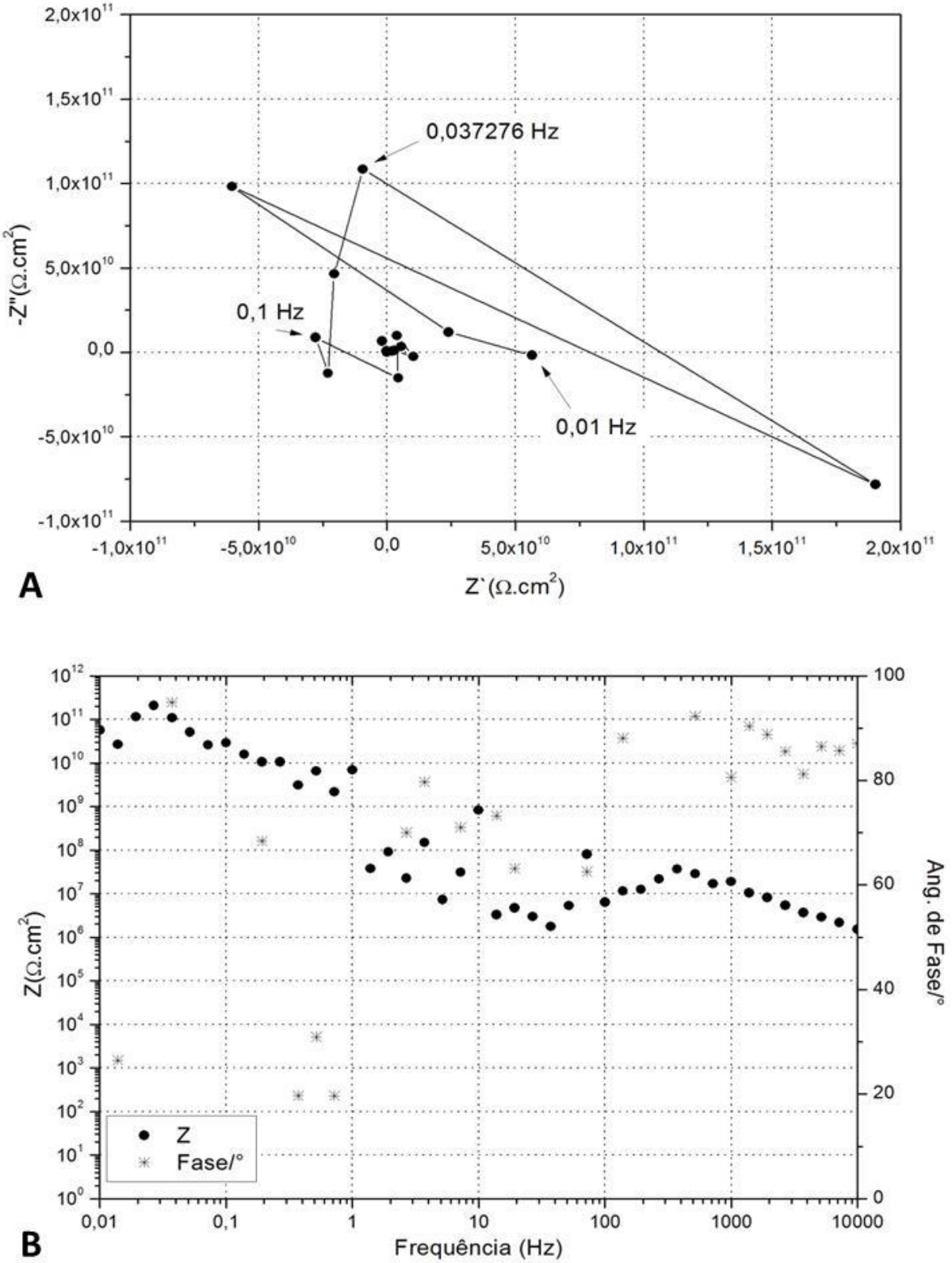


Figura 32. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

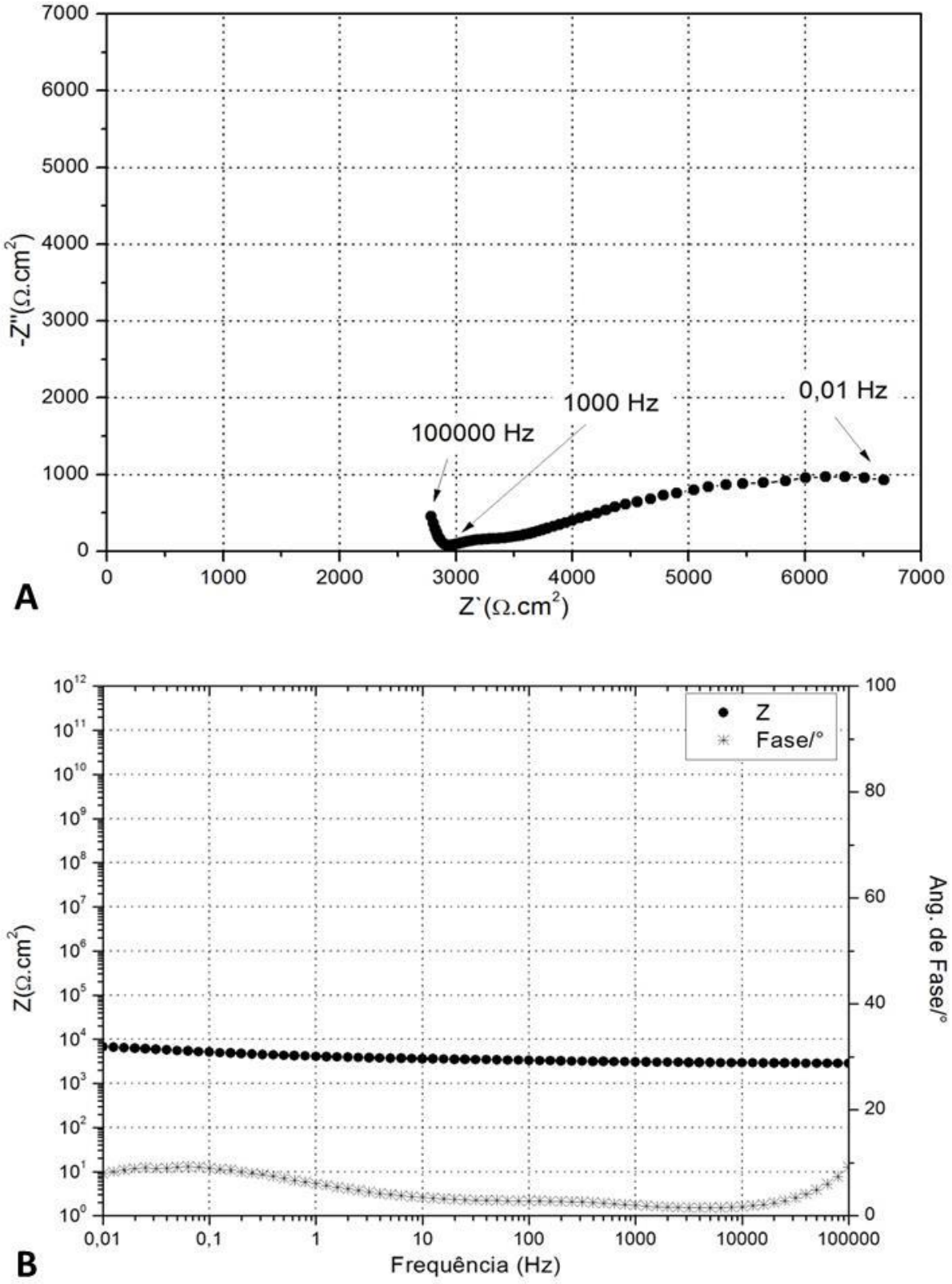


Figura 33. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal, a tinta a base de Cu_2O demonstrou o mesmo perfil de degradação do revestimento quando imerso em água de produção do pré-sal (Figura 33A e B). Da mesma forma, os valores de OCP encontrados apresentaram uma redução significativa após a degradação do revestimento passando de 0,210 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,217 $V_{Ag/AgCl}$ (Figura 34).

Figura 34. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal.

Nas Figuras 35 e 36 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 35A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 36A e B).

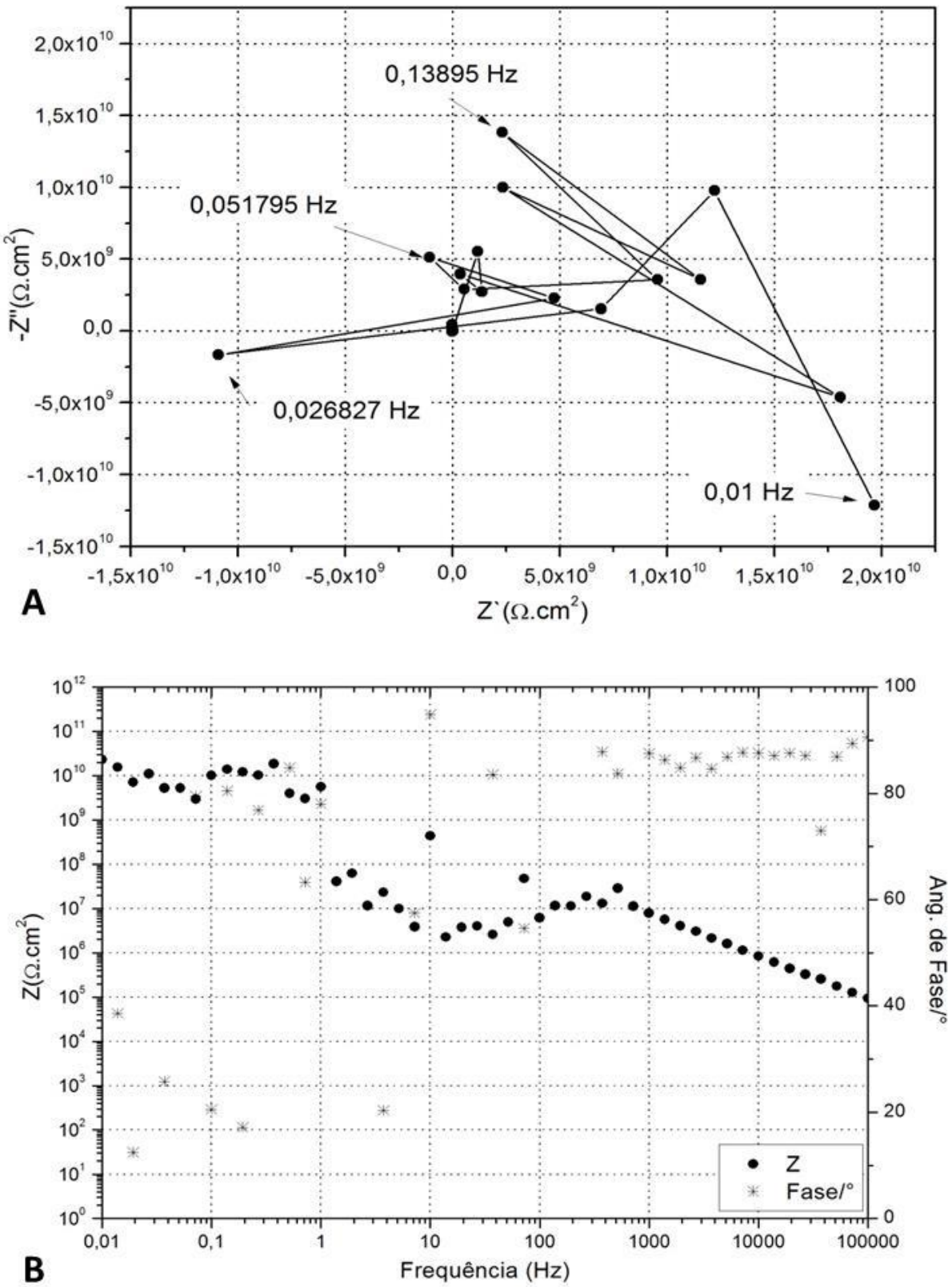


Figura 35. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

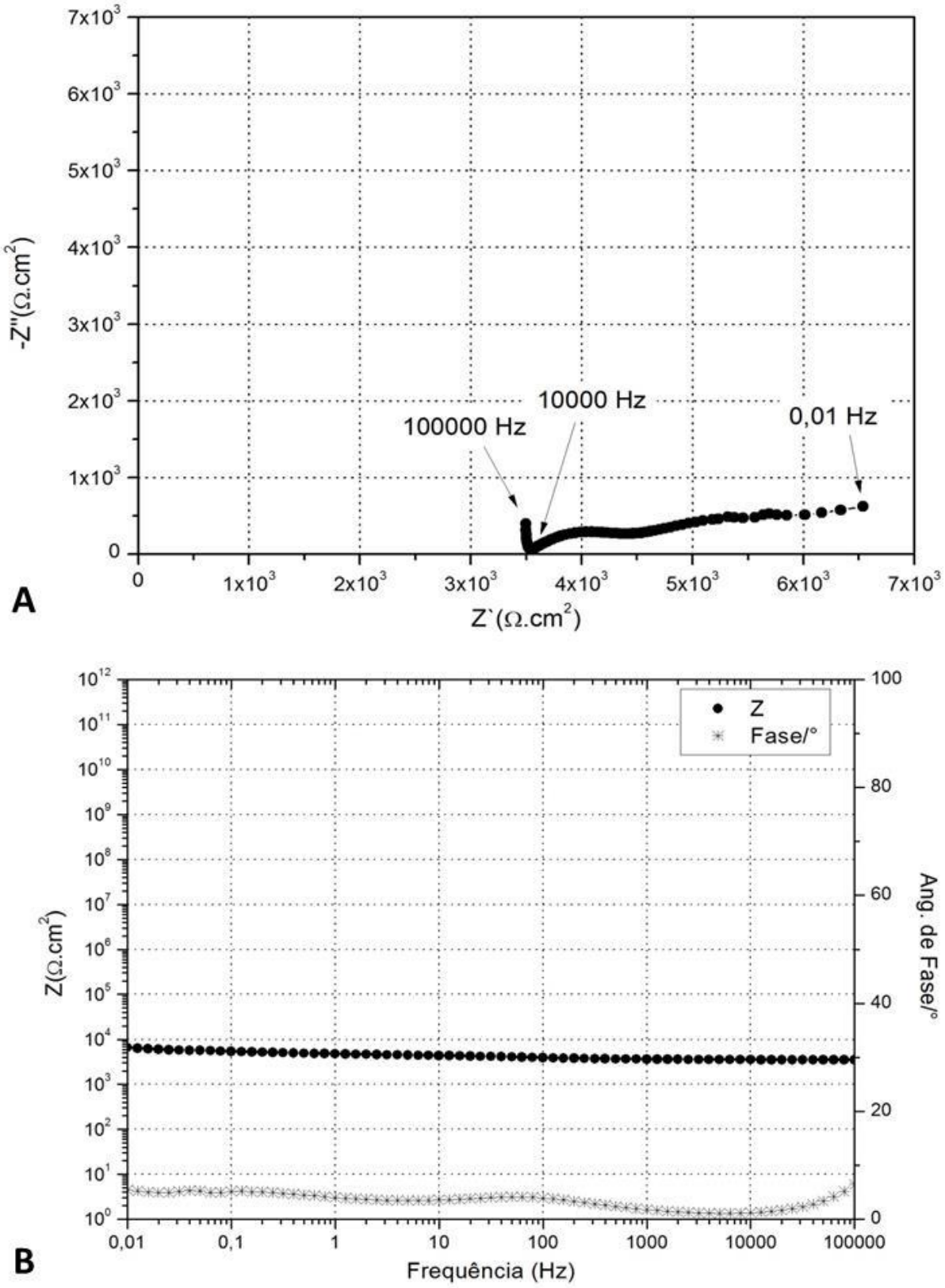


Figura 36. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Com a realização do ensaio de EIE com amplitude de 10 mV, o revestimento composto com pigmento de Cu_2O incorporado com EPS e imerso em água de produção do pré-sal inicialmente se apresenta com um comportamento capacitivo, demonstrado pela grande dispersão nos valores medidos (Figura 35A) e ângulo de fase de ~90° no gráfico de Bode na região de altas frequências (Figura 35B). Além disso, a incorporação do EPS proporciona uma diminuição na dispersão dos valores medidos nas diferentes frequências quando comparado com os resultados iniciais na ausência de EPS, indicando a redução da capacidade isolamento.

Após 144 dias de imersão a tinta de Cu_2O com EPS (Figura 37), podemos observar a formação de produtos de corrosão em pontos localizados na superfície do revestimento. Além disso, os gráficos de Nyquist (Figura 36A), Bode (Figura 36B) e valores de OCP inicial (0,323 $V_{Ag/AgCl}$) e final (-0,263 $V_{Ag/AgCl}$) obedecem o mesmo padrão de ocorrência em relação aos resultados obtidos pelo mesmo ensaio na ausência de EPS, evidenciando que o EPS não influenciou no mecanismo de corrosão do material.

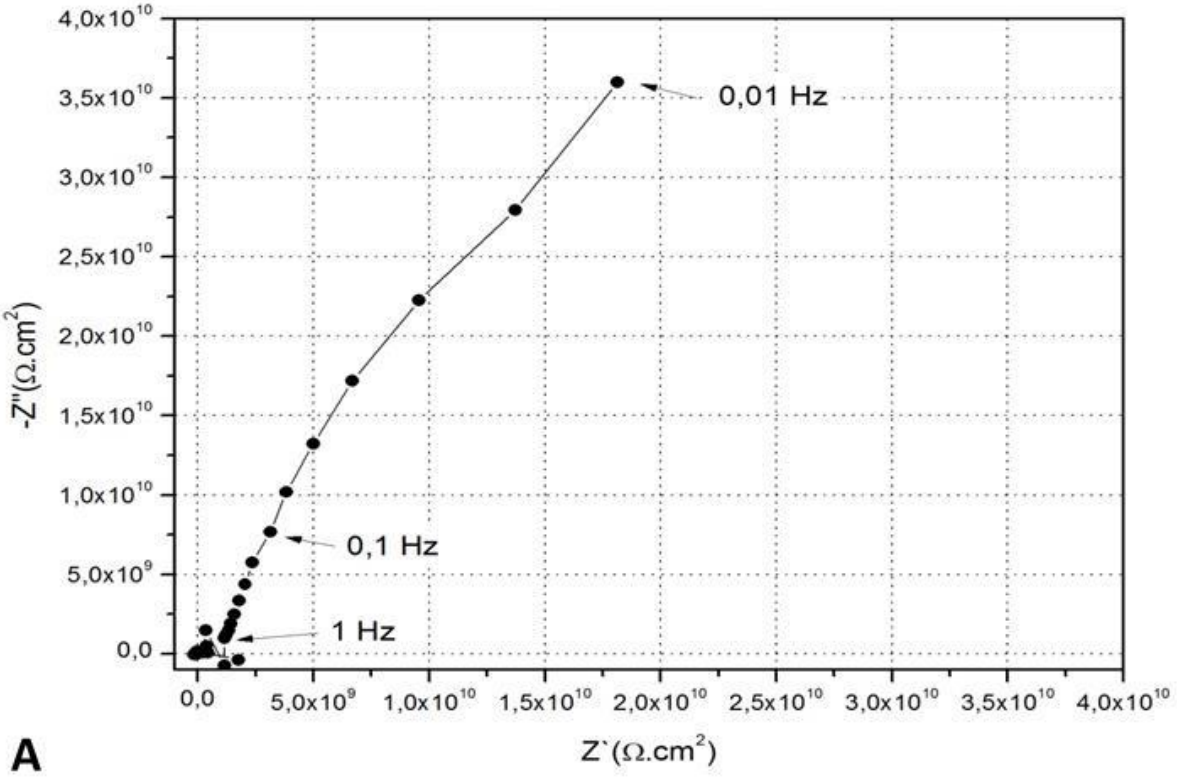
Figura 37. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal.

- **Ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.**

No método clássico de EIE, aplica-se um potencial DC fixo acompanhado por uma corrente alternada de baixa perturbação (≤ 30 mV) em diferentes frequências. Entretanto, Akbarinezhad *et al*. (2008) estudando revestimentos com elevada resistividade, encontraram muitas variações nos dados medidos utilizando baixa perturbação. Eles afirmam que altas perturbações podem levar à redução da flutuação nos dados medidos e, com isso, aplicaram valores de maior amplitude (~ 400 mV) em seus estudos. Os resultados encontrados permitiram aos autores concluir que devem ser utilizadas altas amplitudes de sinal para avaliar revestimentos com elevada resistividade. Contudo, a aplicação de amplitudes muito elevadas pode aumentar as variações encontradas nos dados além de poder alterar a característica do revestimento.

Devido à dispersão apresentada nos gráficos de Bode dos revestimentos à base óxido de cobre, realizou-se os mesmos ensaios em água do mar e águas de produção do pós-sal e pré-sal utilizando uma perturbação de 350 mV, para avaliar o seu uso no estudo do comportamento dos revestimentos e a possível redução da dispersão nos dados medidos.

Nas Figuras 38 e 39 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referentes ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 38A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 39A e B).



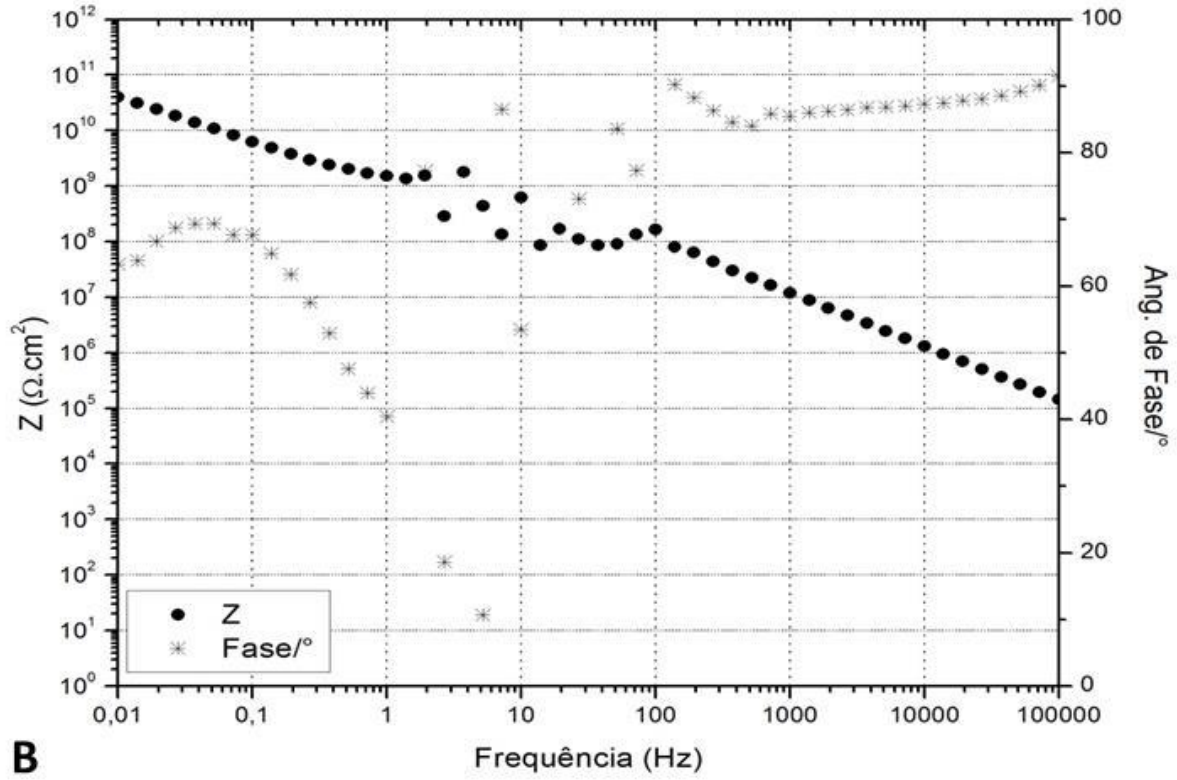


Figura 38. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

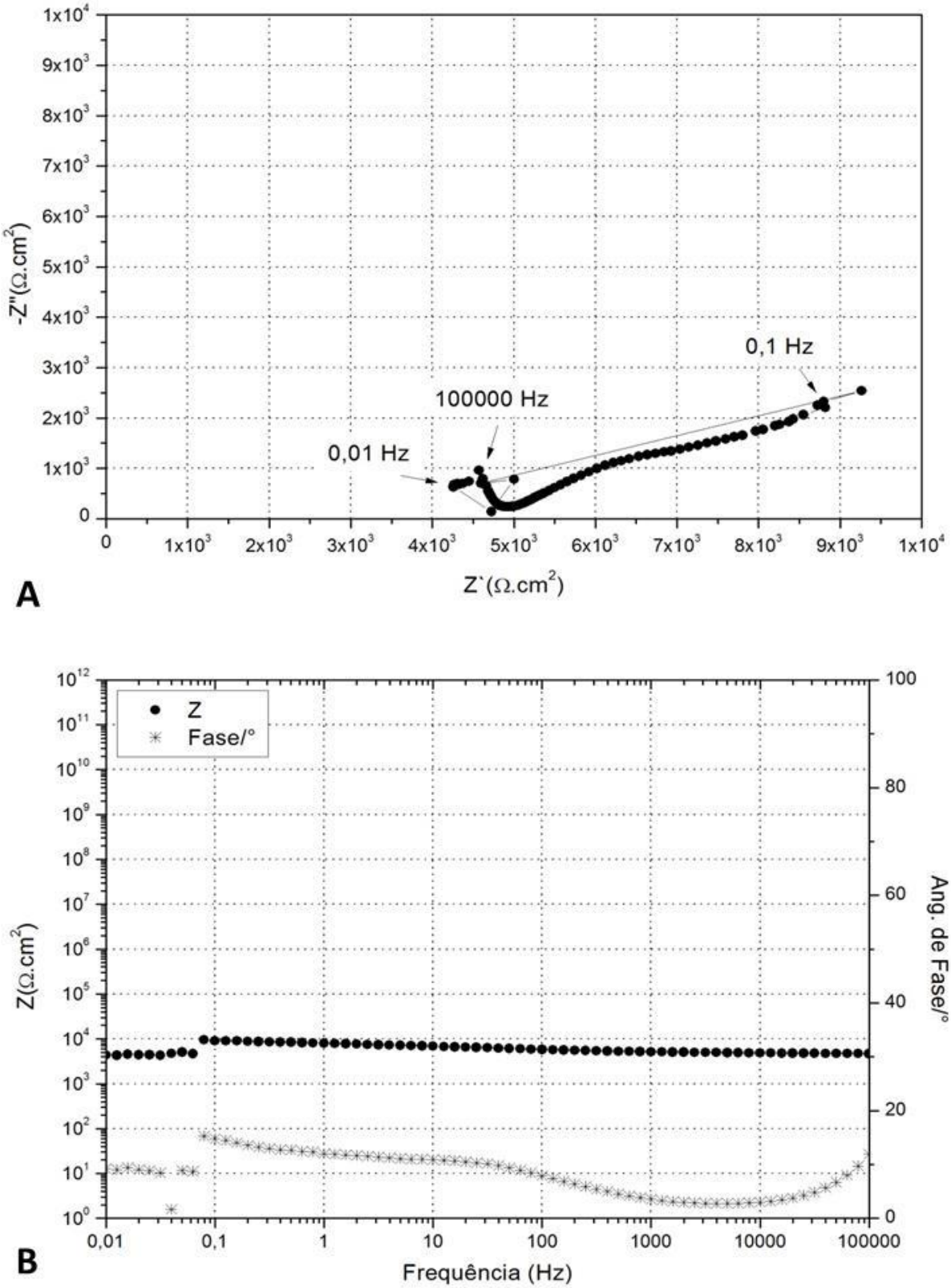


Figura 39. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Comparando os dados iniciais dos revestimentos contendo Cu_2O em água do mar com amplitude de sinal de 10 mV e 350 mV, podemos afirmar a aplicação da perturbação de 350 mV para realização do ensaio de EIE alterou o sistema analisado ao final de 144 dias de imersão. Entretanto, ocorreu uma redução na dispersão dos dados medidos, sendo restrita para a região de médias frequências.

Uma das alterações observadas corresponde à mudança no valor do OCP encontrado inicialmente para o revestimentos sendo de -0,432 $V_{Ag/AgCl}$ e, diferentemente de todo os revestimento de Cu_2O, após 144 dias de imersão em água do mar, aumentou para -0,282 $V_{Ag/AgCl}$, sugerindo a formação de produtos de corrosão por efeito da amplitude de sinal aplicada. Além disso, observando o gráfico de Nyquist (Figura 38A), quando aplicada uma maior perturbação ao revestimento, há indicação da impedância de Warburg. De acordo com Medrano-Vaca *et al*. (2008), a impedância de Warburg está associada ao aumento da concentração de espécies eletronegativas na superfície do revestimento durante a aplicação da corrente alternada, o que demonstra que o uso de 350 mV na análise de EIE alterou o comportamento do material em questão por efeito de polarização nos defeitos do revestimento. Essa informação corrobora com o gráfico de Bode onde, após 144 dias de imersão, apresenta os mesmos valores de impedância encontrados para o revestimento com aplicação de 10 mV de perturbação (Figura 38B). Entretanto, com a aplicação de 350 mV, o gráfico de Bode apresenta maiores valores do ângulo de fase em regiões de baixas frequências, indicando maior resistência à transferência de carga.

Após 144 dias de imersão, quando comparamos os resultados obtidos com amplitude de 10 mV aos resultados de 350 mV, observamos mudanças nas constantes de tempo no gráfico de Nyquist (Figura 39A) e redução no ângulo de fase

em altas frequências (Figura 39B), evidenciando a modificação no material pela maior perturbação aplicada ao sistema.

Comparando o aspecto visual dos revestimentos de Cu_2O estudados com perturbação de 10 e 350 mV (Figura 40), pode-se notar similaridade na degradação macroscópica do material.

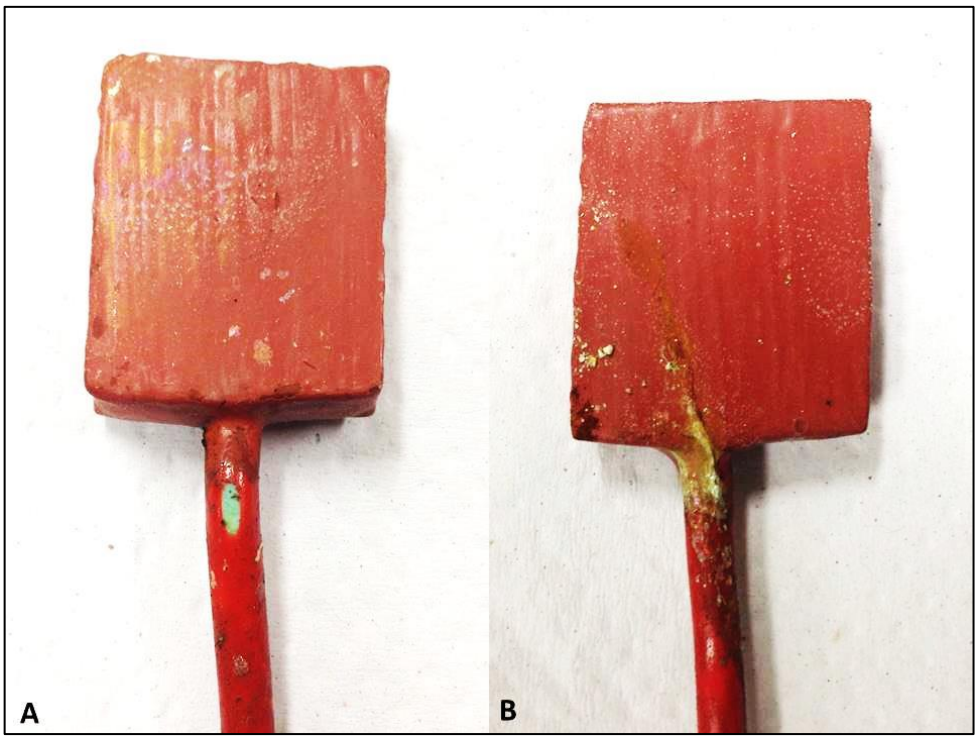


Figura 40. Aspecto visual dos corpos de prova após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de: (A) 10 mV e (B) 350 mV.

Nas Figuras 41 e 42 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O com EPS em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 41A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 42A e B).

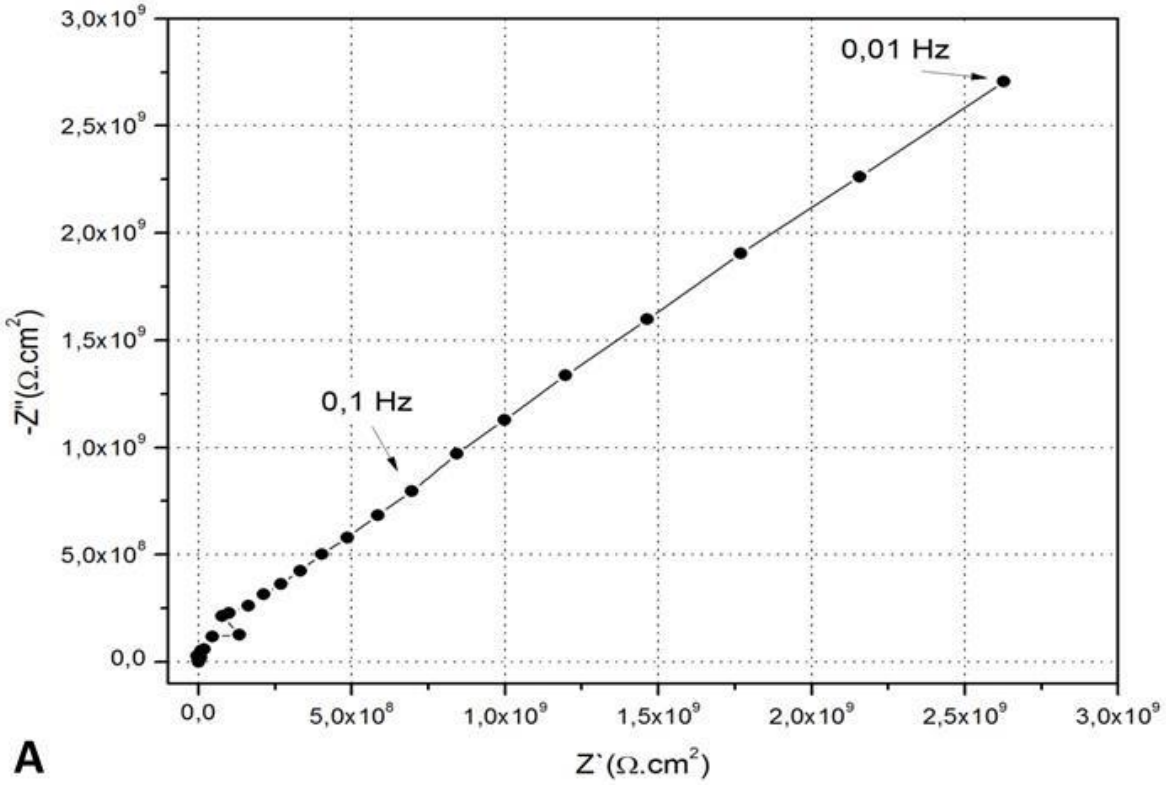
Comparando os dados iniciais dos revestimentos de Cu_2O incorporados com EPS em água do mar com amplitude de sinal de 10 mV e 350 mV, podemos afirmar que a aplicação da perturbação de 350 mV para realização do ensaio de EIE alterou

o sistema analisado ao final de 144 dias de imersão. Entretanto, ocorreu uma redução na dispersão dos dados medidos, sendo restrita para a região de médias frequências (Figura 41A e B).

Uma das alterações observadas foram os menores valores de OCP encontrados para o revestimento no tempo inicial (-0,345 $V_{Ag/AgCl}$) e após 144 dias de imersão (-0,548 $V_{Ag/AgCl}$). Entretanto, o baixo valor obtido após 144 dias de imersão está associado à característica do revestimento na presença do EPS e não a aplicação de 350 mV de amplitude de sinal, visto que, o mesmo revestimento, após 144 dias de imersão e ensaio com perturbação de 10 mV, apresentou valor final de OCP de -0,514 $V_{Ag/AgCl}$.

A aplicação de 350 mV, independente da presença de EPS, induziu ao surgimento da impedância de Warburg, isto é, aumento da concentração de espécies eletronegativas na superfície do revestimento durante a aplicação da corrente alternada. Entretanto, como resultado do sinergismo da presença do EPS e a aplicação de 350 mV, gerou um aumento significativo na resistência a transferência de carga quando comparado com os outros revestimentos de Cu_2O em água do mar sintética, sendo representado pelos altos valores de impedância na região de baixas frequências. Este efeito pode ser visualizado pelo aparecimento de duas constantes de tempo no gráfico de Nyquist (Figura 42A) e aumento do ângulo de fase na região de médias frequências no gráfico de Bode (Figura 42B) indicando delaminação do revestimento.

Avaliando o aspecto visual e produtos de corrosão aderidos à superfície do revestimento de Cu_2O com EPS estudado com perturbação de 350 mV (Figura 43), pode-se notar similaridade com a imagem e produtos obtidos no ensaio com perturbação de 10 mV.



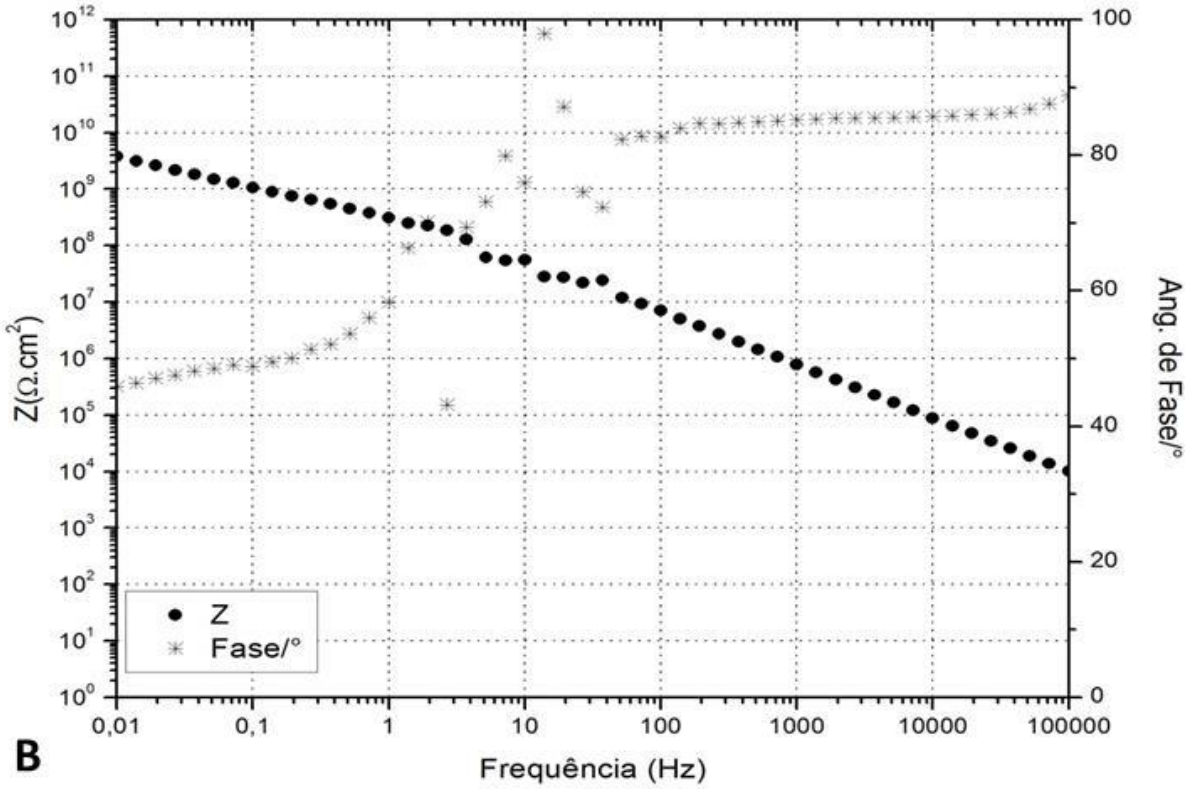


Figura 41. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

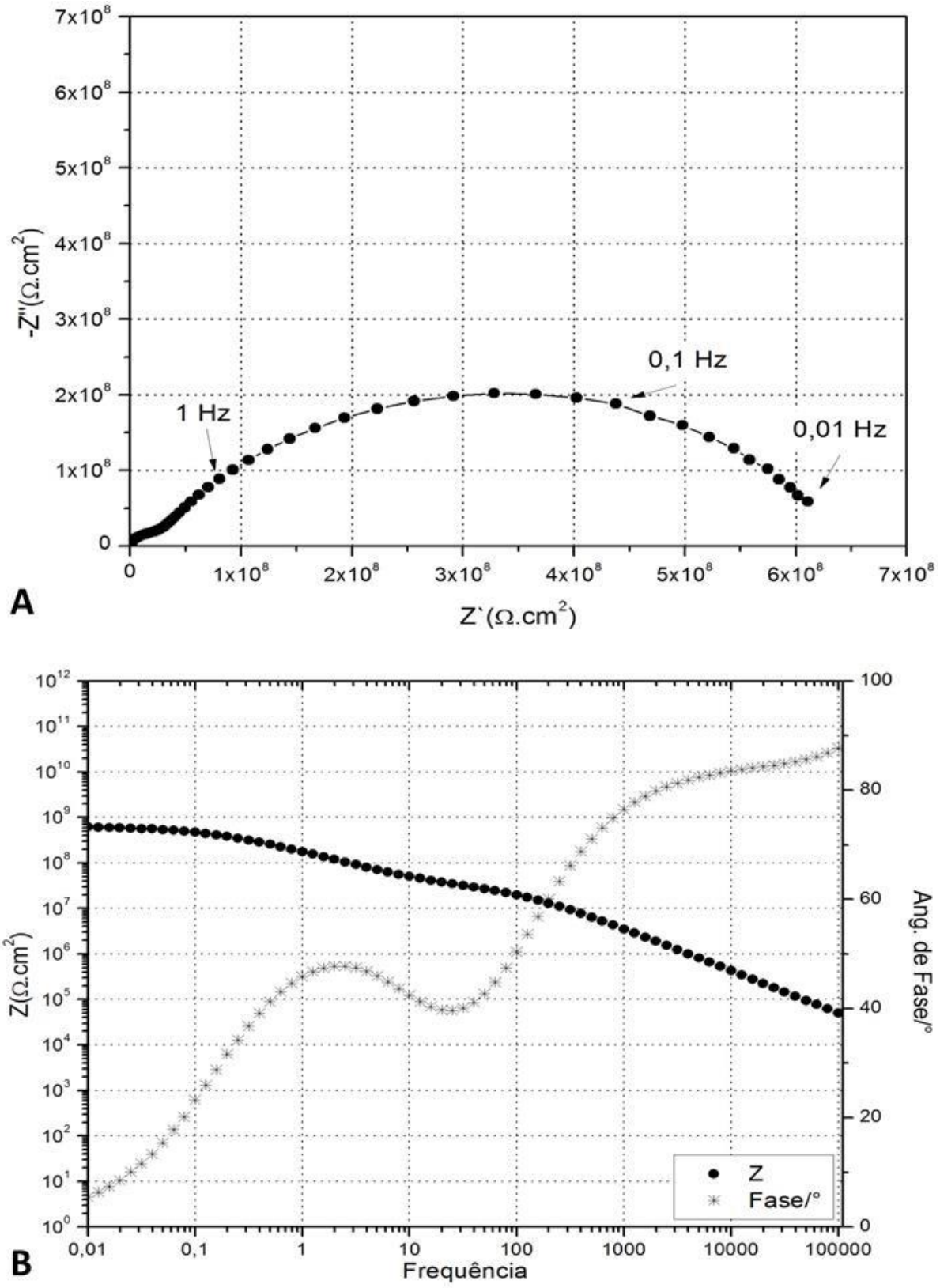


Figura 42. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Figura 43. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O e EPS após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 44 e 45 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referentes ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 44A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 45A e B).

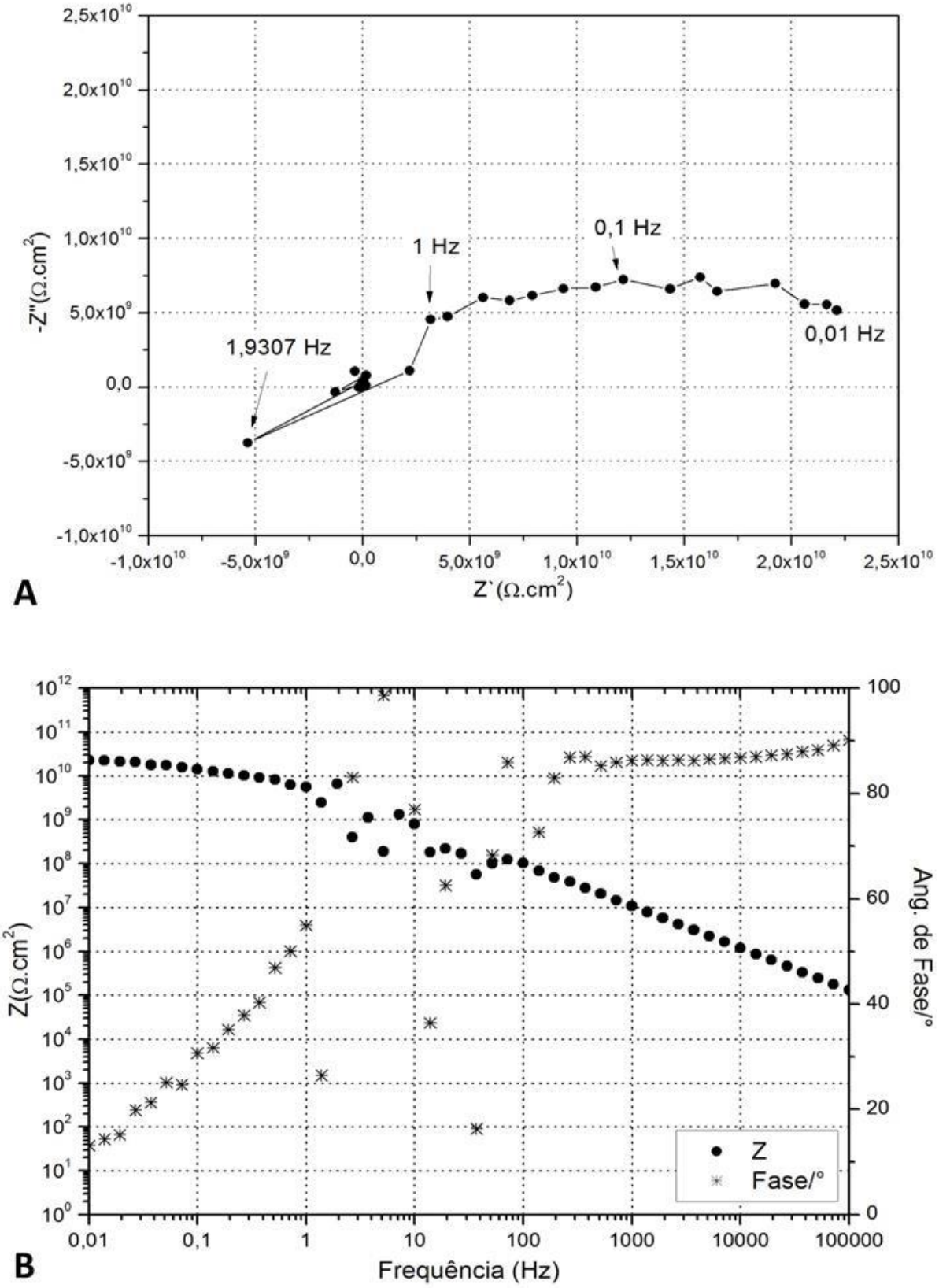


Figura 44. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

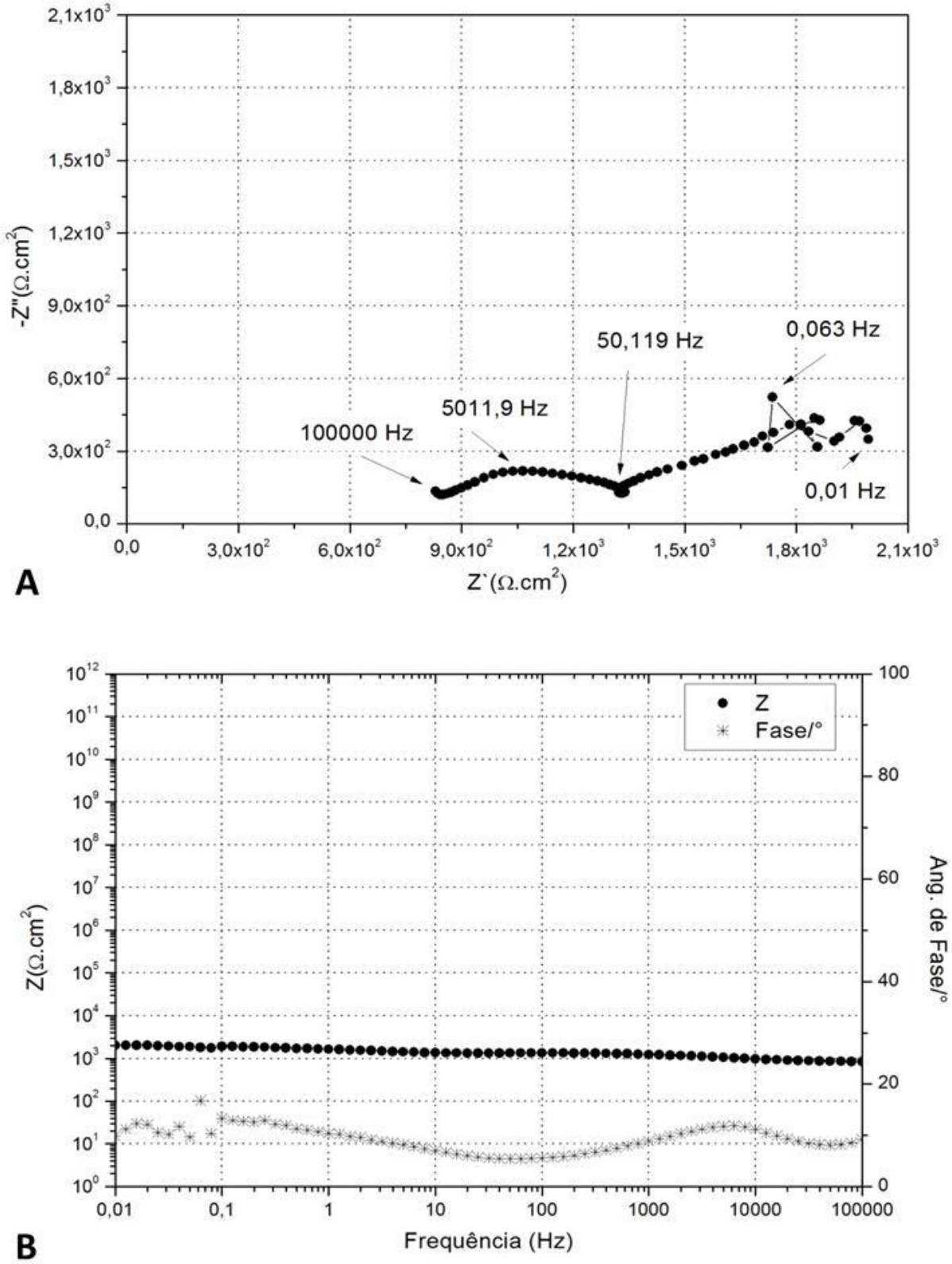


Figura 45. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Com a realização do ensaio de EIE com amplitude de 350 mV, o revestimento composto com pigmento de Cu_2O imerso em água de produção do pós-sal inicialmente se apresenta com um comportamento altamente capacitivo, demonstrado pelo ângulo de fase de ~90° no gráfico de Bode na região de altas frequências (Figura 44B). Com a aplicação a perturbação de 350 mV, no gráfico de Bode podemos visualizar um diminuição na dispersão dos valores medidos nas diferentes frequências quando comparado com os resultados inicias de 10 mV. Entretanto, o sistema é considerado um sistema pobremente definido.

Devido à degradação da tinta de Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal (Figura 46), o gráfico de Nyquist (Figura 45A), apresenta na região de médias frequências diferentes processos como a adsorção de eletrólitos, reação ou modificação química do revestimento na superfície do eletrodo. A região de baixa frequência apresenta dispersão nos valores medidos não sendo possível indicar os processos ocorridos. Essas informações fundamentam a diferença no valor de potencial em circuito aberto encontrado com uma redução significativa após a degradação do revestimento passando de 0,184 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,303 $V_{Ag/AgCl}$.

Nas Figuras 47 e 48 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 47A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 48A e B).

Figura 46. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Com a incorporação do EPS no revestimento composto com pigmento de Cu_2O imerso em água de produção do pós-sal e realização do ensaio de EIE com amplitude de 350 mV, inicialmente podemos observar no gráfico de Nyquist (Figura 47A) um efeito indutivo, na região de médias frequências, ocasionado pelo sinergismo do uso do EPS com a aplicação da alta perturbação, isto é, só foi encontrado efeito indutivo na ausência de EPS após 144 dias de imersão na água do pós-sal, indicando que o EPS poderia acelerar o desempenho do revestimento. No gráfico de Bode (Figura 47B), observando os valores do ângulo de fase, há indicação de que o revestimento em questão não possui nenhuma propriedade de barreira neste meio, sendo o valor de impedância constante em todas as frequências monitoradas.

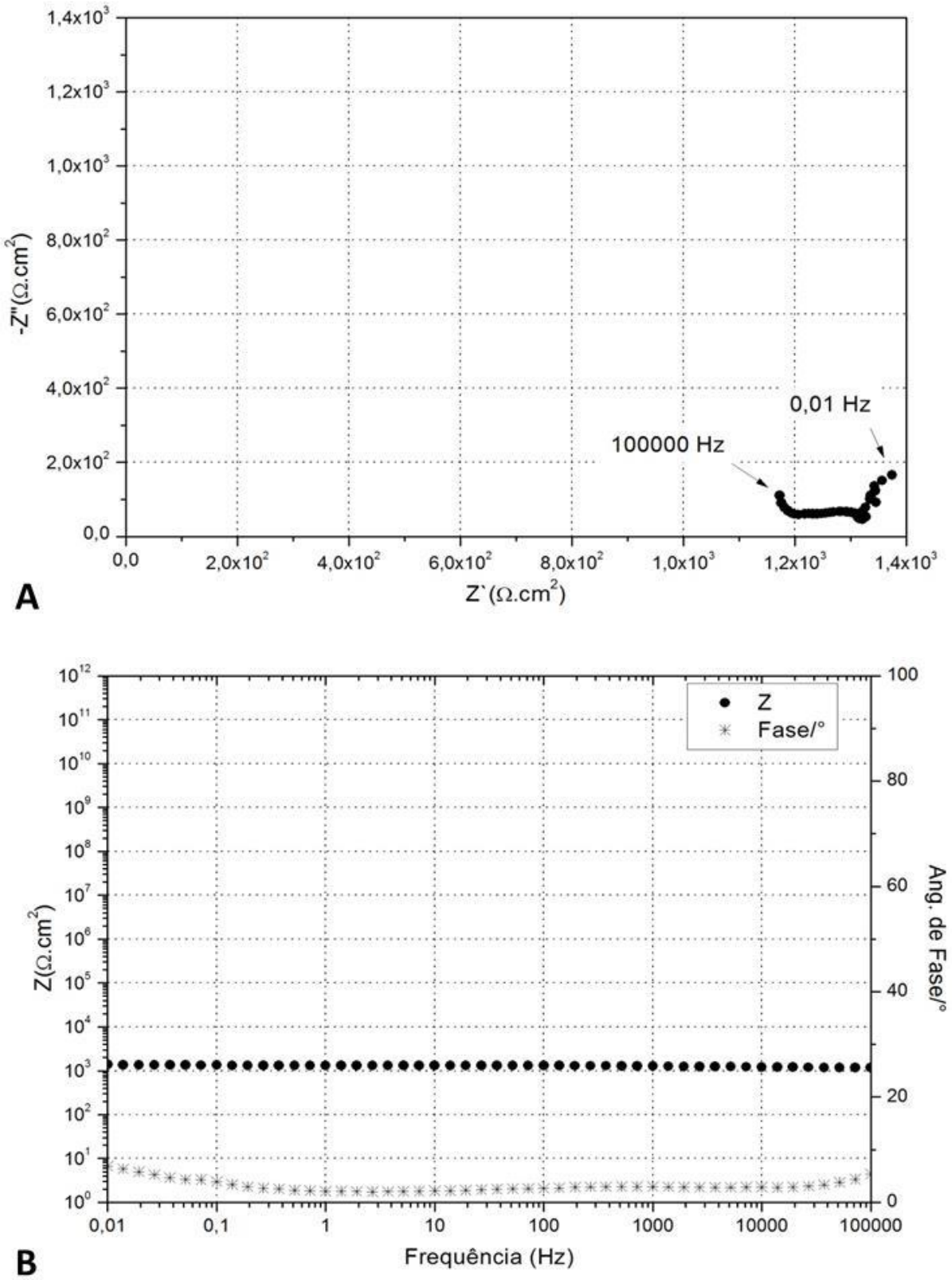
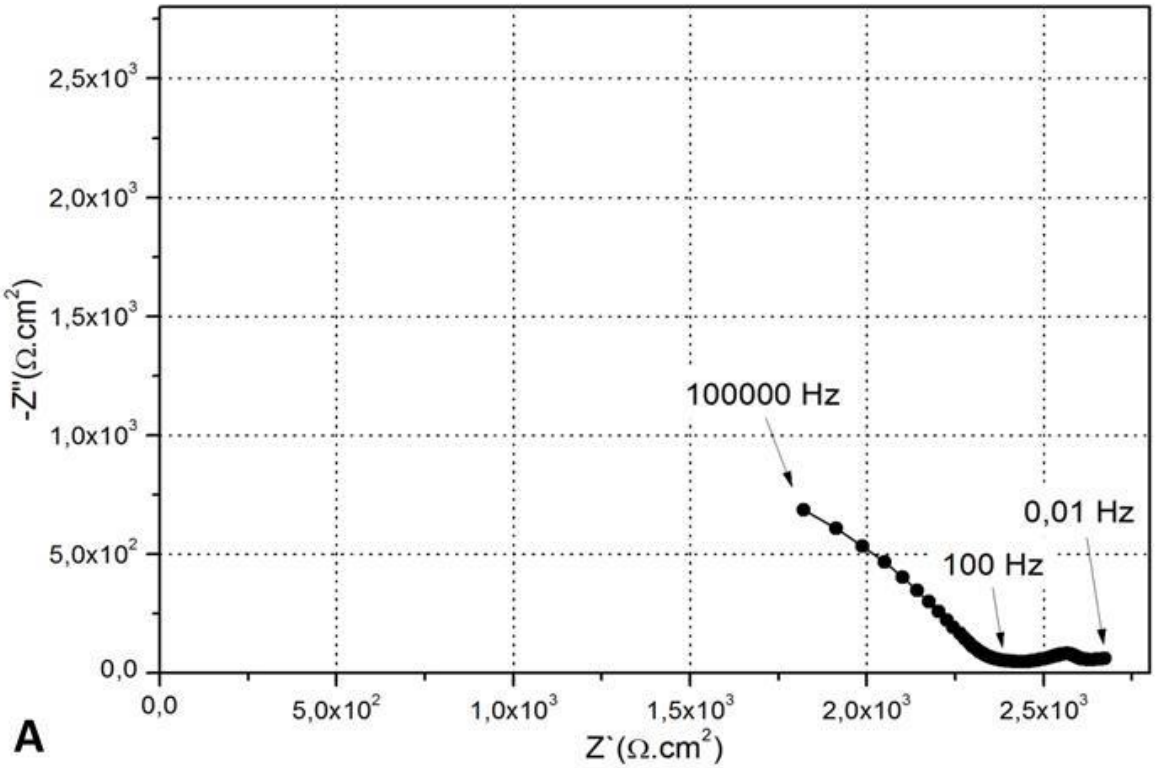


Figura 47. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.



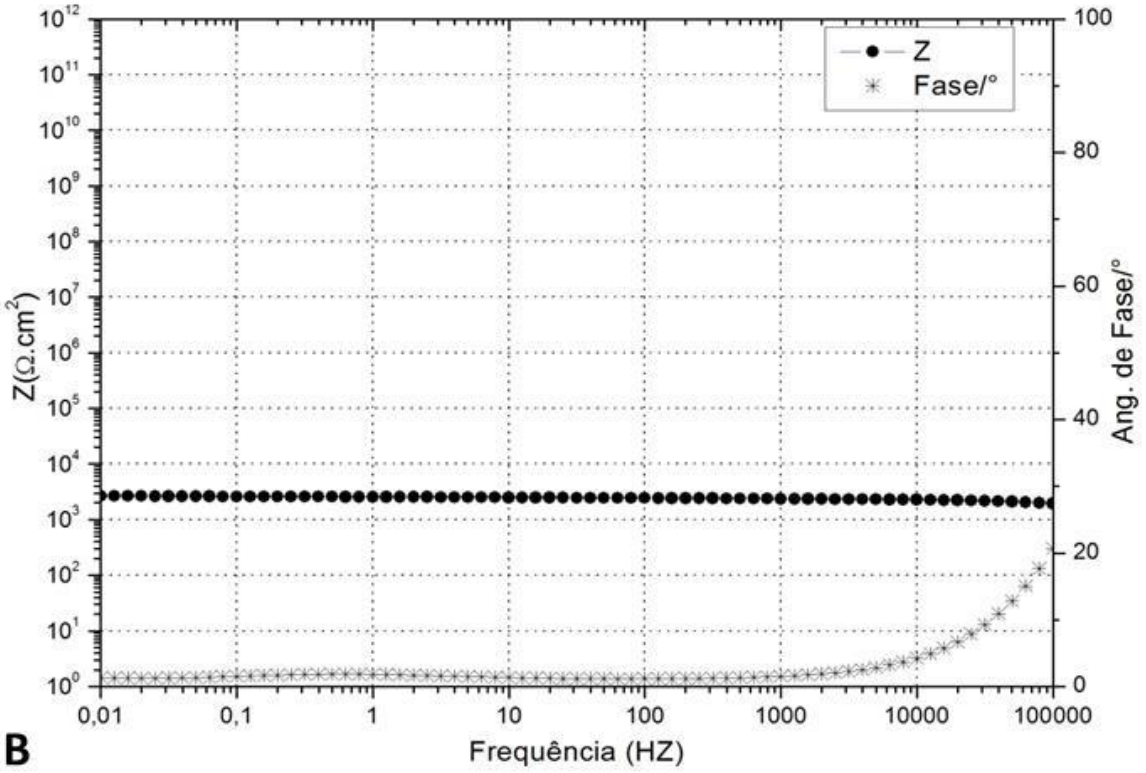


Figura 48. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal, observamos que há uma pequena mudança nos valores medidos inicial e final pelo potencial em circuito aberto, sendo modificado de -0,175 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,242 $V_{Ag/AgCl}$. Além disso, devido à película formada pelos produtos de corrosão (Figura 49) é observado um pequeno aumento no valor do ângulo de fase em altas frequências.

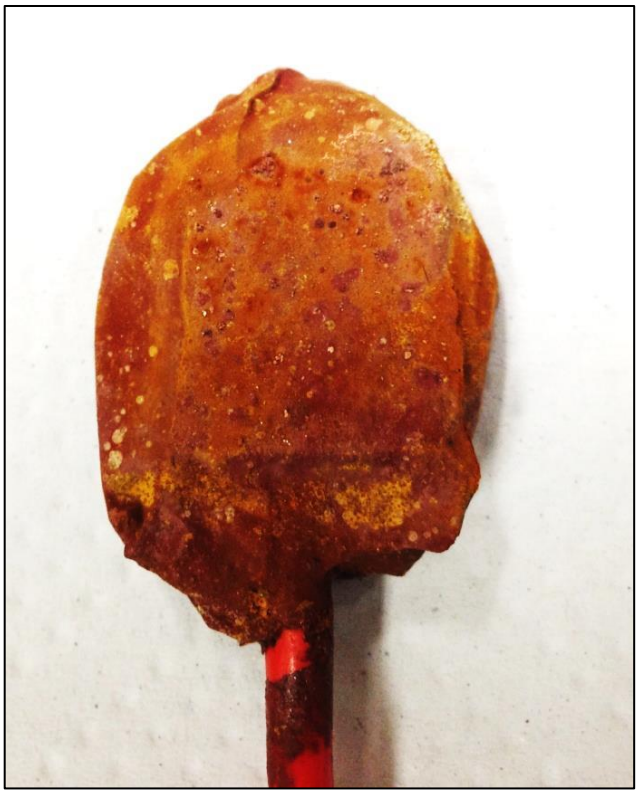
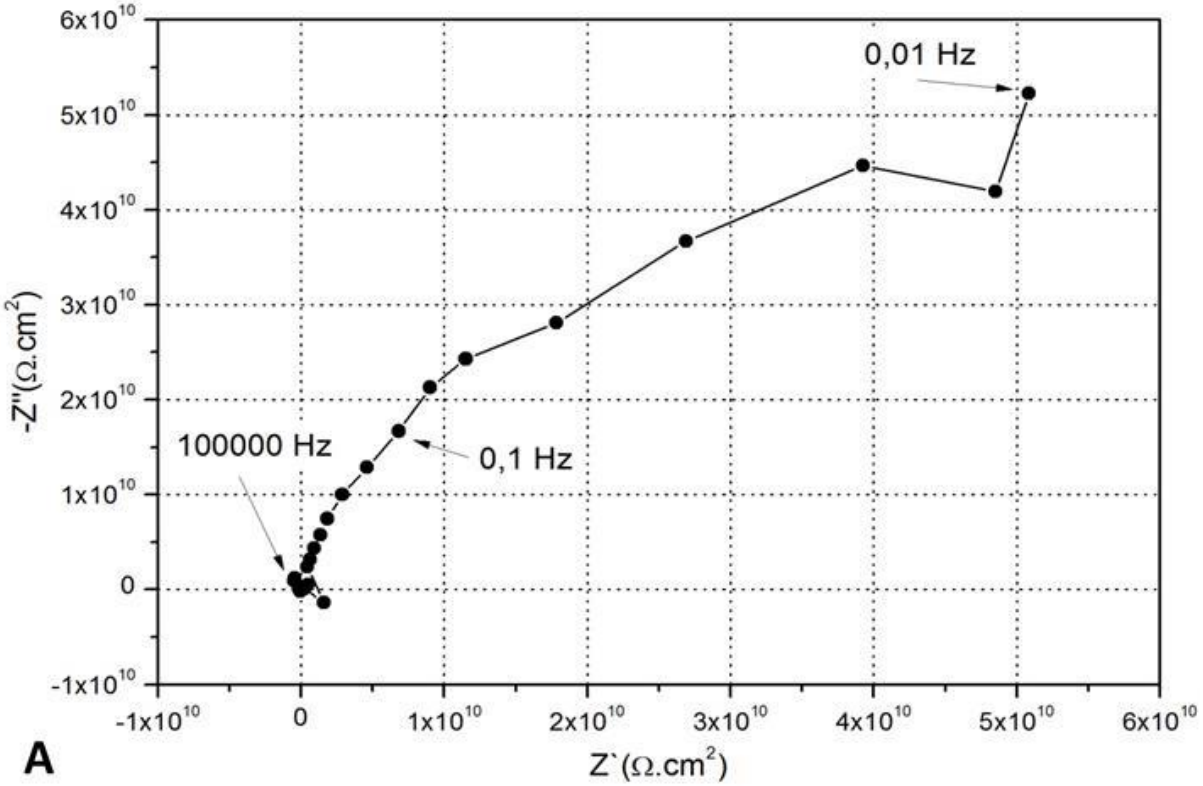


Figura 49. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 50 e 51 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 50A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 51A e B).



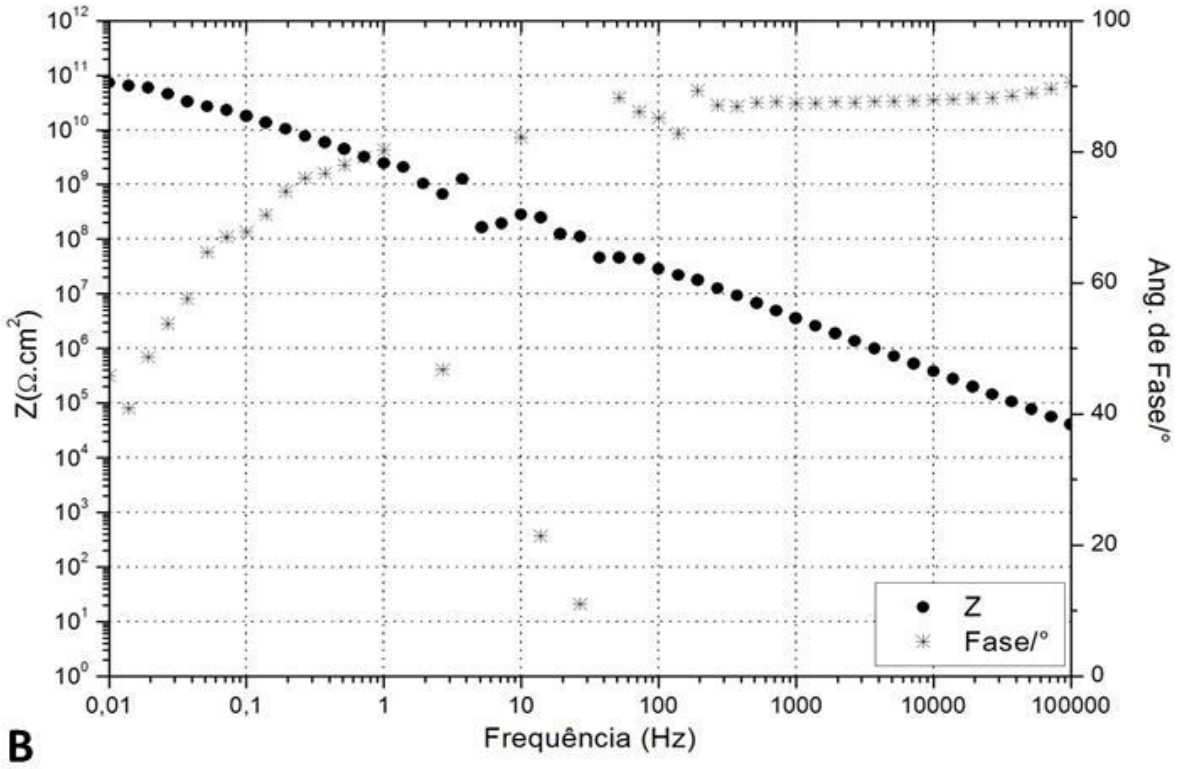
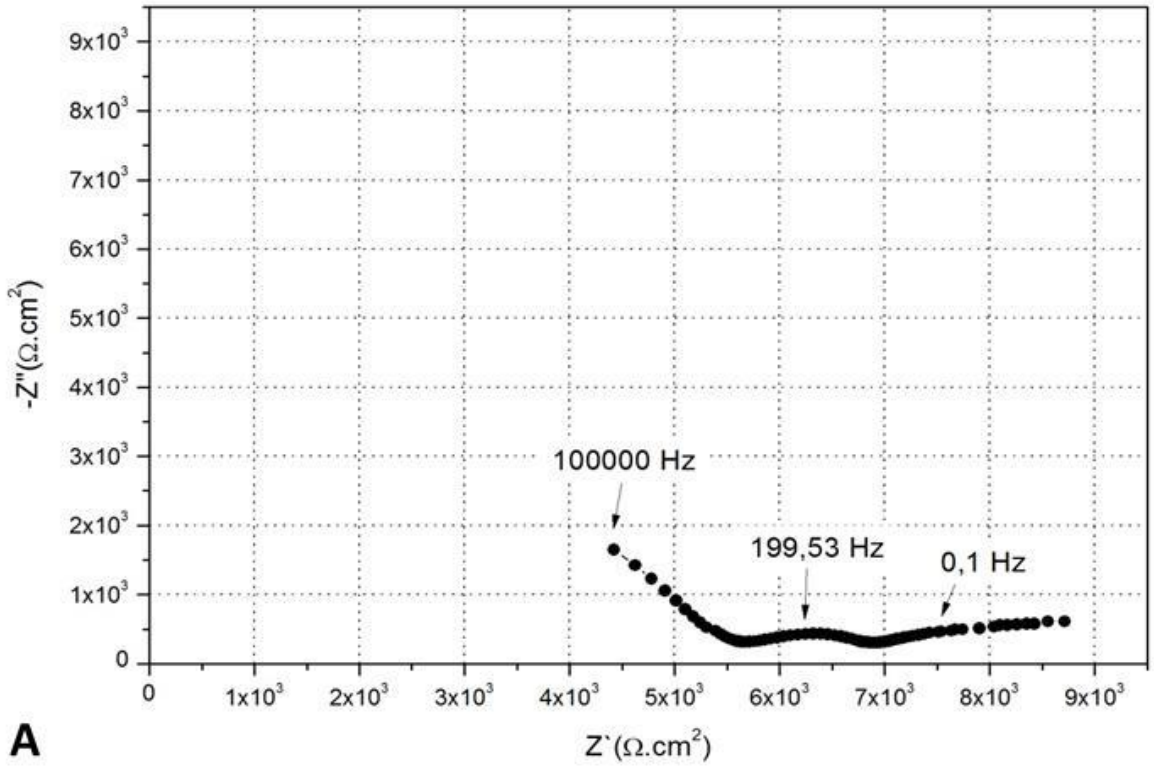


Figura 50. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.



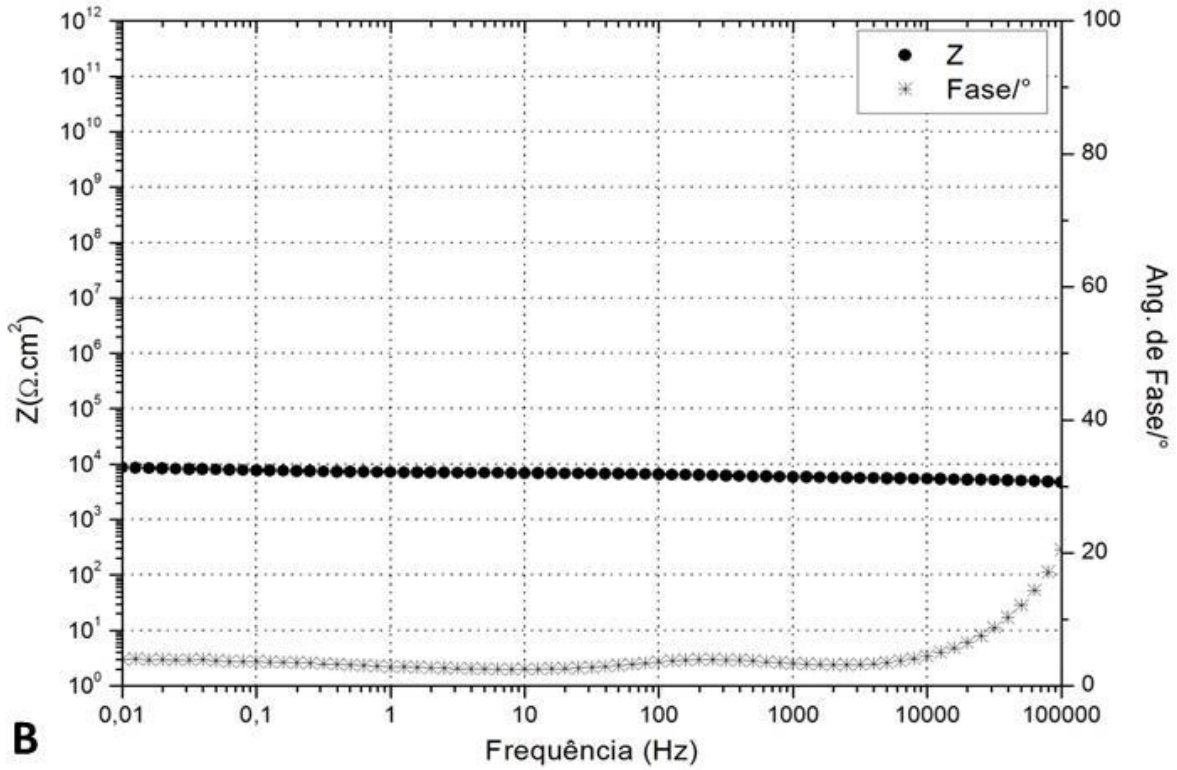


Figura 51. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Com a realização do ensaio de EIE com amplitude de 350 mV, o revestimento composto com pigmento de Cu_2O imerso em água de produção do pré-sal inicialmente se apresenta com um comportamento altamente capacitivo, demonstrado pelo ângulo de fase de ~90° no gráfico de Bode na região de altas e médias frequências (Figura 50B). Entretanto, pelo diagrama de Nyquist (figura 50A), podemos observar o aumento abrupto da impedância, evidenciando uma impedância de Warburg, onde está associada a difusão dos eletrólitos. A aplicação de 350mV para análise deste revestimento acarretou menor dispersão nos dados medidos nas diferentes frequências quando comparado com os resultados iniciais com 10 mV.

O valor do potencial em circuito aberto (OCP) encontrado para o revestimento a base de Cu_2O, no inicio do ensaio com amplitude de 350 mV, foi o maior em comparação a todos os revestimentos estudados, sendo de 0,923 $V_{Ag/AgCl}$ e após 144 dias de imersão, decaiu para -0,277 $V_{Ag/AgCl}$, evidenciando o processo de degradação do revestimento (Figura 52).

Devido à degradação da tinta após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal, no gráfico de Nyquist (Figura 51A) observamos a indicação de três constantes de tempo, podendo estar associada ao comportamento da dupla camada elétrica e das camadas mais interna e externa do revestimento. Entretanto, analisando o gráfico de Bode (Figura 51B) não observamos modificação nos valores de impedância e ângulo de fase, o que indica há permeação de água e eletrólitos pelo revestimento.

Figura 52. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 53 e 54 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 53A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 54A e B).

O comportamento do revestimento de Cu_2O incorporado com EPS possui um comportamento similar ao material na ausência do EPS. Observando o gráfico de Nyquist (Figura 53A) temos uma constante de tempo na região de altas frequências e em média e baixas frequências a indicação da impedância de Warburg, associada a permeação de eletrólitos a região mais interna do revestimento. O gráfico de Bode (Figura 53B) corrobora com as informações anteriores por apresentar um valor baixo de ângulo de fase na região de altas frequências, indicando baixa resistência à permeação de água e eletrólitos. O aumento gradativo do ângulo de fase para

regiões de médias e baixas frequências está associado a resistência a transferência de carga e massa dos poros do revestimento e da dupla camada elétrica.

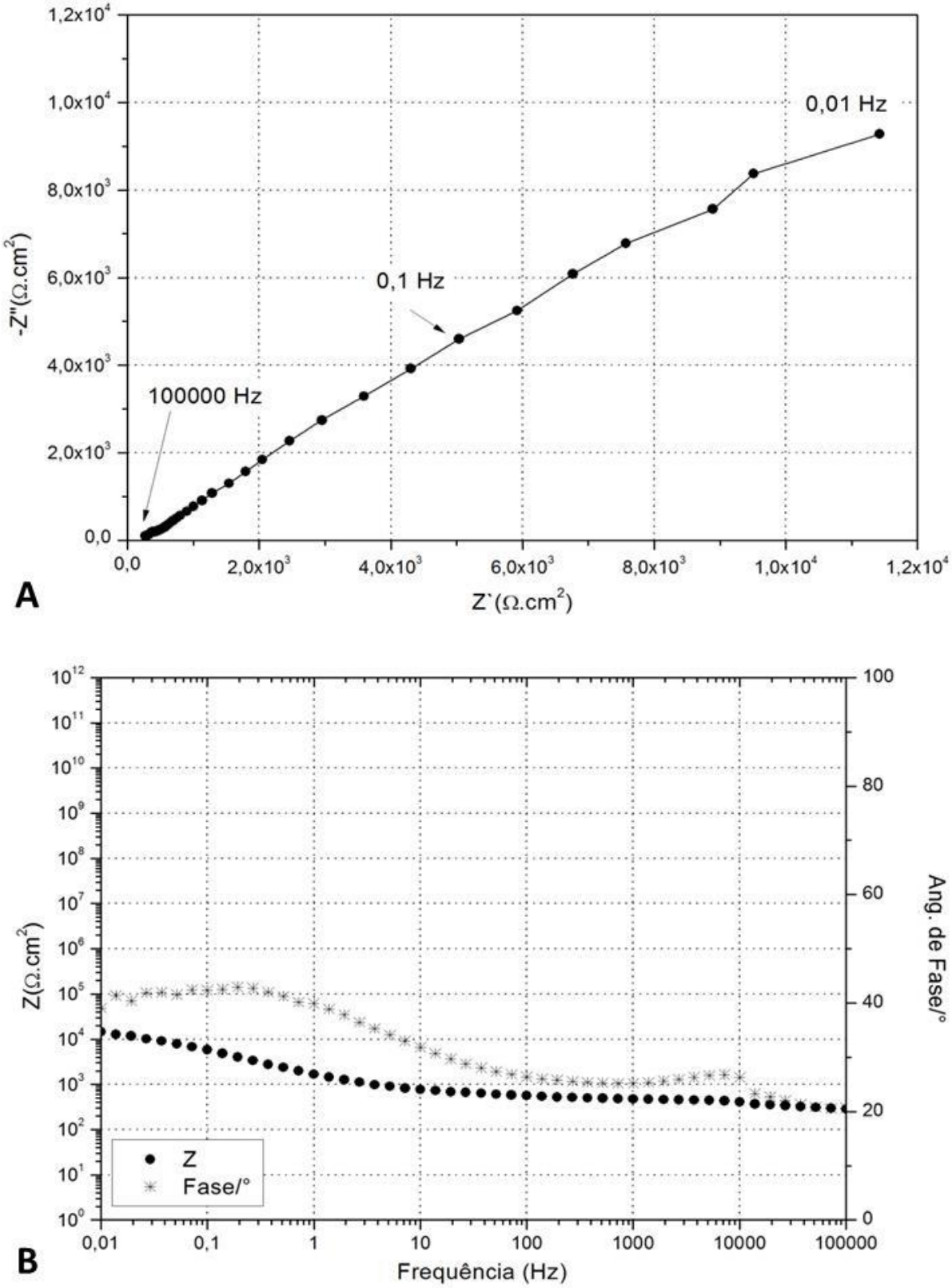


Figura 53. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

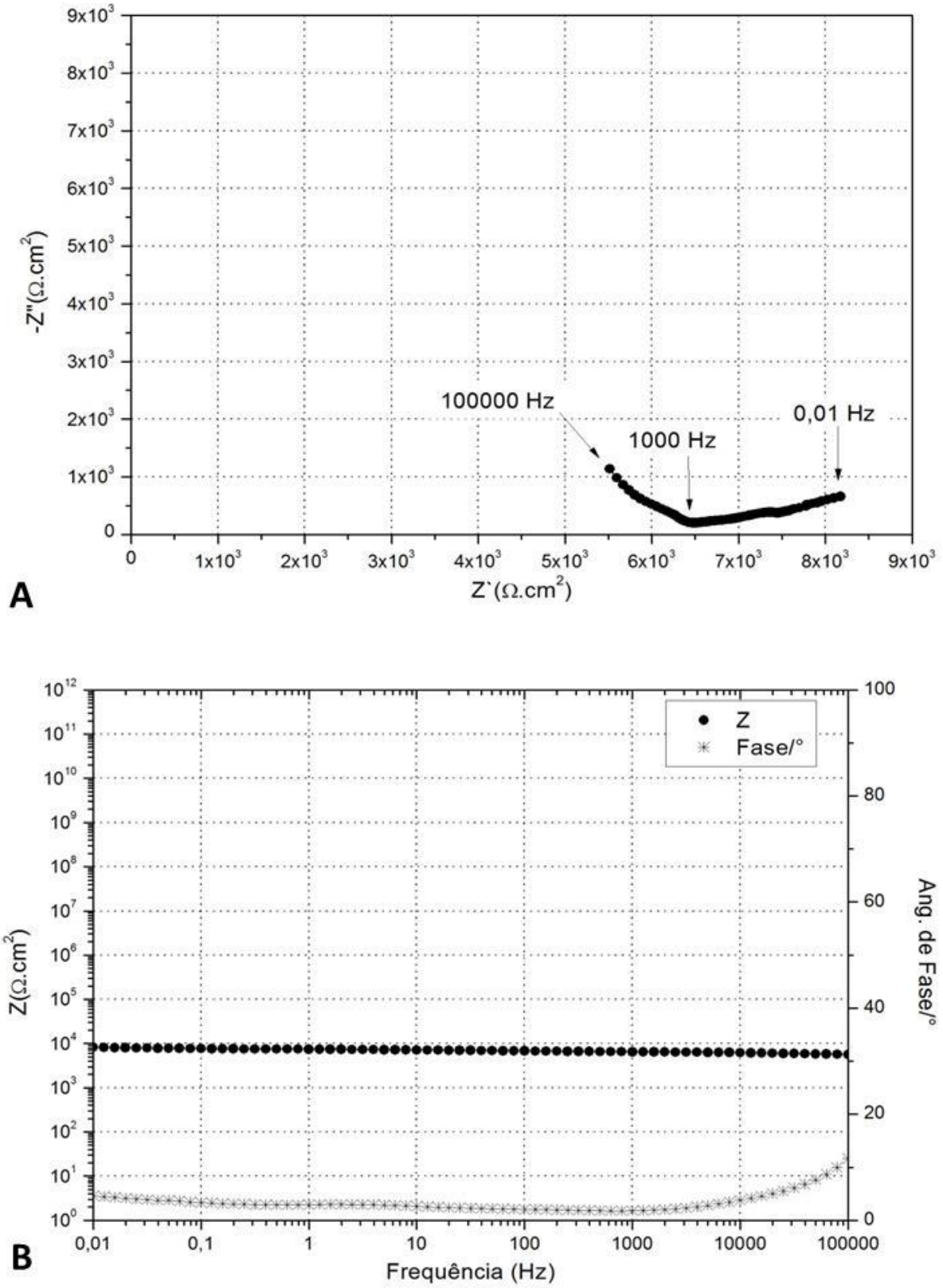


Figura 54. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Cu_2O com EPS em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Os valores obtidos de impedância são menores quando comparados com o sistema sem EPS. Além disso, os valores de OCP são menores que os valores encontrados na ausência do polímero, sendo -0,368 $V_{Ag/AgCl}$ a medida inicial e -0,501 $V_{Ag/AgCl}$ o valor final. O perfil apresentado pelos diagramas de Nyquist (Figura 54A) e Bode (Figura 54B), são os mesmos apresentados pelos outros revestimentos à base de óxido de cobre após 144 dias de imersão. Este comportamento demonstra que o revestimento com EPS imerso na água do pré-sal pode auxiliar a formação de corrosão localizada como evidenciado pelos produtos de corrosão adsorvidos em pontos específicos da superfície do revestimento (Figura 55).

Figura 55. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Cu_2O incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

IV.3.2. Tinta à Base de Óxido de Nióbio.

- **Ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.**

Nas Figuras 56 e 57 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 56A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 57A e B).

A análise do sistema inicial (Figura 56A) indica uma contribuição de elementos capacitivos ao total da impedância nos momentos iniciais de imersão, sendo representado, no gráfico de Bode, por valores do ângulo de fase próximos de 90° nas regiões de altas frequências, com valores de impedância crescentes (Figura 56B). Desta forma, o revestimento se apresenta como uma barreira a permeação da água e eletrólitos. Entretanto, só é possível visualizar medições sem dispersão até valores de frequência na ordem de 1000 Hz (Figura 56B). Nas frequências menores que 1000 Hz não foi possível obter valores confiáveis, sendo representados nos gráficos de Nyquist e Bode pela dispersão gráfica.

De acordo com Camovska *et al.* (2008), o nióbio possui alta resistência à corrosão devido a sua capacidade de formar espontaneamente um filme passivo de óxidos estáveis quando em contato com o ar e soluções aquosas. Além disso, o nióbio possui pelo menos três óxidos estáveis, sendo o NbO considerado condutor, o NbO_2 semicondutor e o Nb_2O_5 isolante (Ramírez *et al*., 2010). Desta forma, o valor do potencial em circuito aberto (OCP) encontrado para o revestimento à base de Nb_2O_5, no inicio do ensaio de imersão em água do mar foi o maior quando comparado aos outros ensaios em água do mar, sendo 0,266 $V_{Ag/AgCl}$. Entretanto, após 144 dias de imersão o valor de OCP medido foi de -0,116 $V_{Ag/AgCl}$, evidenciando um processo de degradação do revestimento (Figura 58).

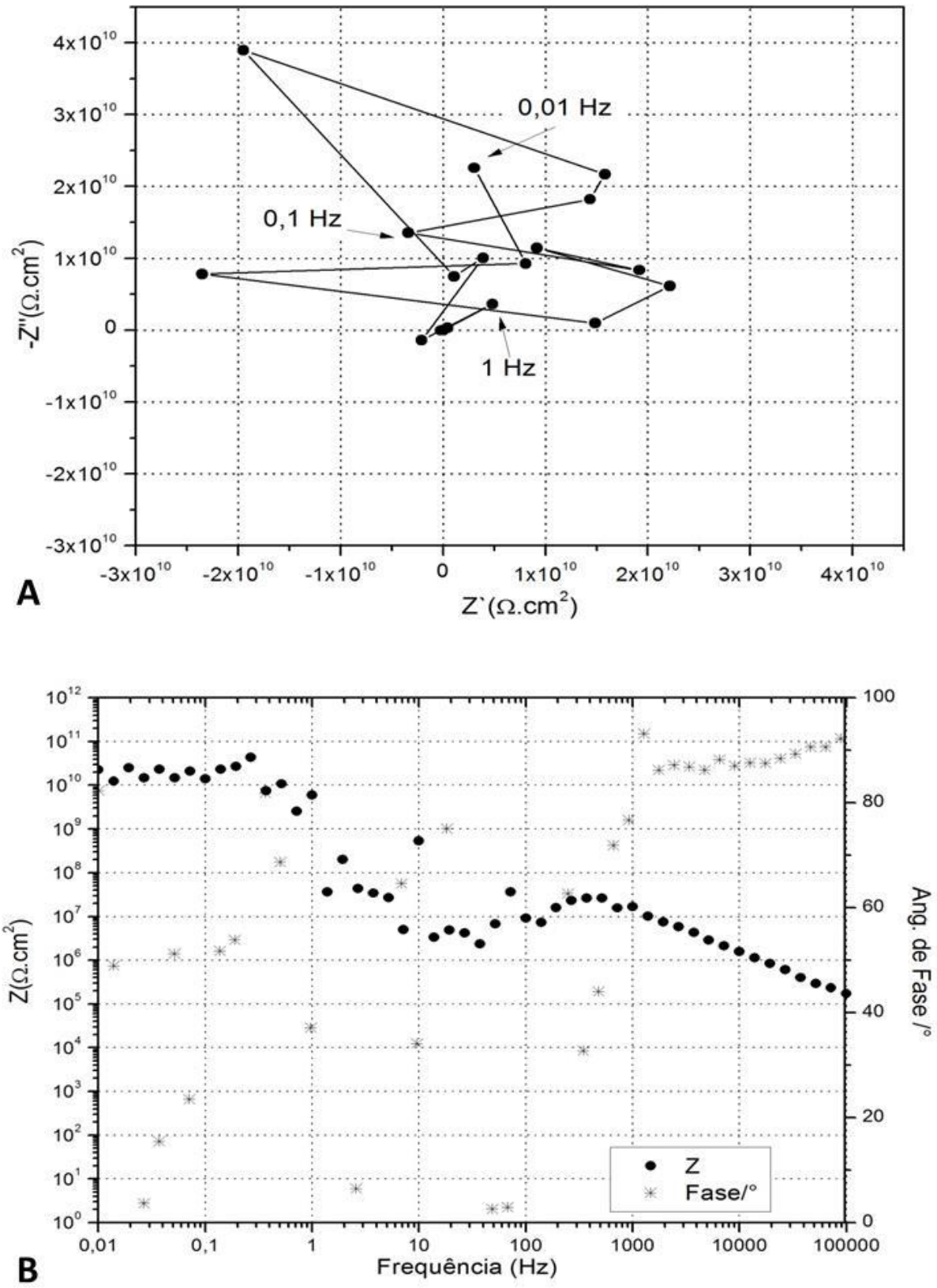


Figura 56. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

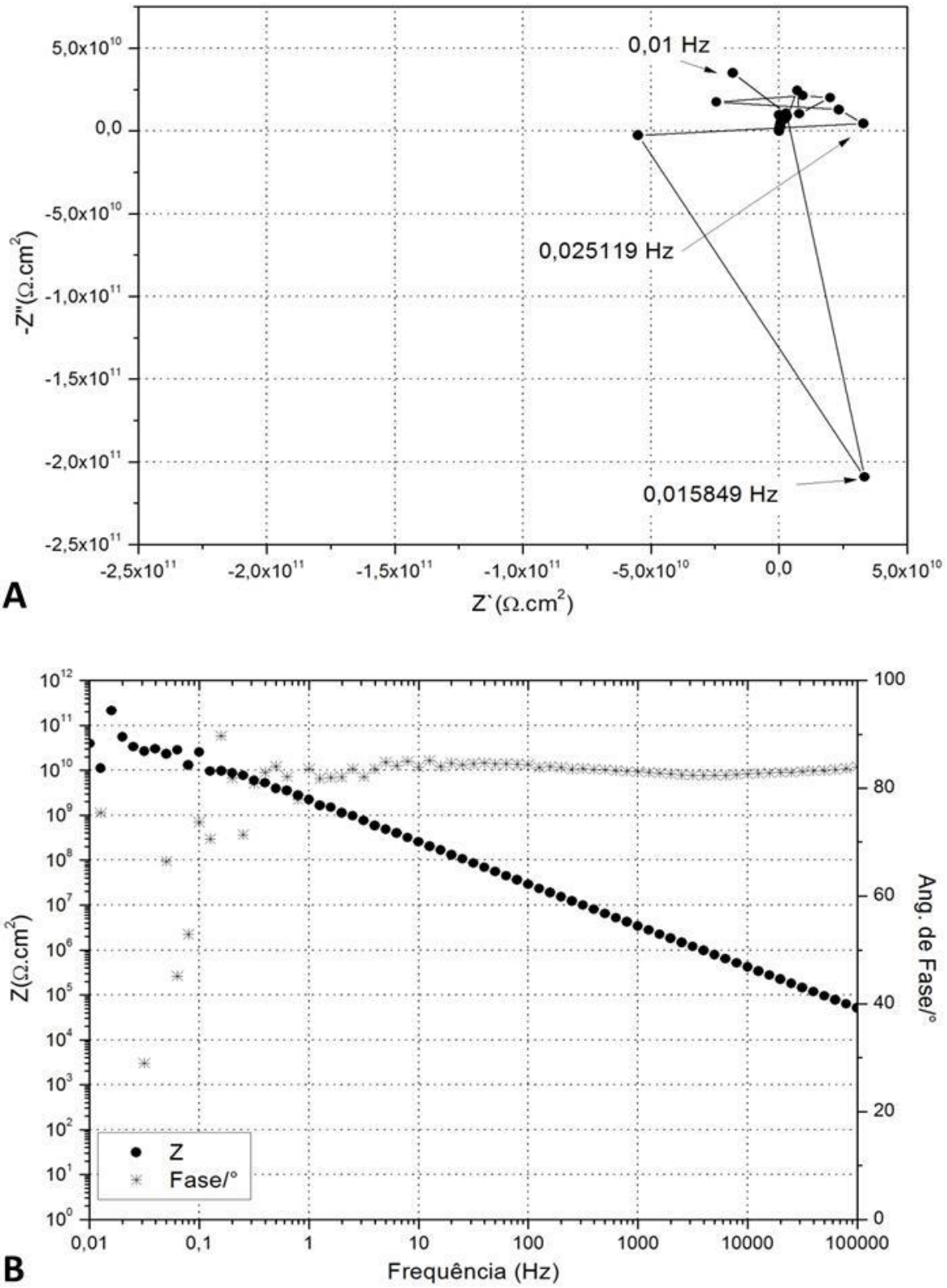


Figura 57. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Após 144 dias de imersão em água do mar sintética, observando os gráficos de Nyquist (Figura 57A) e Bode (Figura 57B) não há evidencia do processo de corrosão, visto que o ângulo de fase permanece próximo a 90° na região de altas até baixas frequências com o aumento gradativo dos valores de impedância. Desta forma, comparando o perfil apresentado pelos gráficos de Nyquist e Bode do revestimento de Nb_2O_5 associados a diminuição no valor de OCP indicam a manutenção da camada de tinta, não havendo indícios de delaminação ou descolamento.

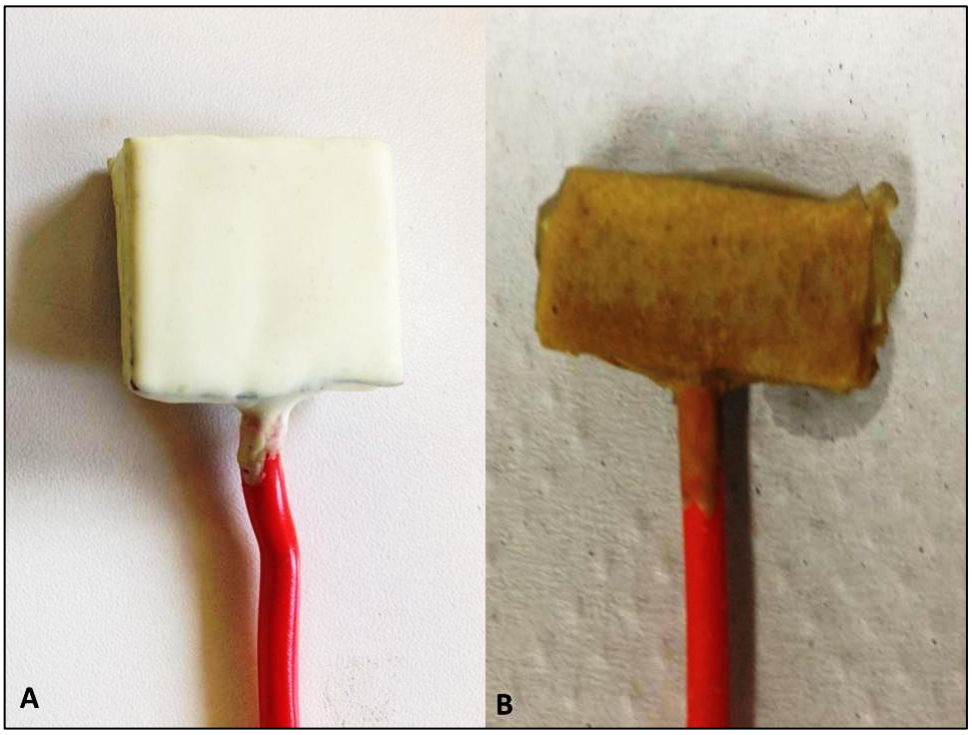


Figura 58. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Nb_2O_5: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.

Nas Figuras 59 e 60 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 com EPS em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 59A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 60A e B).

A análise do sistema inicial (Figura 59A) na presença do EPS indica um comportamento similar do revestimento de Nb_2O_5 ausente de EPS, isto é, uma contribuição de elementos capacitivos ao total da impedância obtida. Além disso, o gráfico de Bode (Figura 59B) demonstra em regiões de altas frequências um máximo no ângulo de fase próximo de 90° e baixo valor de impedância indicando com isso, que o revestimento possui um comportamento de barreira frente à permeação de água e eletrólitos. Nas regiões de médias e baixas frequências, os resultados obtidos com a incorporação do EPS foram os mesmos encontrados na ausência do polímero, isto é, não foi possível obter medidas confiáveis nas regiões de médias e baixas frequências devido a dispersão nos valores obtidos.

O valor do OCP encontrado no início da imersão em água do mar para o revestimento de Nb_2O_5 incorporado com EPS foi 0,000 $V_{Ag/AgCl}$, caracterizando um sistema isolante. Após 144 dias o valor do OCP (-0,116 $V_{Ag/AgCl}$) obtido foi similar ao valor encontrado no tempo final do revestimento na ausência de EPS, evidenciando uma condição final igual nos revestimentos com e sem EPS. Entretanto a diminuição no valor de OCP é menor no revestimento contendo EPS (Figura 61).

Após 144 dias de imersão em água do mar sintética, observando os gráficos de Nyquist (Figura 60A) e Bode (Figura 60B) há evidência de corrosão, visto que o ângulo de fase de 30° está localizado na região de altas frequências. Além disso, o valor de impedância permanece constante em todas as frequências analisadas, indicando que a forma de incorporação do EPS na tinta de Nb_2O_5, pode contribuir para a alteração da propriedade anticorrosiva do revestimento.

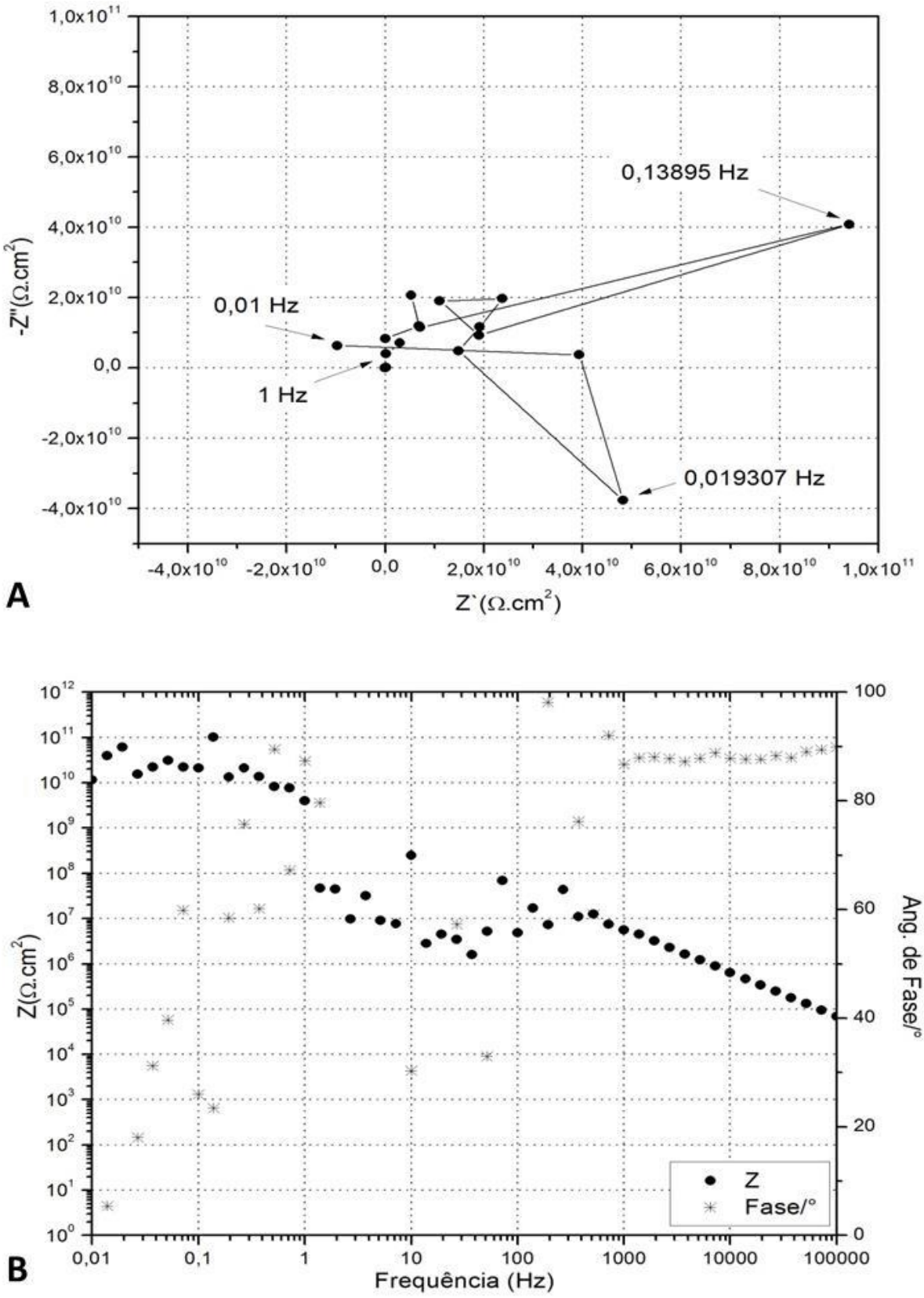


Figura 59. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

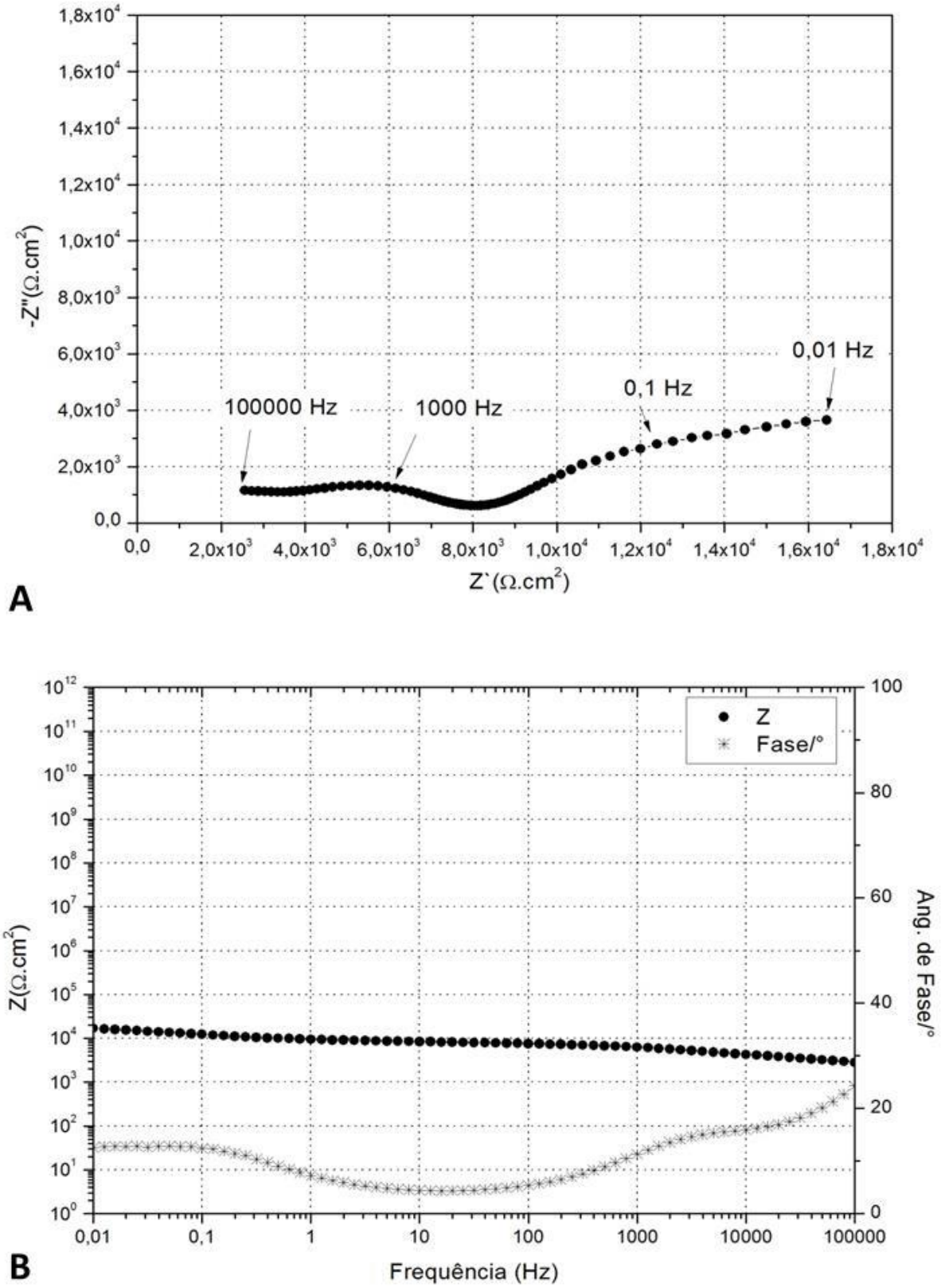


Figura 60. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

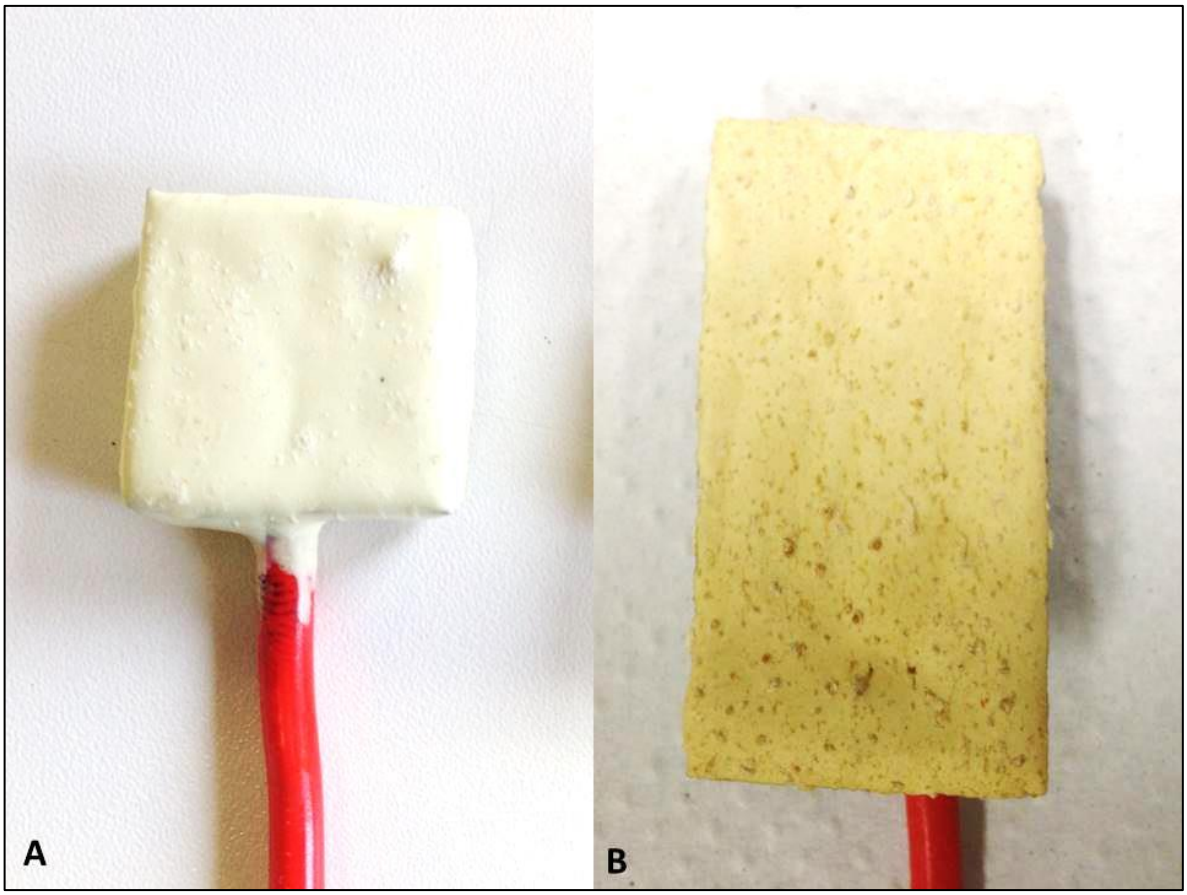


Figura 61. Aspecto visual dos corpos de prova revestidos com Nb_2O_5 incorporado com EPS: (A) antes da imersão e (B) após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.

Nas Figuras 62 e 63 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 62A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 63A e B). Os diagramas iniciais (Figura 62 e 63) apresentam grande dispersão devido ao seu grande efeito isolante, sendo considerado um sistema pobremente definido.

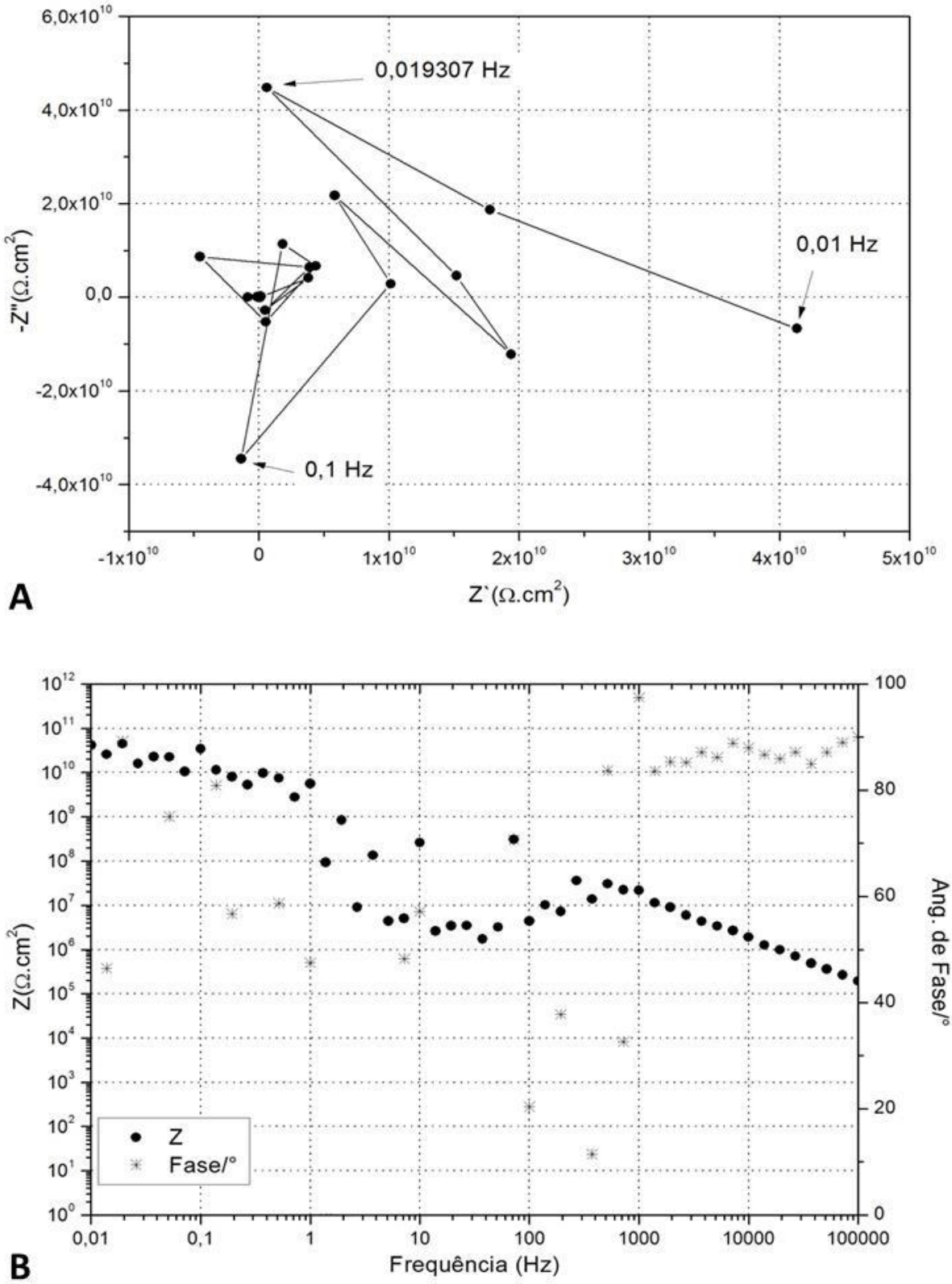


Figura 62. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

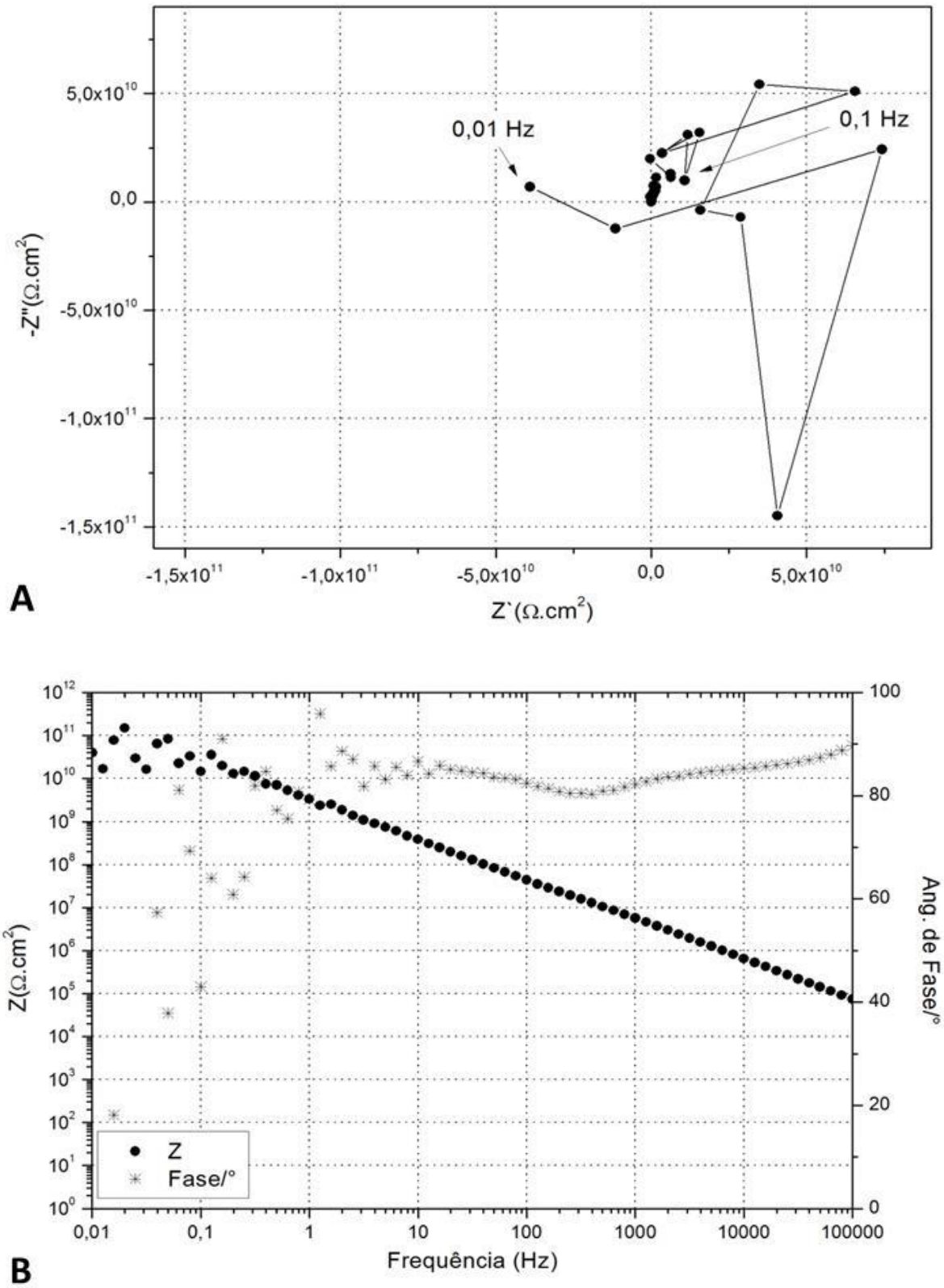


Figura 63. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

O valor do potencial em circuito aberto (OCP) encontrado para o revestimento a base de Nb_2O_5, no inicio do ensaio de imersão em água de produção do pós sal foi menor quando comparado ao valor medido após 144 dias de imersão sendo, respectivamente -0,031 $V_{Ag/AgCl}$ e 0,092 $V_{Ag/AgCl}$, evidenciando a formação de um filme decorrente do processo de degradação do revestimento (Figura 64). Além disso, os gráficos de Nyquist (Figura 63A) e Bode (Figura 63B) permanecem com as dispersões em baixas frequências, indicando a manutenção do seu efeito isolante e corroborando com o valor de ângulo de fase de aproximadamente 90° em regiões de altas e médias frequências.

Figura 64. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.

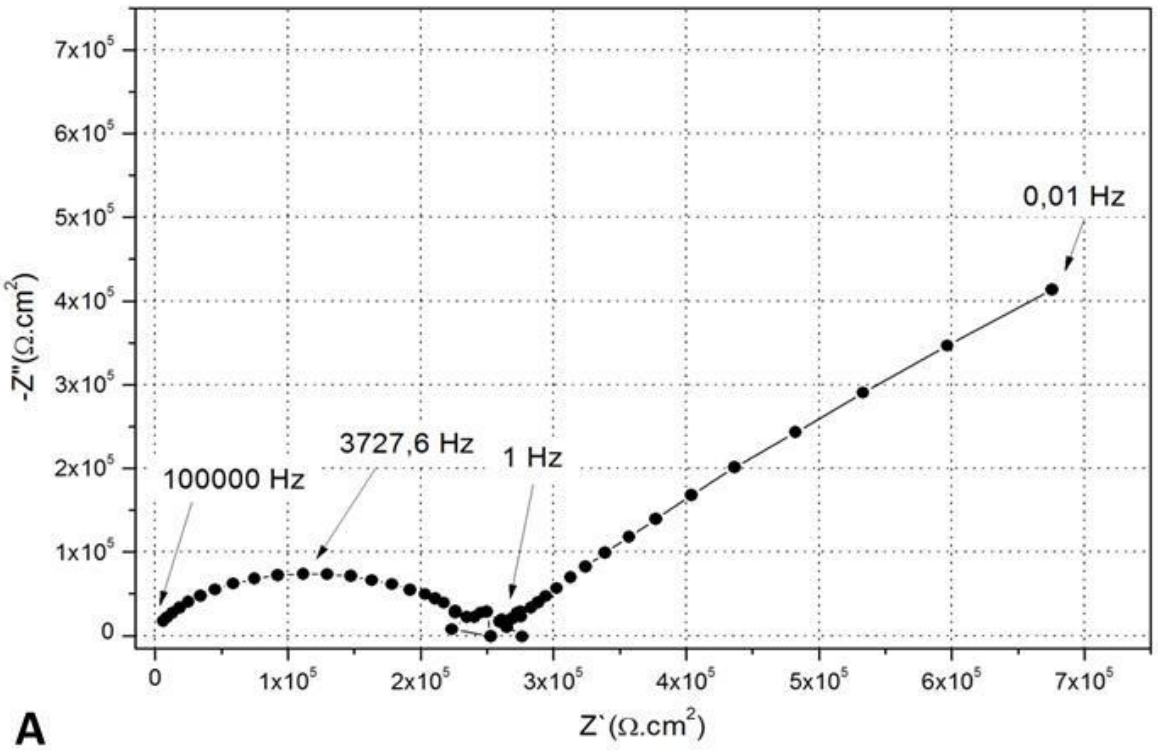
Nas Figuras 65 e 66 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referentes ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 65A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 66A e B).

Com a incorporação do EPS no revestimento composto com pigmento de Nb_2O_5 e imerso em água de produção do pós-sal com realização do ensaio de EIE com amplitude de 10 mV, observamos no diagrama de Nyquist (Figura 65A) a indicação de uma constante de tempo, sendo referência ao comportamento de barreira do revestimento, uma dispersão na região de médias frequências associado à transferência de massa e impedância de Warburg que está associada à corrente faradaica resultante da transferência de elétrons na interface revestimento/solução. Essas informações corroboram com o perfil do gráfico de Bode (Figura 65B), onde em regiões de altas frequências observamos o comportamento de barreira, a dispersão na região de médias frequências e a resistência a transferência de elétrons na interface metal/solução na região de baixas frequências.

Após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal, observamos que há uma mudança nos valores medidos inicial e final pelo potencial em circuito aberto, sendo modificado de -0,412 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,557 $V_{Ag/AgCl}$. Estes potenciais representaram os menores valores obtidos para o OCP nos tempo iniciais e finais dos ensaios realizados com revestimentos de óxido de nióbio imerso em água de produção do pós-sal.

A degradação da tinta de Nb_2O_5 incorporada com EPS (Figura 67), no gráfico de Nyquist (Figura 66A) e Bode (Figura 66B), apresenta entre as frequências de 100000 Hz e 10000 Hz o efeito de barreira do EPS, sendo observado como uma inflexão nos gráficos. Além disso, os valores de impedância e ângulo de fase são

menores após o processo de degradação do revestimento, demonstrando pouca resistência a transferência de massa e carga pelo revestimento.



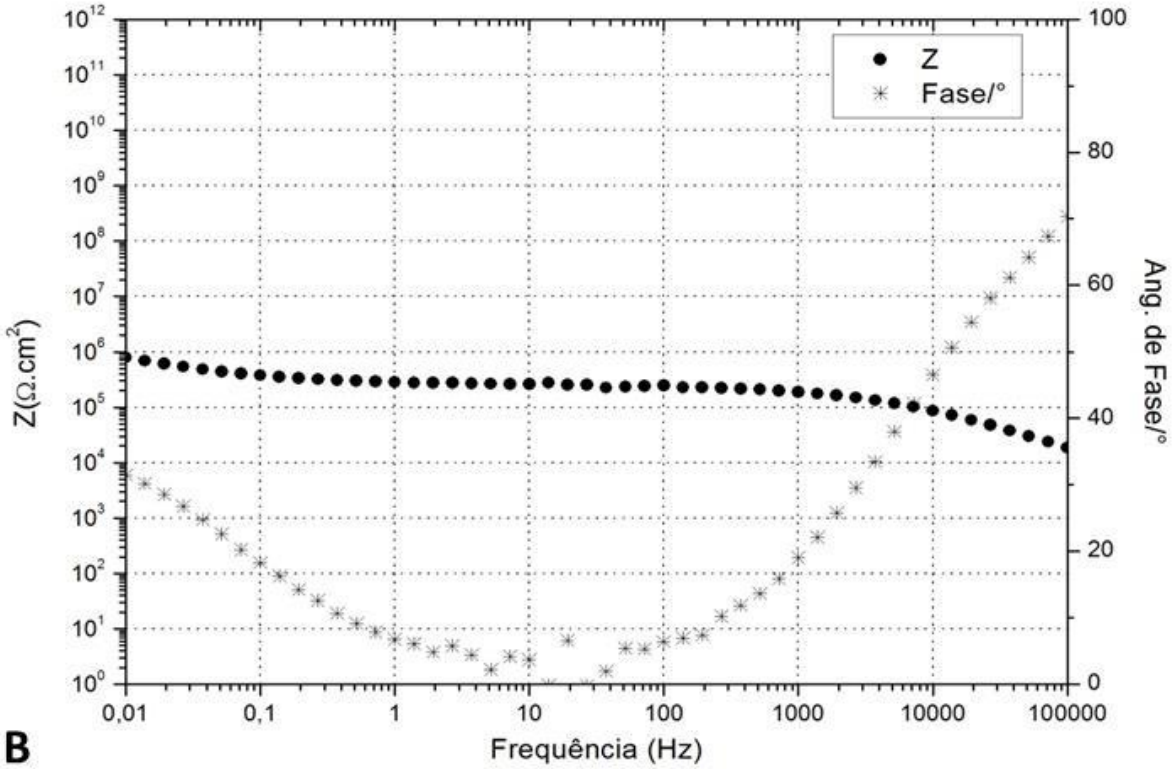
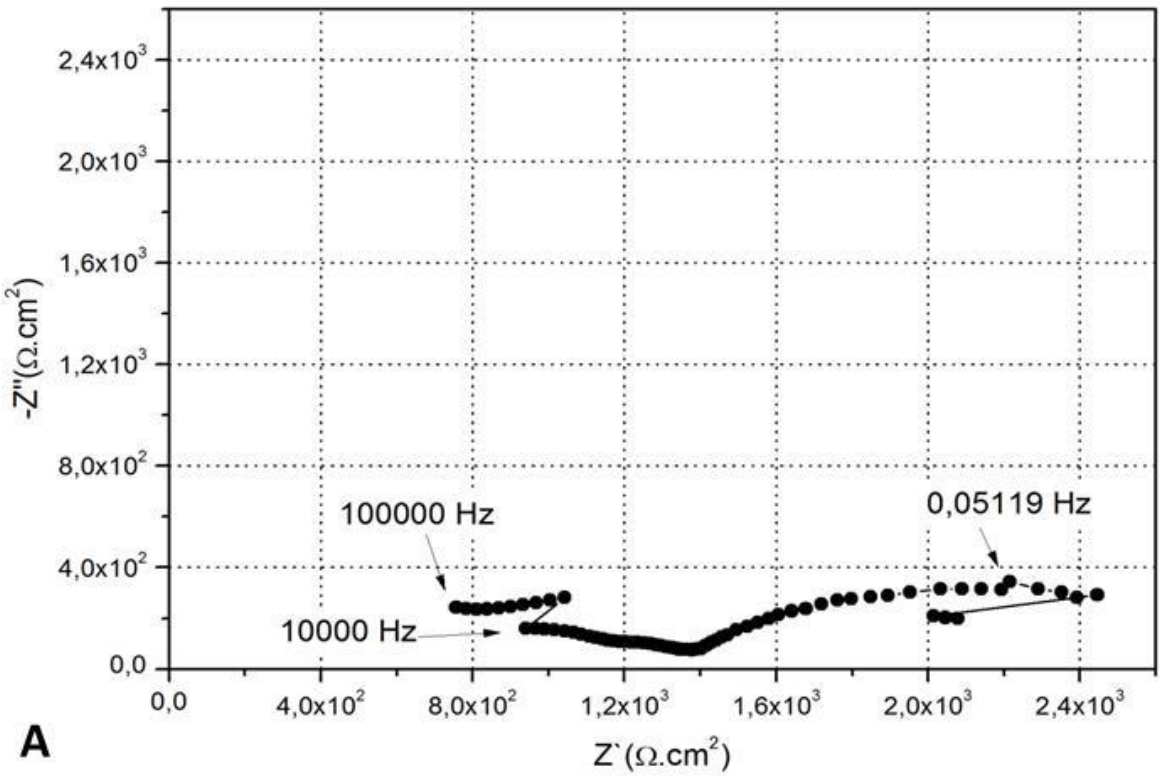


Figura 65. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.



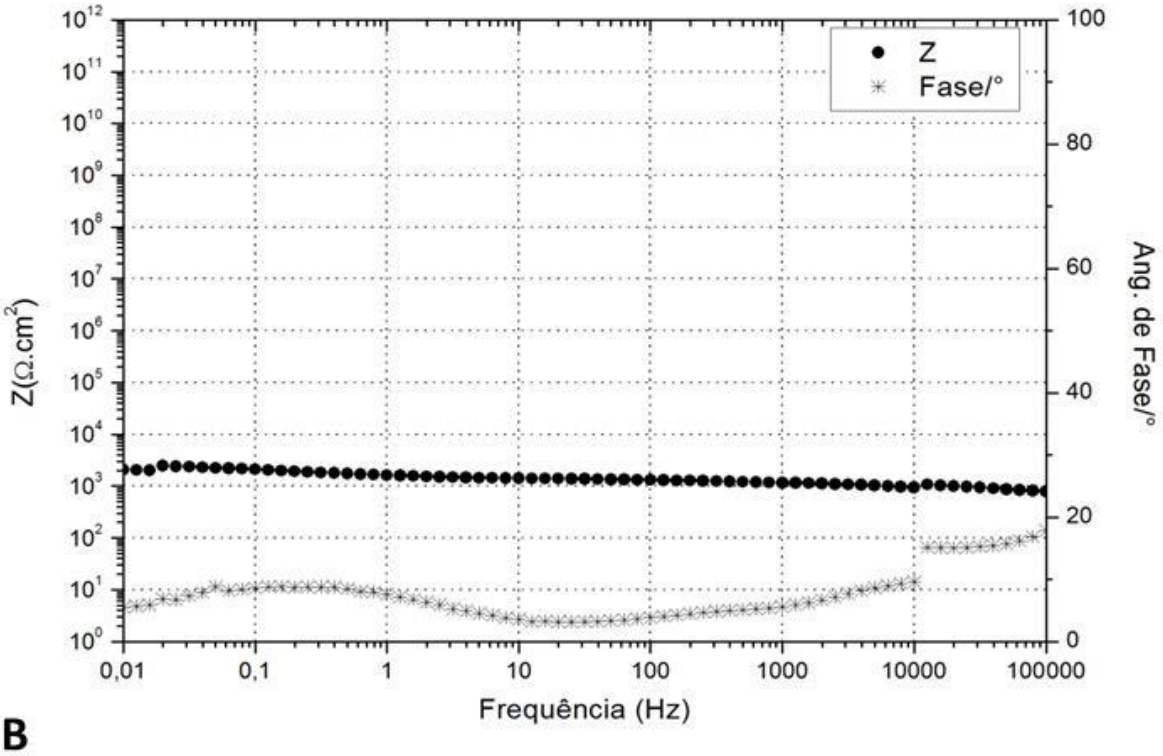
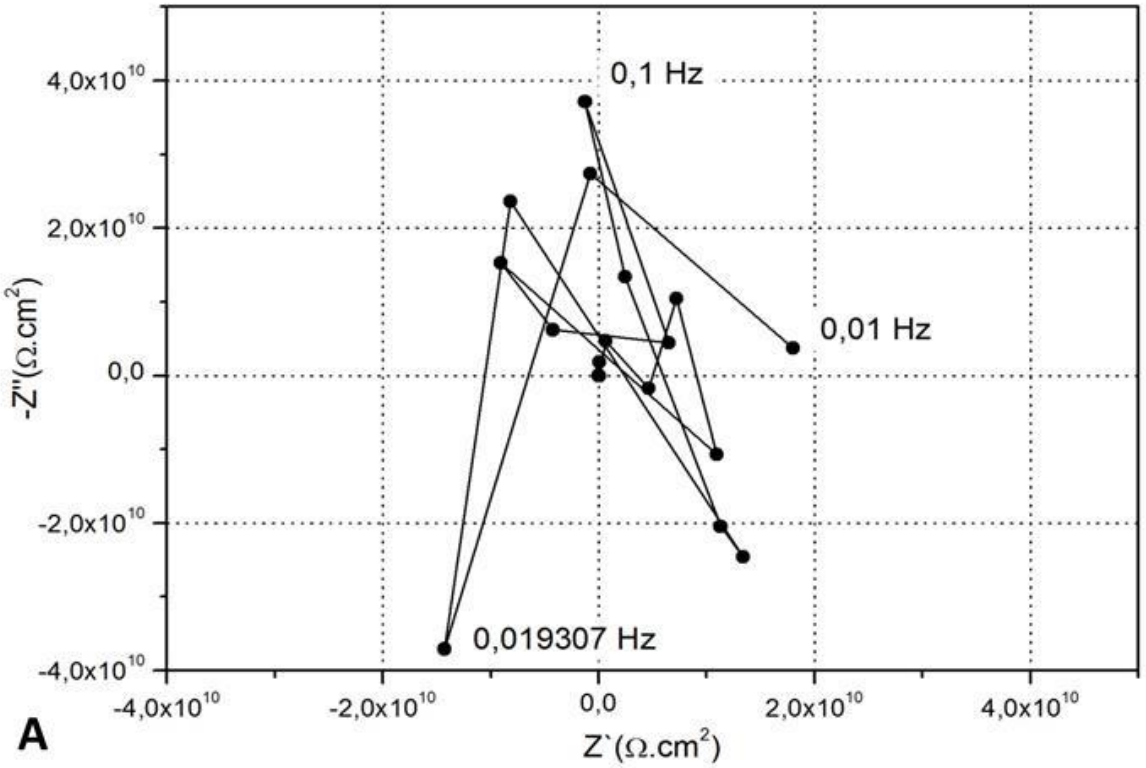


Figura 66. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Figura 67. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.

Nas Figuras 68 e 69 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referentes ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 68A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 69A e B).

O ensaio de EIE com amplitude de 10 mV no revestimento composto com pigmento de Nb_2O_5 e imerso em água de produção do pré-sal inicialmente se apresenta com um comportamento de barreira (isolante), demonstrado pela grande dispersão no gráfico de Nyquist (Figura 68A) e ângulo de fase de ~90° no gráfico de Bode (Figura 68B) na região de altas frequências. Com esta amplitude de sinal aplicada podemos visualizar uma grande dispersão dos valores medidos nas diferentes frequências, caracterizando-o como um sistema pobremente definido.



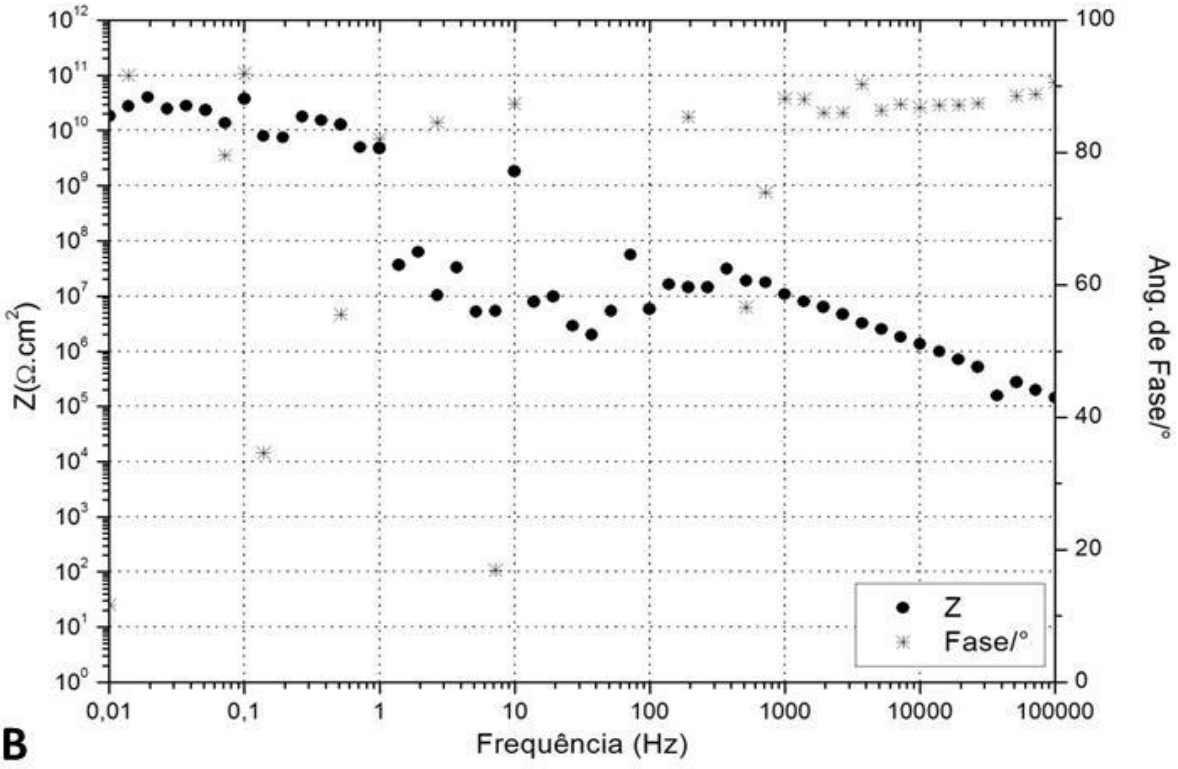


Figura 68. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

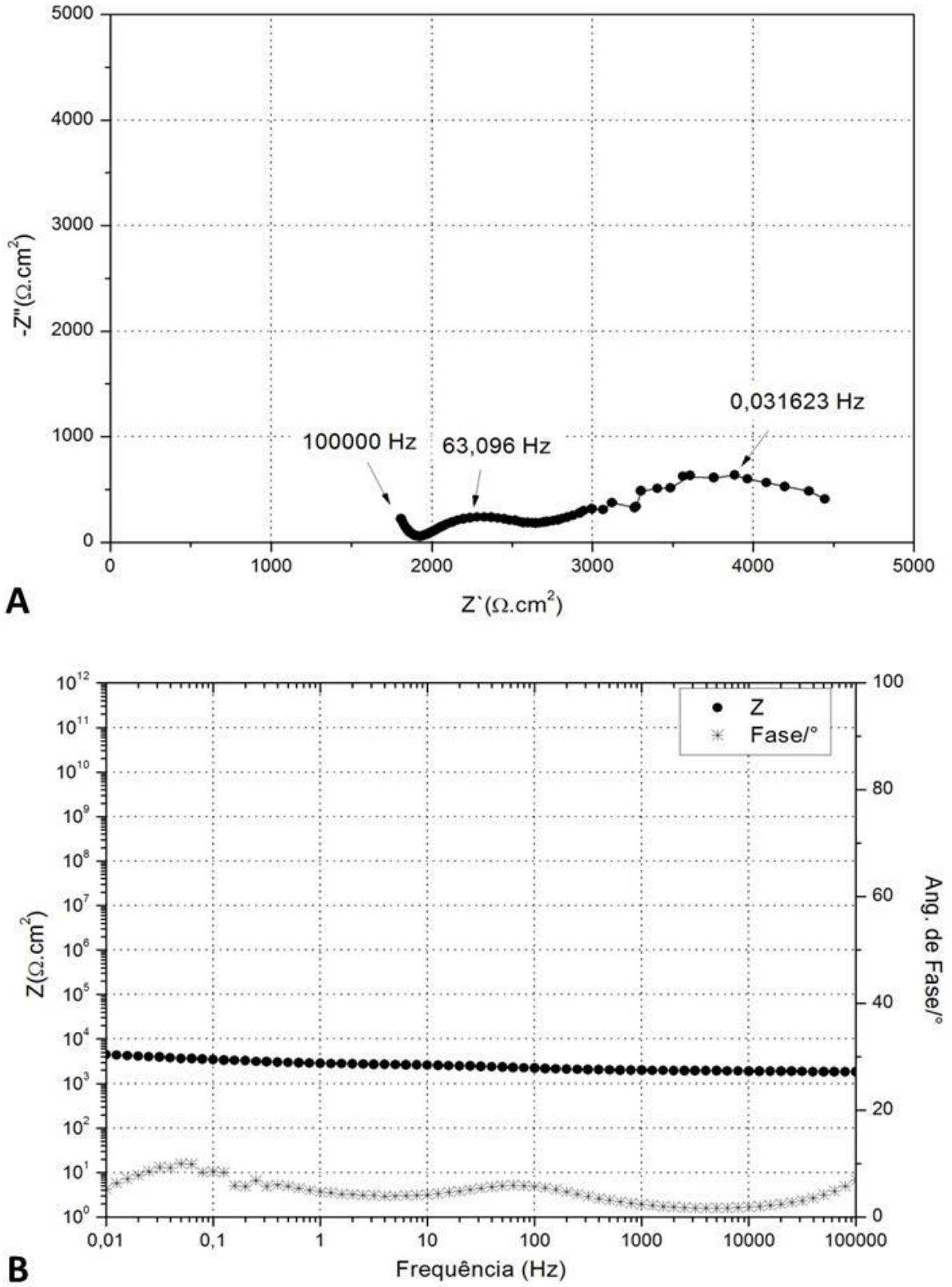


Figura 69. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Após a degradação da tinta de Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal (Figura 70), no gráfico de Nyquist (Figura 69A), observamos diferentes constantes de tempos associadas a diferentes processos de transferência de carga, associadas as pequenas amplitudes nos valores de ângulo de fase no gráfico de Bode (Figura 69B), onde não é observada modificação nos valores de impedância. Essas informações fundamentam a diferença encontrada no valor de potencial em circuito aberto após a degradação do revestimento/metal passando de -0,111 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,258 $V_{Ag/AgCl}$.

Figura 70. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.

Nas Figuras 71 e 72 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 71A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 72A e B).

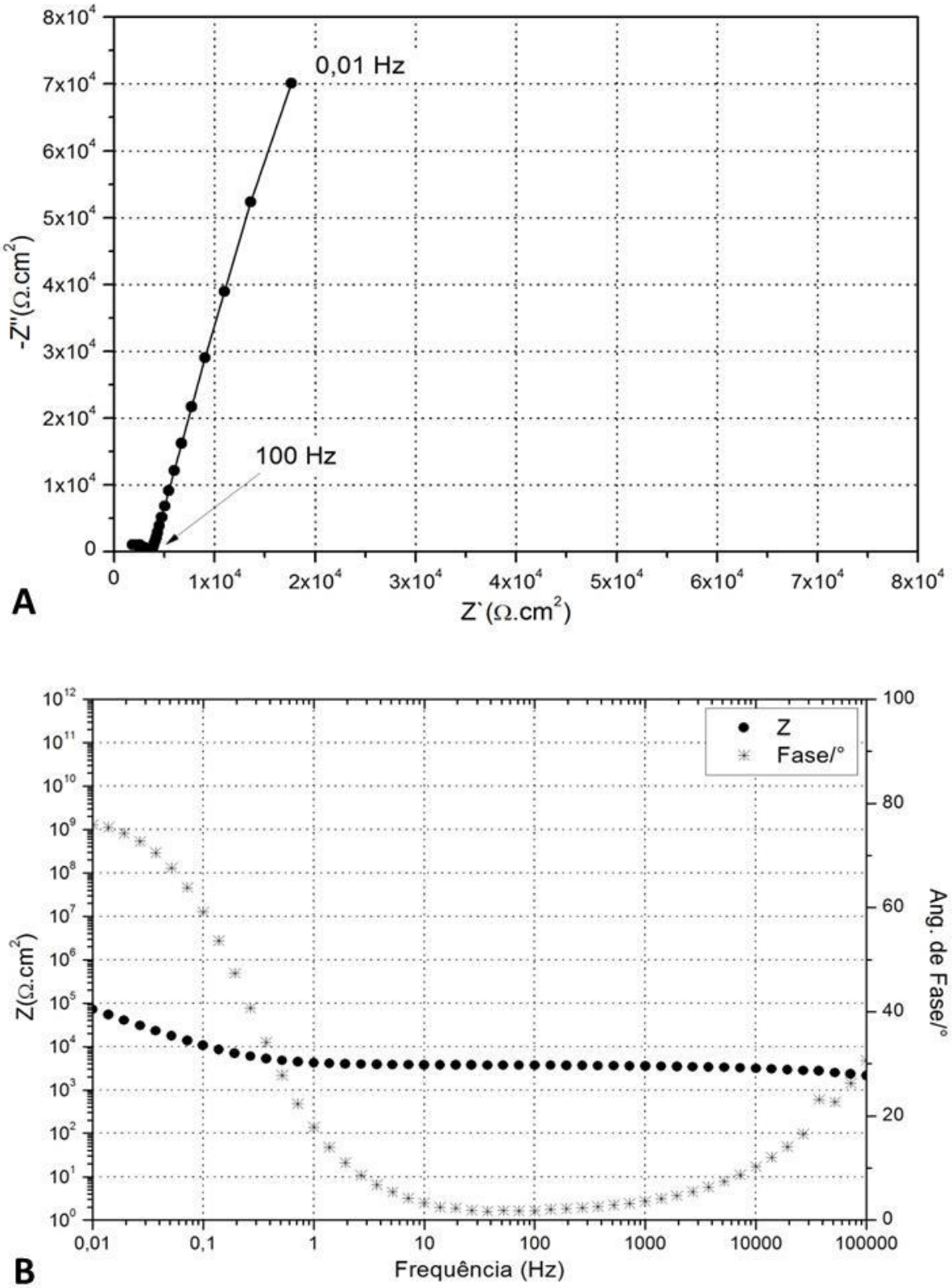


Figura 71. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

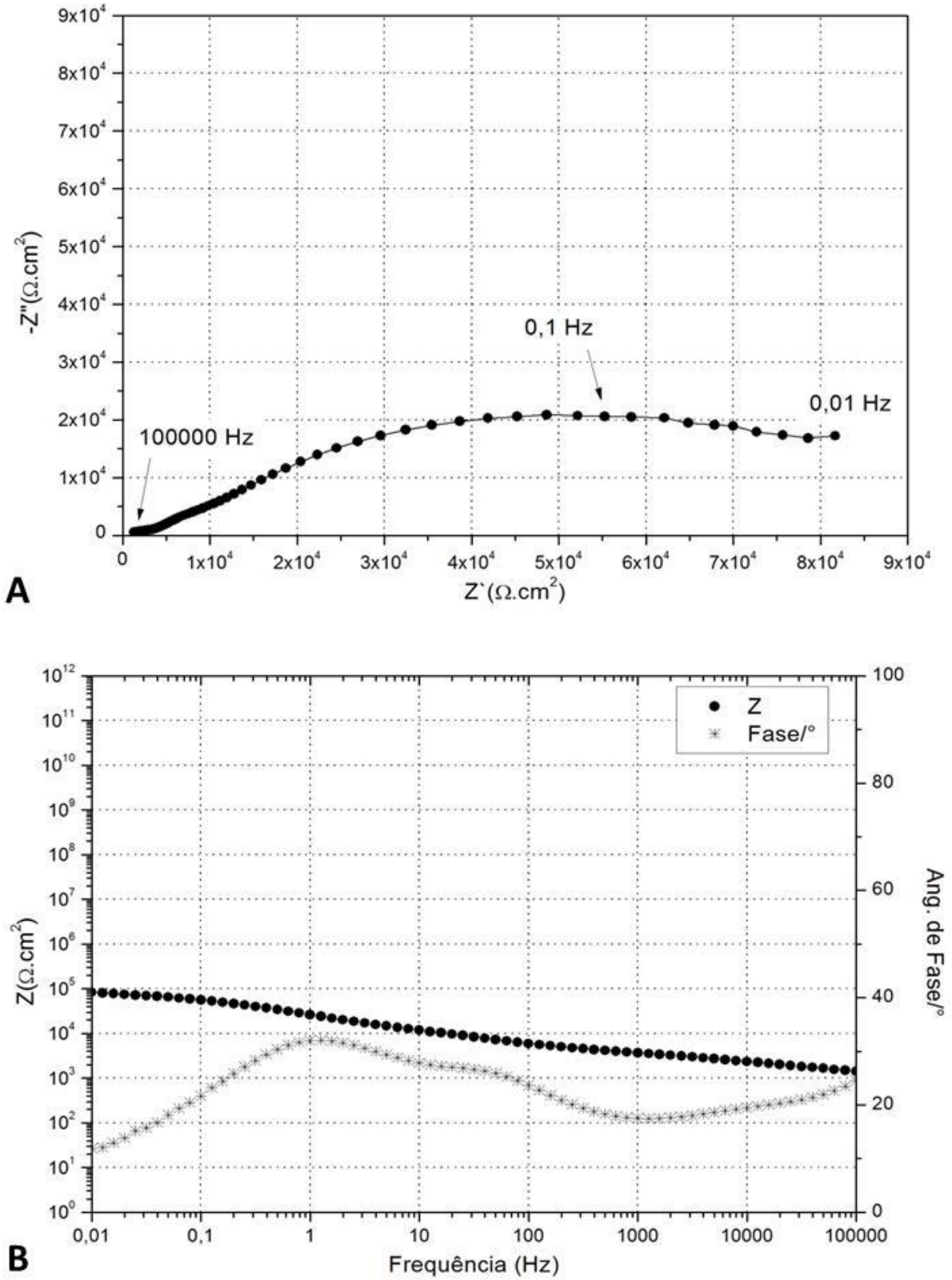


Figura 72. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 10 mV.

Observando o diagrama de Nyquist (Figura 71A) temos duas constantes de tempo, sendo a primeira associada camada de EPS e a segunda ao comportamento da tinta de Nb_2O_5. Podemos observar pelo gráfico de Bode (Figura 71B) que da região de altas frequências até 100 Hz temos o comportamento de barreira e resistência a transferência de massa pelo EPS. Em frequências menores que 100 Hz é evidenciado o comportamento de barreira e transferência de massa do revestimento de óxido de nióbio, visto que o ângulo de fase aumenta para valores próximos de 80° juntamente com um progressivo aumento da impedância. Entretanto os valores OCP no tempo inicial e final foram respectivamente -0,471 $V_{Ag/AgCl}$ e -0,612 $V_{Ag/AgCl}$, indicando maior porosidade no revestimento ocasionado pela interação dos óxidos de nióbio com o EPS (Figura 73).

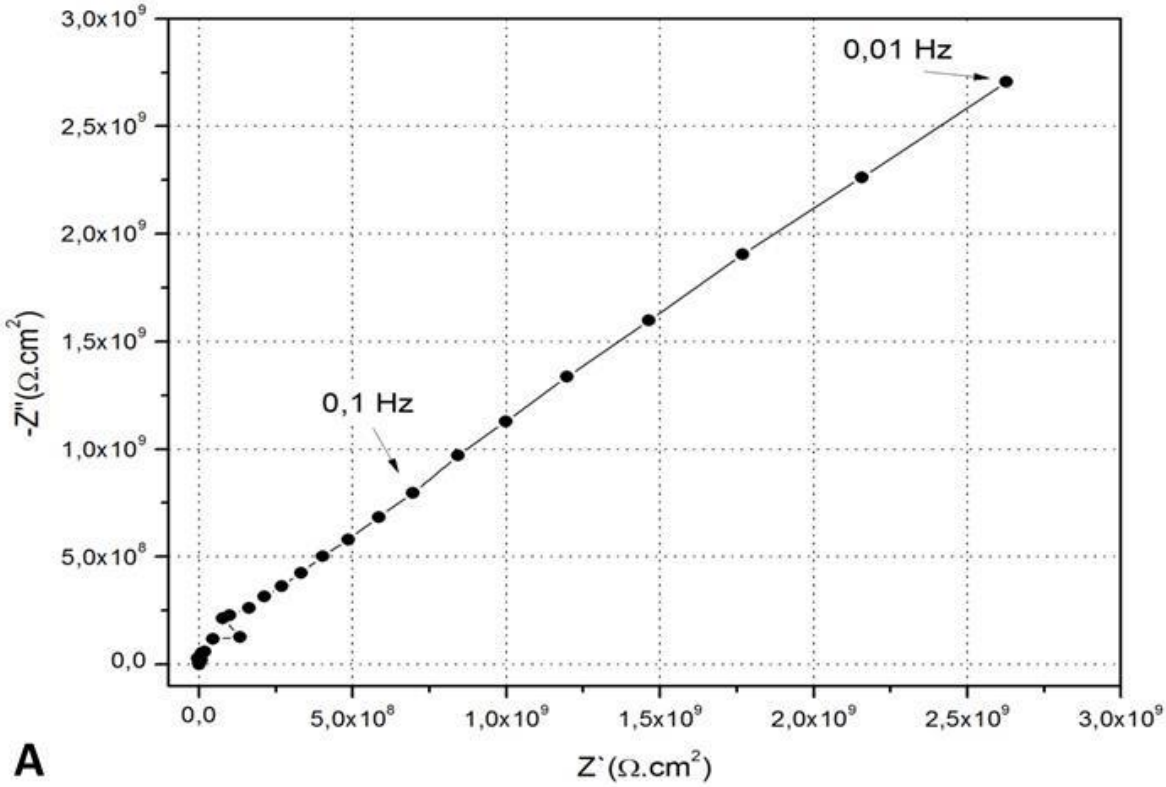
Figura 73. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 10 mV.

- **Ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.**

Nas Figuras 74 e 75 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 74A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 75A e B).

A análise do sistema inicial (Figura 74A) indica um comportamento similar do revestimento de Nb_2O_5, quando comparado com os resultados iniciais do revestimento aplicando perturbação de 10 mV. Entretanto, com a aplicação de 350 mV observa-se menor dispersão nos valores medidos. De acordo com os valores do ângulo de fase próximos de 90° nas regiões de altas frequências associados a valores de impedância crescentes (Figura 74B), demonstra-se que o revestimento se apresenta como uma barreira a permeação da água e eletrólitos. O valor de OCP encontrado no início e após 144 dias de imersão em água do mar (Figura 76), foi modificado de -0,168 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,342 $V_{Ag/AgCl}$, evidenciando ao final do ensaio o menor valor de OCP, quando comparado aos ensaios realizados com o mesmo revestimento e amplitude de sinal de 10 mV.

Akbarinezhad *et al*. (2008) realizou ensaios de impedância eletroquímica aplicando perturbações de 400 mV e, concluíram que a aplicação de altas amplitudes devem ser utilizadas para revestimentos epóxi com alta resistência e, não observaram degradação do revestimento utilizando altas perturbações. Comparando os resultados iniciais dos gráficos de Bode dos ensaios com 10 mV e 350 mV em água do mar sintética, observamos a indicação que não houve degradação do revestimento ocasionada pelo uso da alta amplitude de sinal. Após 144 dias de imersão, o revestimento de Nb_2O_5 apresenta duas constantes de tempo no gráfico de Nyquist (Figura 75A), indicando o comportamento do revestimento e interações na interface revestimento solução.



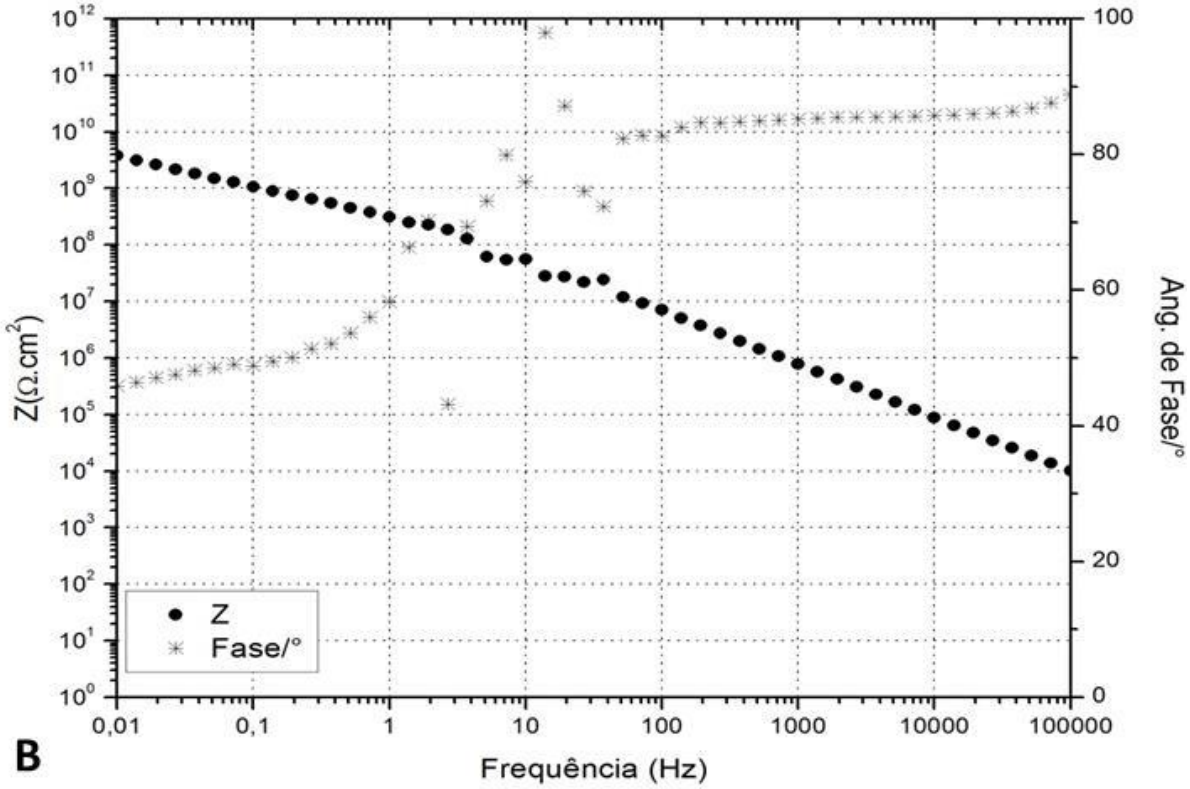
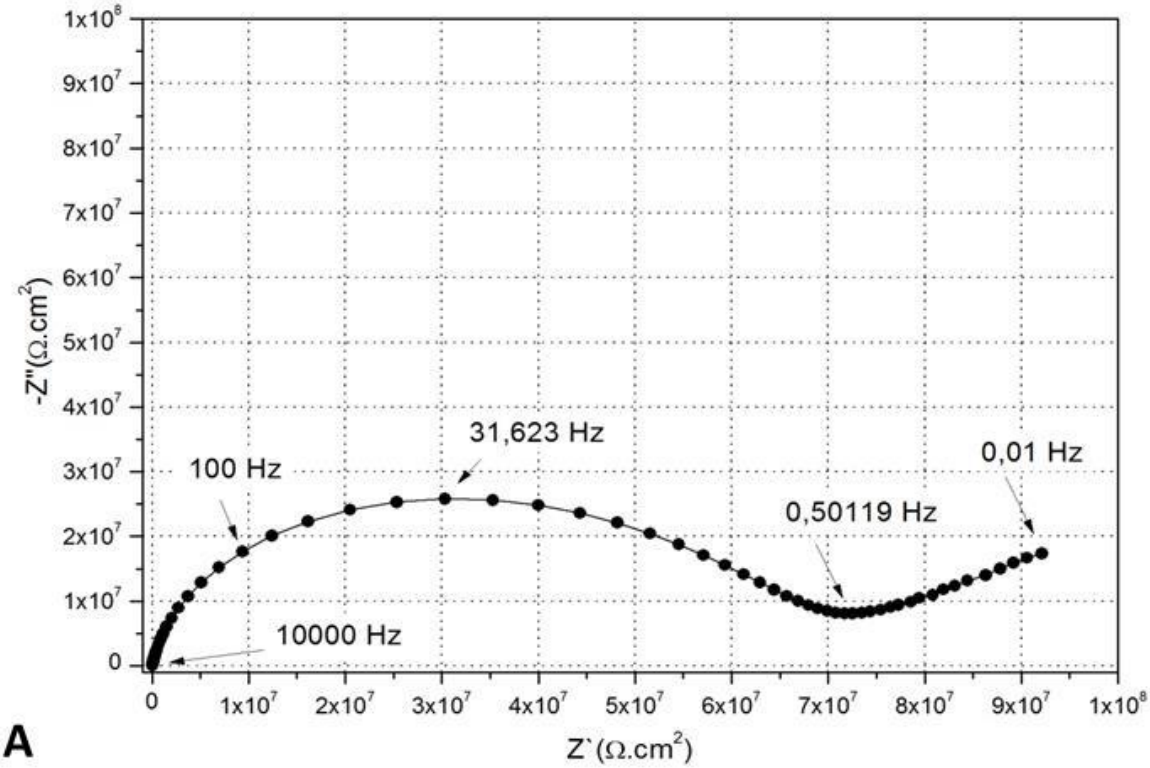


Figura 74. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética , t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.



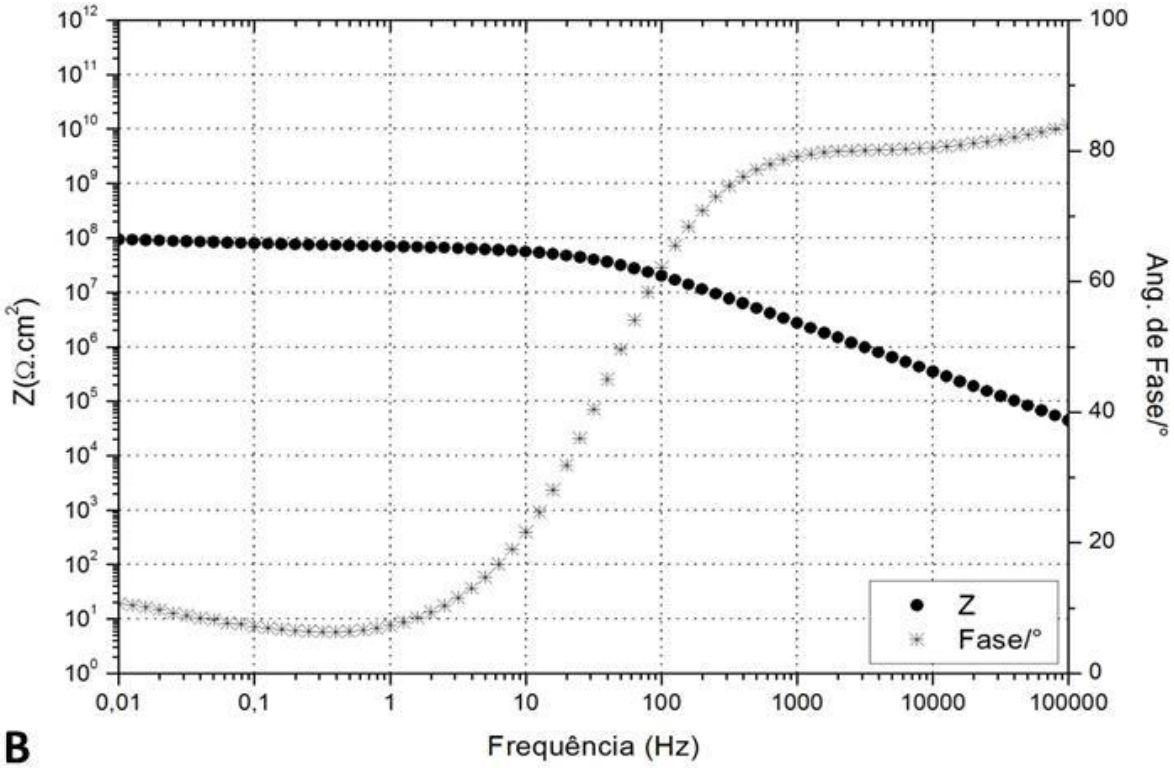


Figura 75. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

No gráfico de Bode, na região de médias frequências, o ângulo de fase menor que 45° (Figura 75B) indica processos de delaminação do material ocasionado pela aplicação de 350 mV no ensaio de EIE. A região de baixas frequências apresenta uma maior resistência a transferência de carga ocasionada pela reação do eletrólito com os óxidos de nióbio. Na Figura 76, é apresentado o aspecto macroscópico do corpo de prova após 144 dias de imersão.

Figura 76. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 77 e 78 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 com EPS em água do mar sintética no tempo inicial (Figura 77A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 78A e B).

A análise do sistema inicial (Figura 77A) indica pouca contribuição de elementos capacitivos ao revestimento. A aplicação da perturbação de 350 mV pelo ensaio de impedância eletroquímica no revestimento de Nb_2O_5 incorporado com EPS não apresenta dispersão nos dados obtidos. Através do gráfico de Nyquist (Figura 77A), podemos observar, na região de altas frequências um valor menor do ângulo de fase indicando uma menor barreira a permeação de água e, em baixas frequências, um aumento gradativo no ângulo de fase, podendo indicar a resistência da transferência de carga. Essas informações corroboram com as constantes de tempo apresentadas no diagrama de Nyquist (Figura 77B), onde podemos observar uma maior indução da difusão de eletrólitos ocasionada principalmente pela modificação do sistema pelo perturbação de 350 mV.

O valor do potencial em circuito aberto (OCP) encontrado no inicio e após 144 dias de imersão em água do mar manteve-se praticamente constante com mudança de -0,445 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,462 $V_{Ag/AgCl}$ (Figura 79). Observando o gráfico de Nyquist (Figura 78A) observamos a ocorrência de diferentes processos após a aplicação de 350 mV no revestimento após o período de imersão. Segundo o gráfico de Bode (Figura 78B), a diminuição no valor do ângulo de fase na região de altas frequências, demonstra a diminuição da resistências dos poros no revestimento onde, inicialmente a tinta a base de óxido de nióbio com EPS tem um comportamento capacitivo e, após 144 dias de imersão em água do mar é reduzido para aproximadamente 25° acompanhado da diminuição dos valores de impedância, apresentando um comportamento resistivo. A manutenção da camada polimérica pode ser evidenciada pela inflexão formada no gráfico de Nyquist e Bode (Figura 78 A e B) na frequência de 1 Hz.

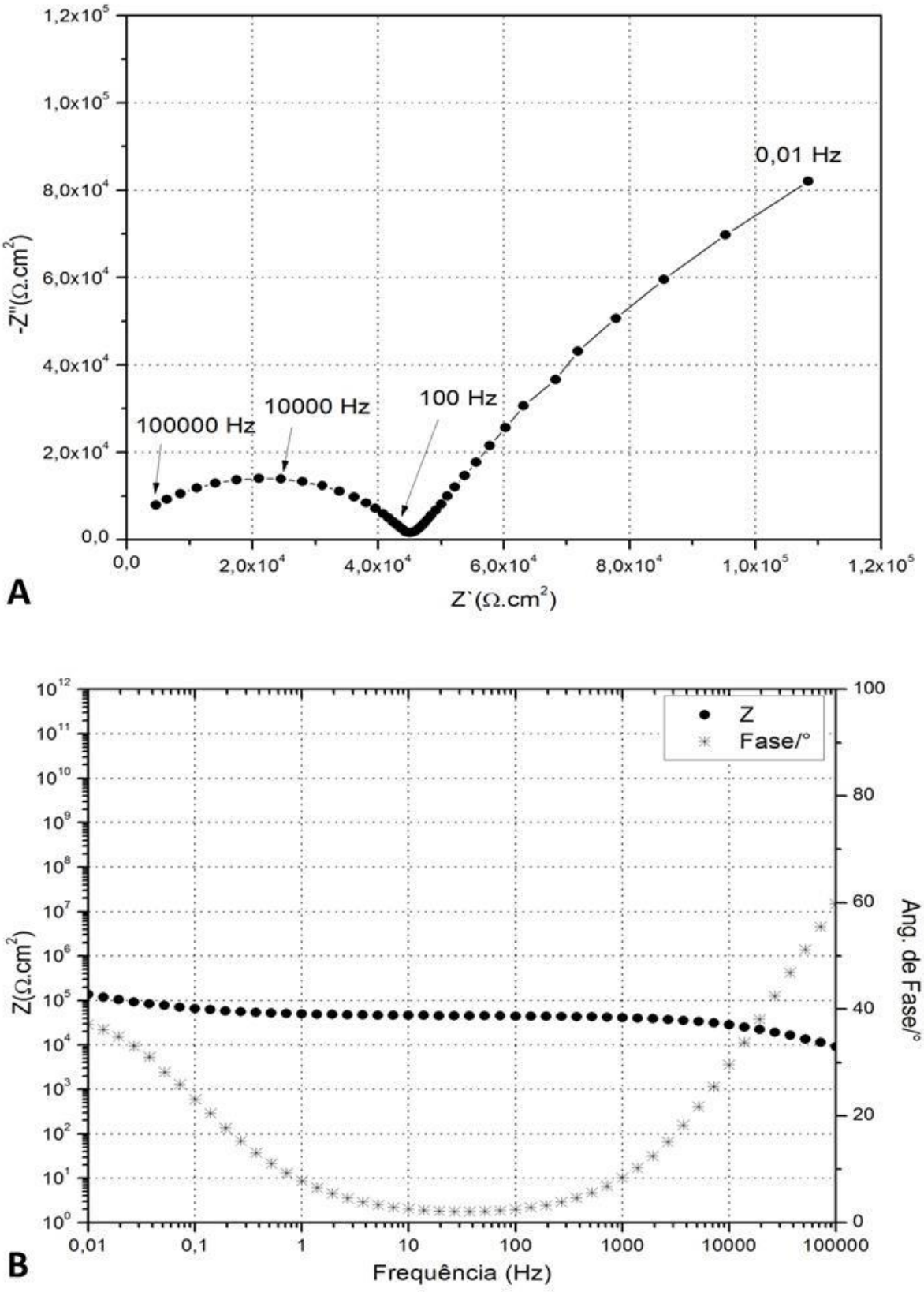
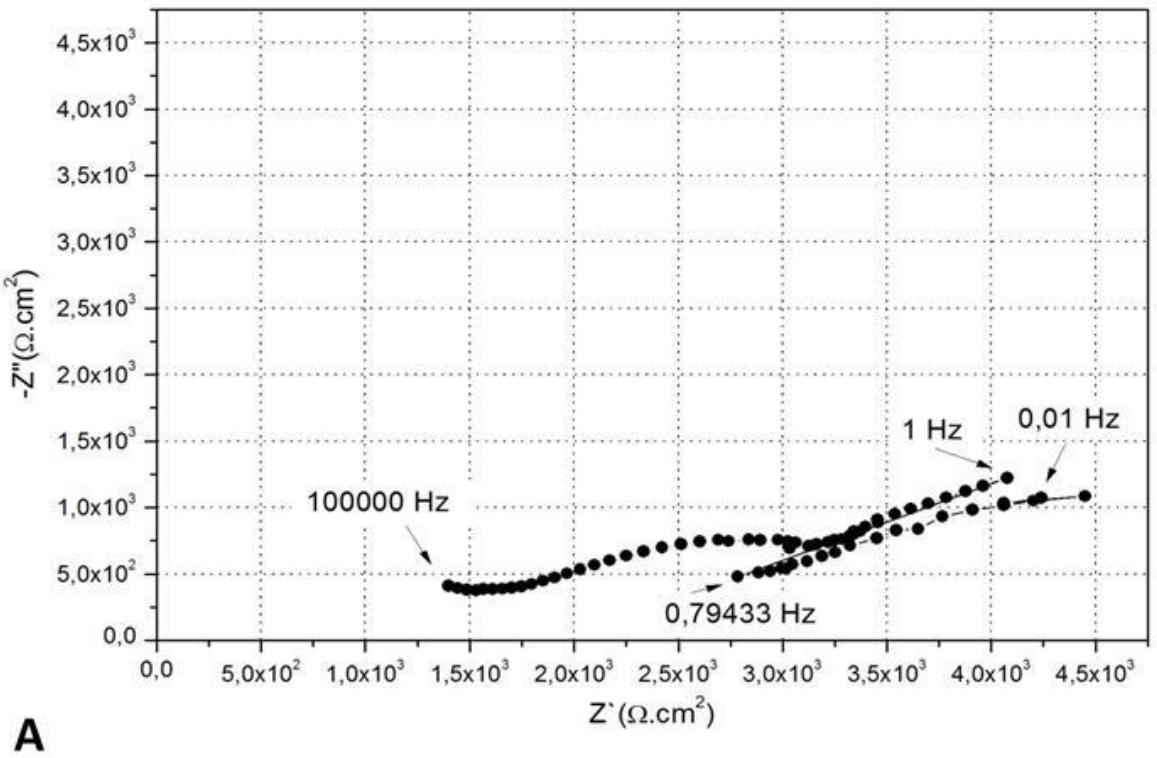


Figura 77. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imerso em água do mar sintética, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.



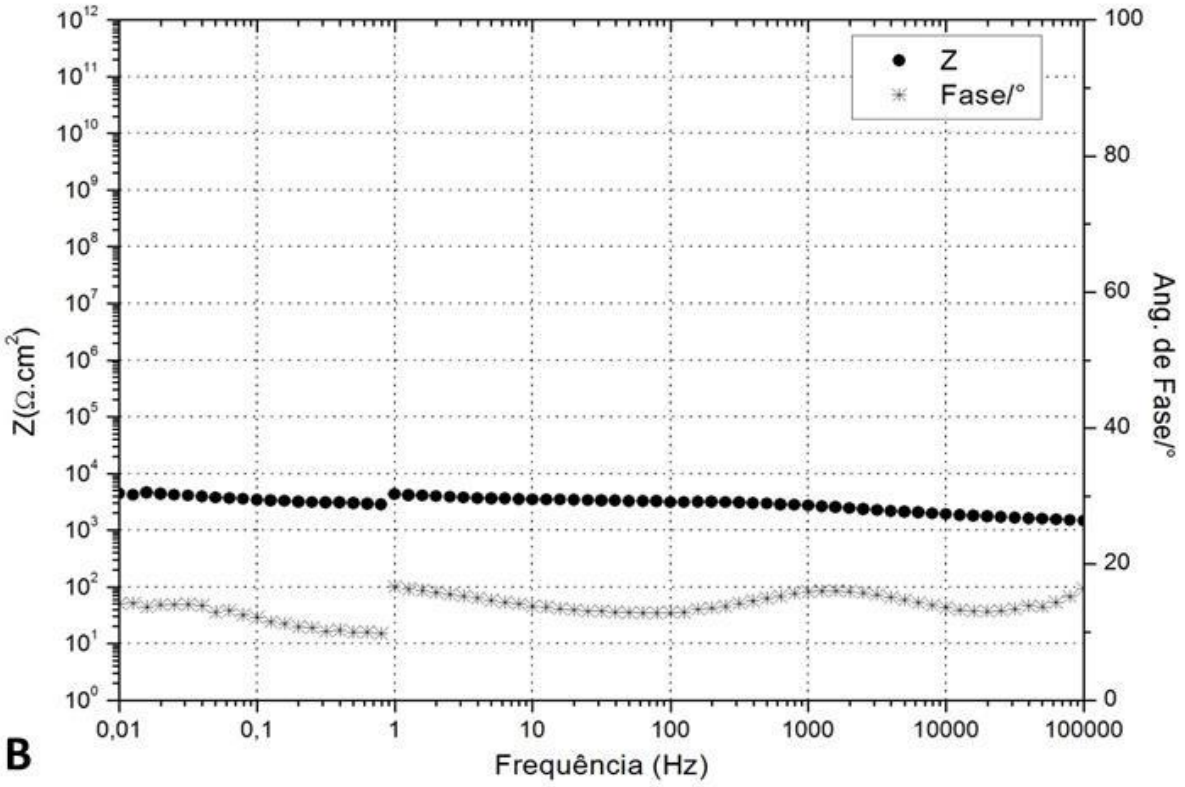


Figura 78. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imerso em água do mar sintética, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Figura 79. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água do mar sintética com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 80 e 81 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 80A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 81A e B).

Com a realização do ensaio de EIE com amplitude de 350 mV, o revestimento composto com pigmento de Nb_2O_5 imerso em água de produção do pós-sal inicialmente se apresenta com um comportamento capacitivo, demonstrado pelo ângulo de fase de ~90° no gráfico de Bode na região de altas frequências (Figura 80B). Com a aplicação a perturbação de 350 mV, no gráfico de Bode podemos visualizar um diminuição na dispersão dos valores medidos nas diferentes frequências quando comparado com os resultados inicias de 10 mV. Entretanto, não podemos tirar indicações de fenômenos iniciais através do gráfico de Bode (Figura 80B).

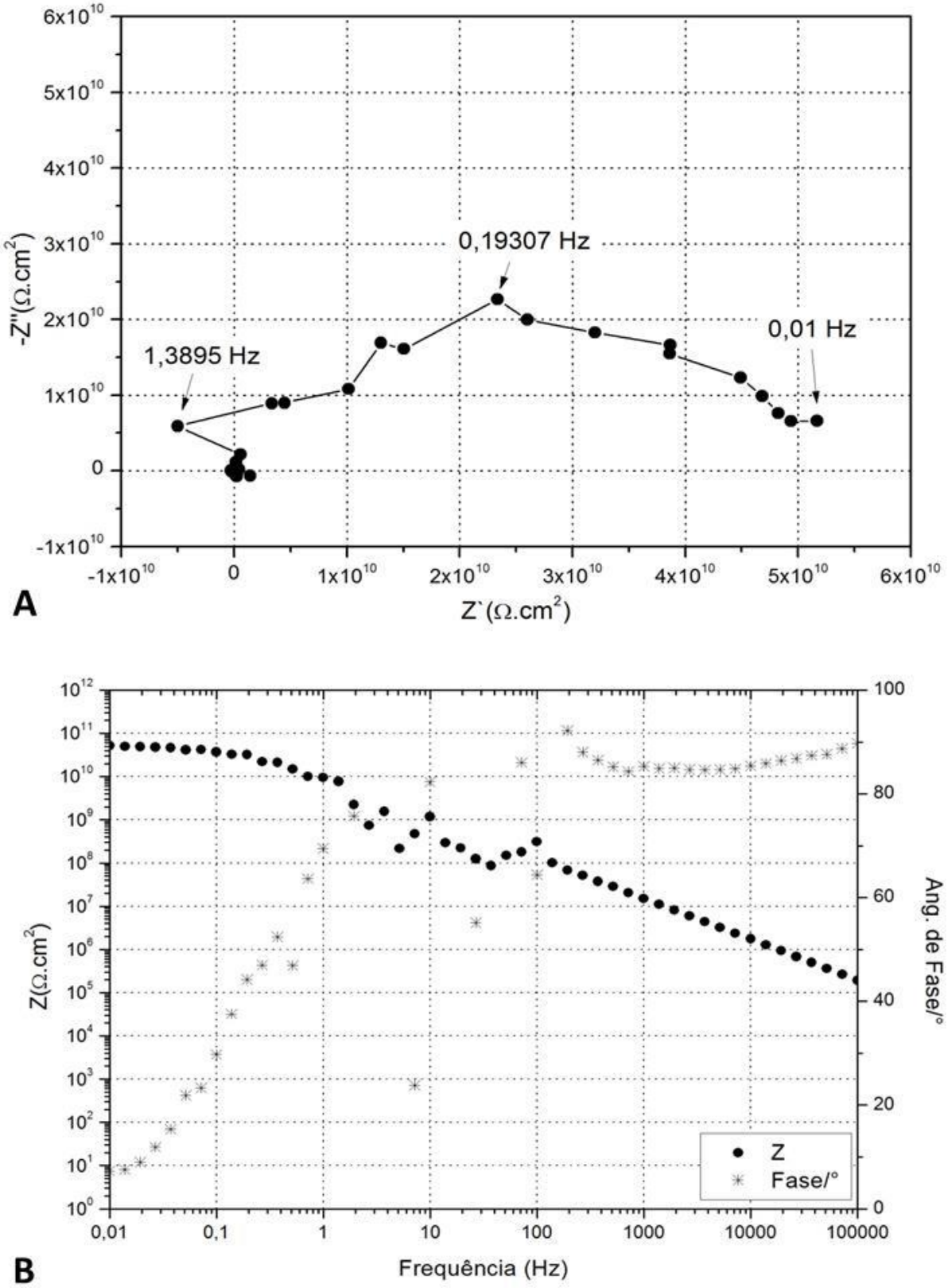
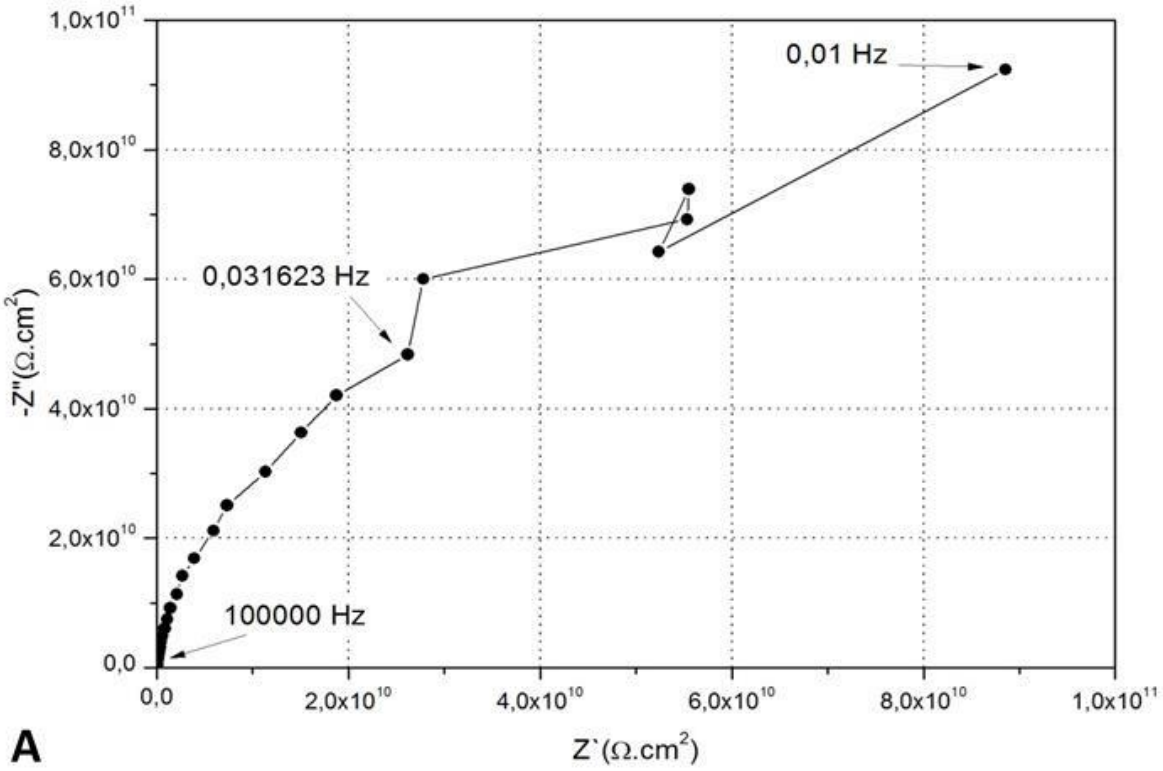


Figura 80. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imerso em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.



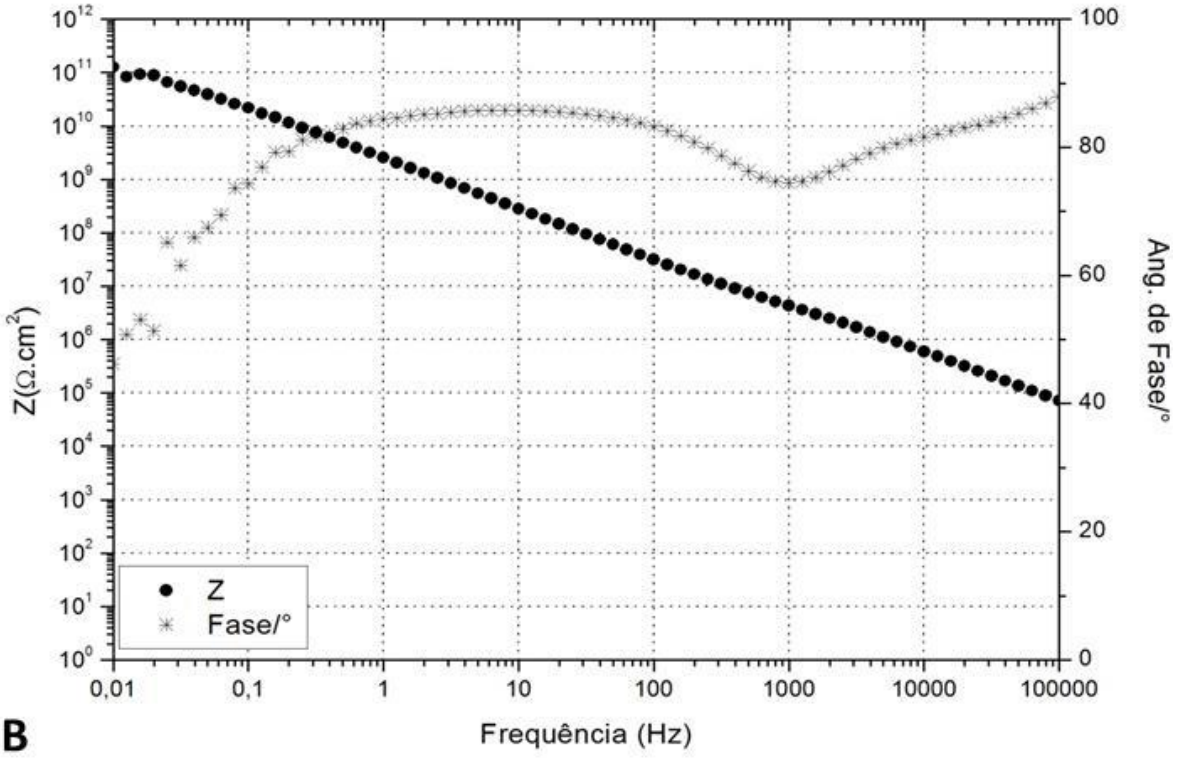


Figura 81. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imerso em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Os valores de OCP pouco se modificaram antes e após 144 dias de imersão do revestimento passando inicialmente de -0,016 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,195 $V_{Ag/AgCl}$. Da mesma forma, não foi observada variação tanto nos valores de impedância (Figura 81A), quanto nos valores do ângulo de fase apresentado pelo gráfico de Bode (Figura 81B) ao longo das diferentes frequências aplicadas. Estas informações evidenciam a manutenção anticorrosiva do revestimento após 144 de imersão em água de produção do pós-sal, o que indica que a perturbação de 350 mV não modificou o revestimento (Figura 82).

Figura 82. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 83 e 84 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pós-sal no tempo inicial (Figura 83A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 84A e B).

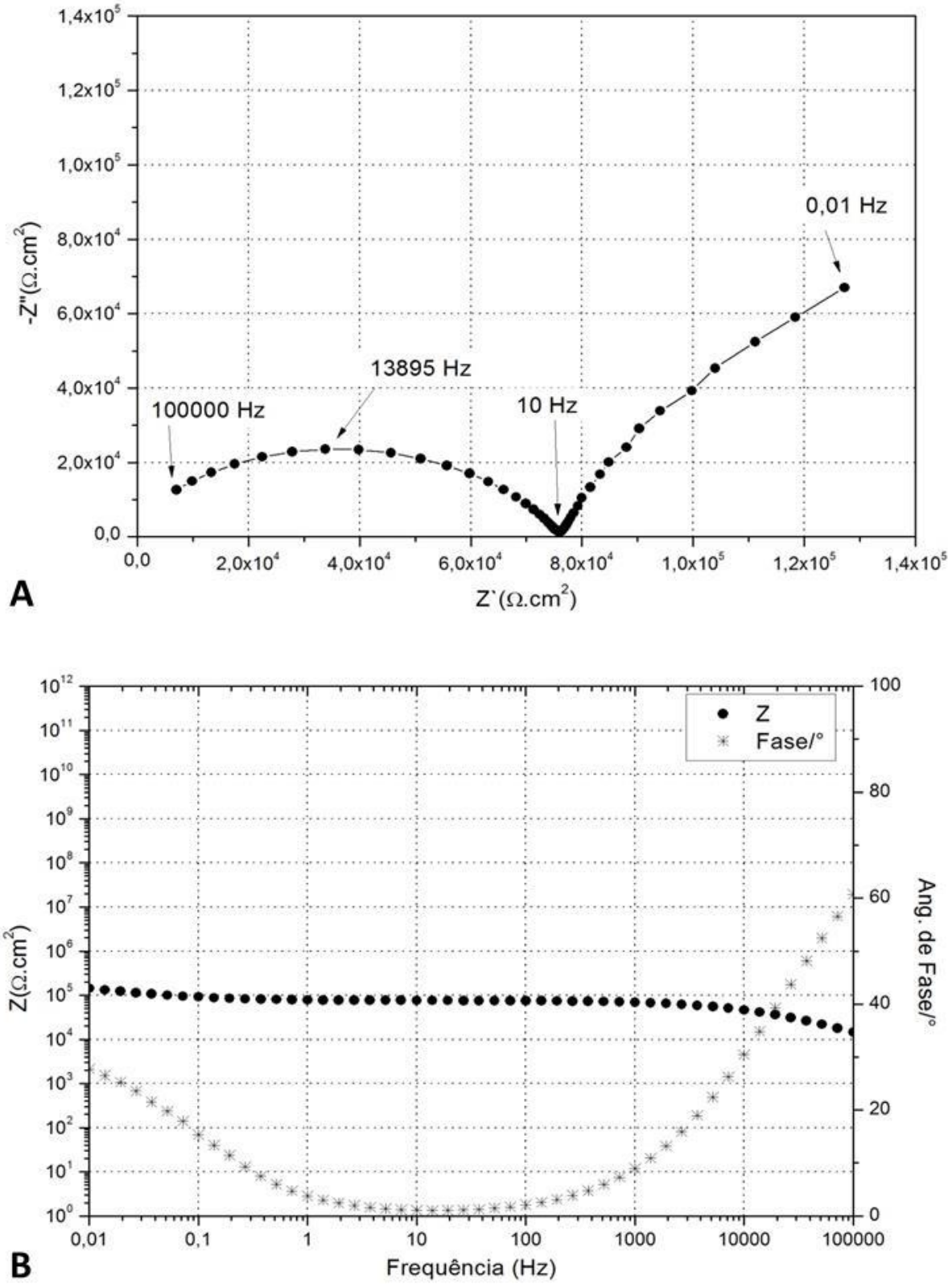


Figura 83. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pós-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

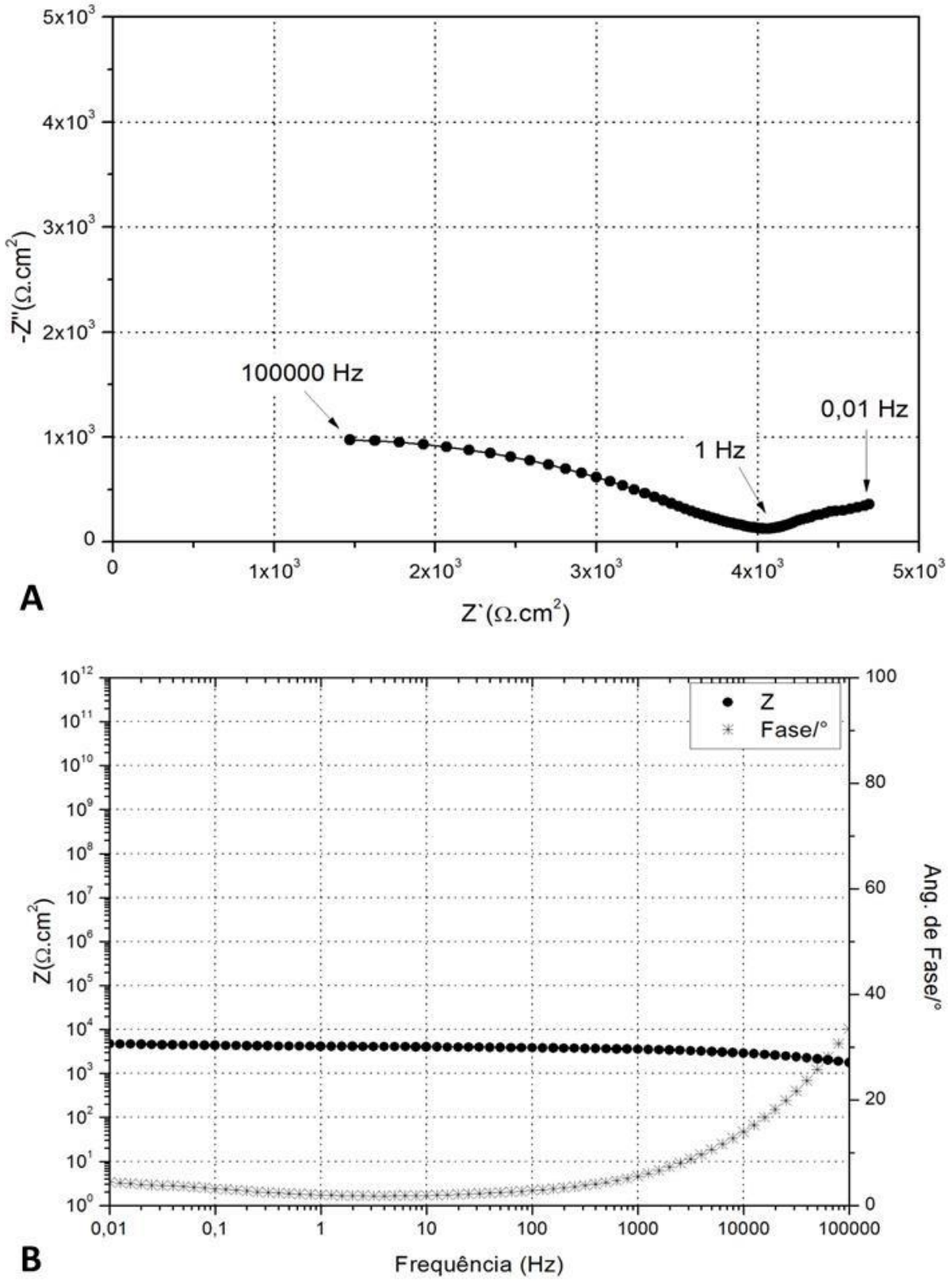


Figura 84. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pós-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

O comportamento inicial do revestimento na presença de EPS sendo aplicados 350 mV de amplitude é similar ao resultado apresentado pelo mesmo revestimento em água do mar. A análise do sistema inicial (Figura 83A) indica pouca contribuição de elementos capacitivos ao revestimento. A aplicação da perturbação de 350 mV pelo ensaio de impedância eletroquímica no revestimento de Nb_2O_5 incorporado com EPS não apresenta dispersão nos dados obtidos. Através do gráfico de Nyquist (Figura 83A), podemos observar, na região de altas frequências um valor menor do ângulo de fase indicando uma menor barreira a permeação de água e, em baixas frequências, um aumento gradativo no ângulo de fase, podendo indicar a resistência da transferência de carga. Essas informações corroboram com as constantes de tempo apresentadas no diagrama de Nyquist (Figura 83B), onde podemos observar uma maior indução da difusão de espécies ocasionada principalmente pela modificação do sistema pelo perturbação de 350 mV.

O valor do potencial em circuito aberto (OCP) encontrado no inicio e após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal apresentou um pequeno aumento com mudança de -0,687 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,501 $V_{Ag/AgCl}$ (Figura 85). Observando o gráfico de Nyquist (Figura 84A) observamos a ocorrência de diferentes processos após a aplicação de 350 mV no revestimento após o período de imersão. Segundo o gráfico de Bode (Figura 84B), a diminuição no valor do ângulo de fase na região de altas frequências, demonstra a formação de poros no revestimento onde, inicialmente a tinta a base de óxido de nióbio com EPS tem um comportamento capacitivo e, após 144 dias de imersão é reduzido apresentando um comportamento resistivo.

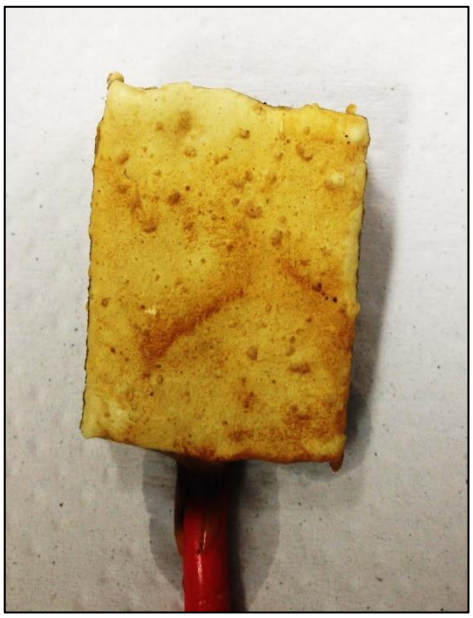


Figura 85. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pós-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 86 e 87 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 em água de produção do pré-sal no tempo inicial (Figura 86A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 87A e B).

O ensaio de EIE com amplitude de 350 mV com revestimento composto com pigmento de Nb_2O_5 e imerso em água de produção do pré-sal apresenta grande redução na dispersão dos valores medidos nas diferentes frequências (Figura 86 B). Entretando, não visualizamos os mecanismos bem definidos no diagrama de Nyquist (Figura 86A). Não foi encontrada diferença significativa nos valores de OCP antes e após a imersão do revestimento passando de -0,288 $V_{Ag/AgCl}$ para -0,221 $V_{Ag/AgCl}$. Além disso, o perfil apresentado após 144 dias de imersão é similar aos resultados apresentados com o mesmo revestimento com aplicação de amplitude de 10 mV (figura 88). Essas informações indicam que, neste caso, a aplicação de 350 mV não

modificou o mecanismo de exposição do revestimento, visto a similaridade de resultados entre obtidos com os ensaios de 10 e 350 mV.

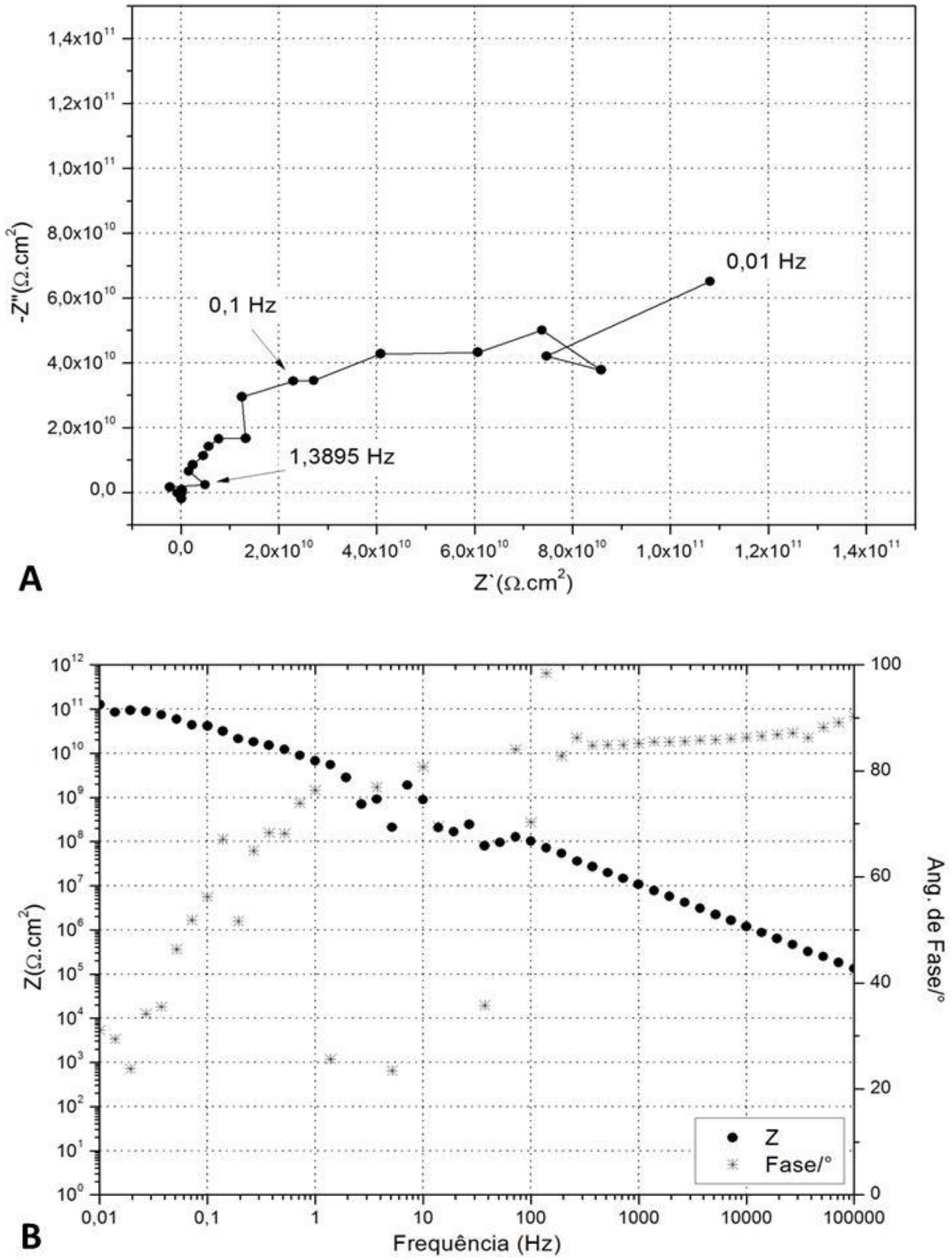
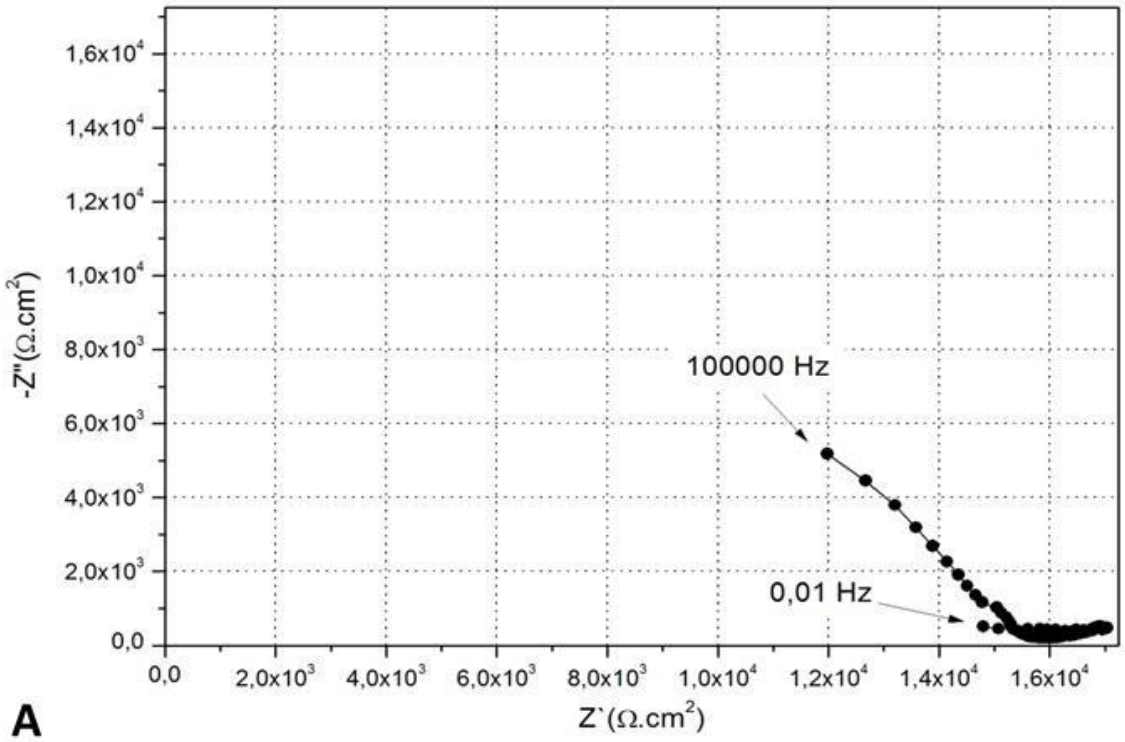


Figura 86. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imersa em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.



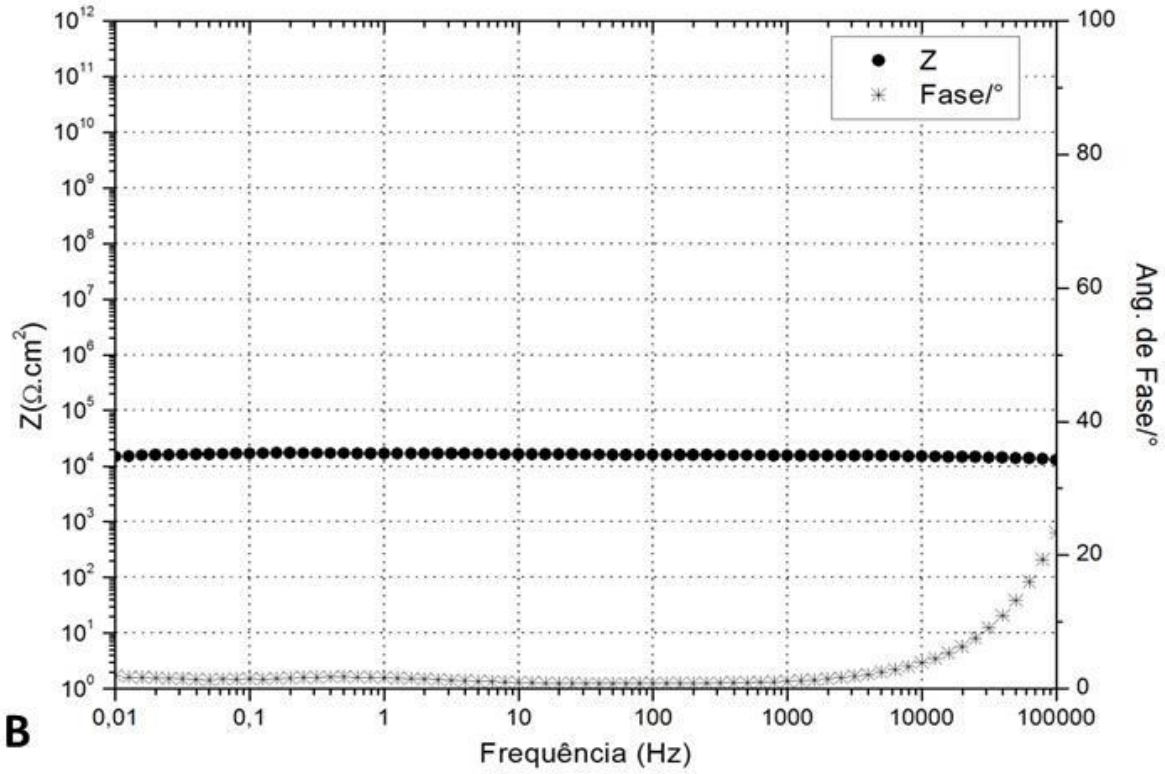


Figura 87. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 imersa em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

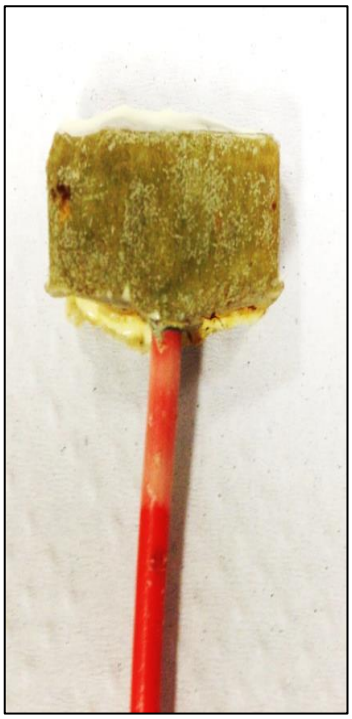
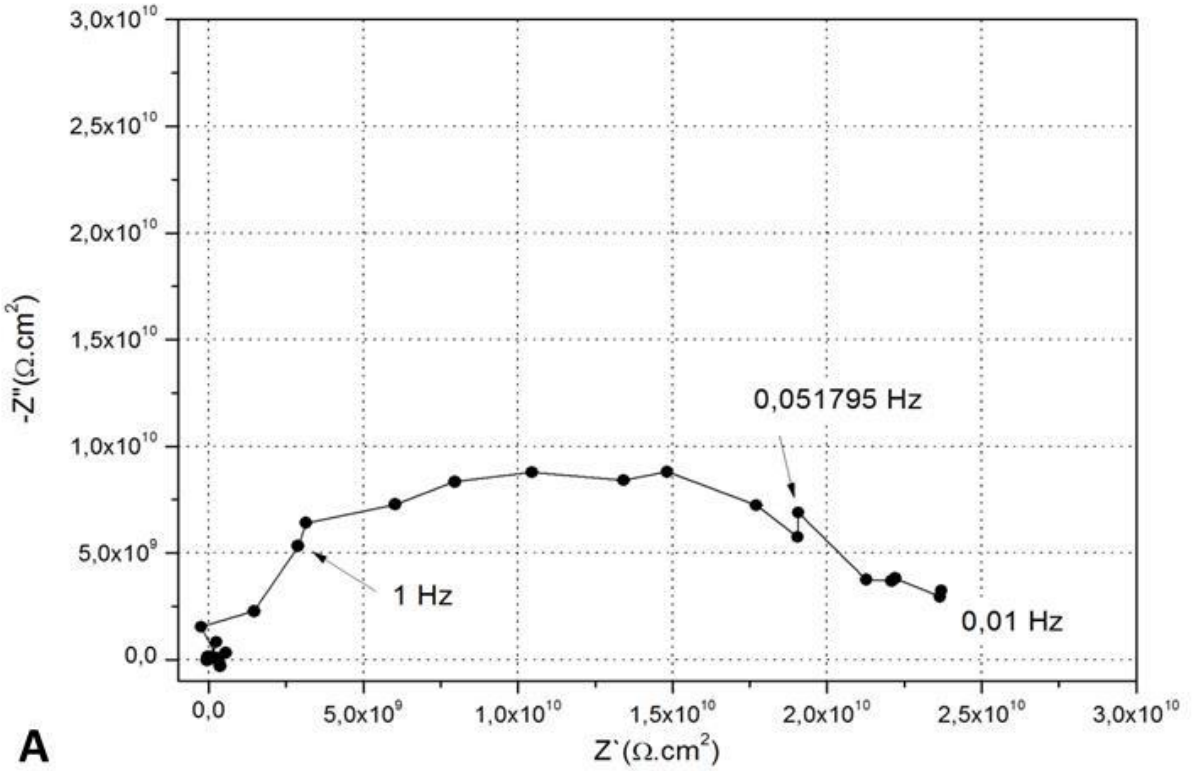


Figura 88. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

Nas Figuras 89 e 90 são apresentados os diagramas de Nyquist e Bode referente ao experimento de exposição do revestimento de Nb_2O_5 com EPS em água de produção do pré-sal com EPS no tempo inicial (Figura 88A e B) e após 144 dias de imersão (Figura 90A e B).

Com a incorporação do EPS, o sistema inicial se apresentou com efeito isolante, devido a dispersão dos dados medidos na região de médias frequências (Figura 89B). Além disso, no gráfico de Nyquist (Figura 89A), os valores obtidos pelas regiões de altas e médias frequências se concentraram em uma região do gráfico, o que dificulta a compreensão fenomenológica do sistema. Após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal, observou-se uma mudança significativa nos valores medidos inicial e final pelo OCP, sendo de 0,124 $V_{Ag/AgCl}$ inicial e -0,600 $V_{Ag/AgCl}$ no final.



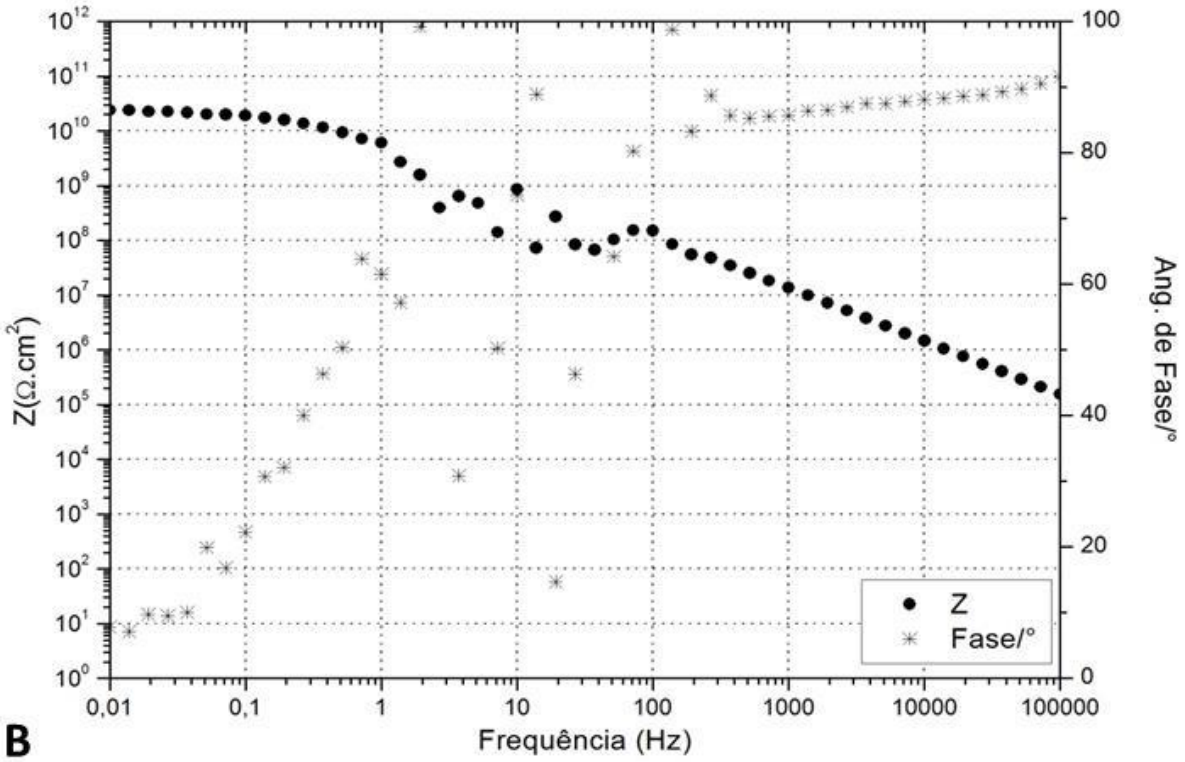


Figura 89. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pré-sal, t = 0 dia de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

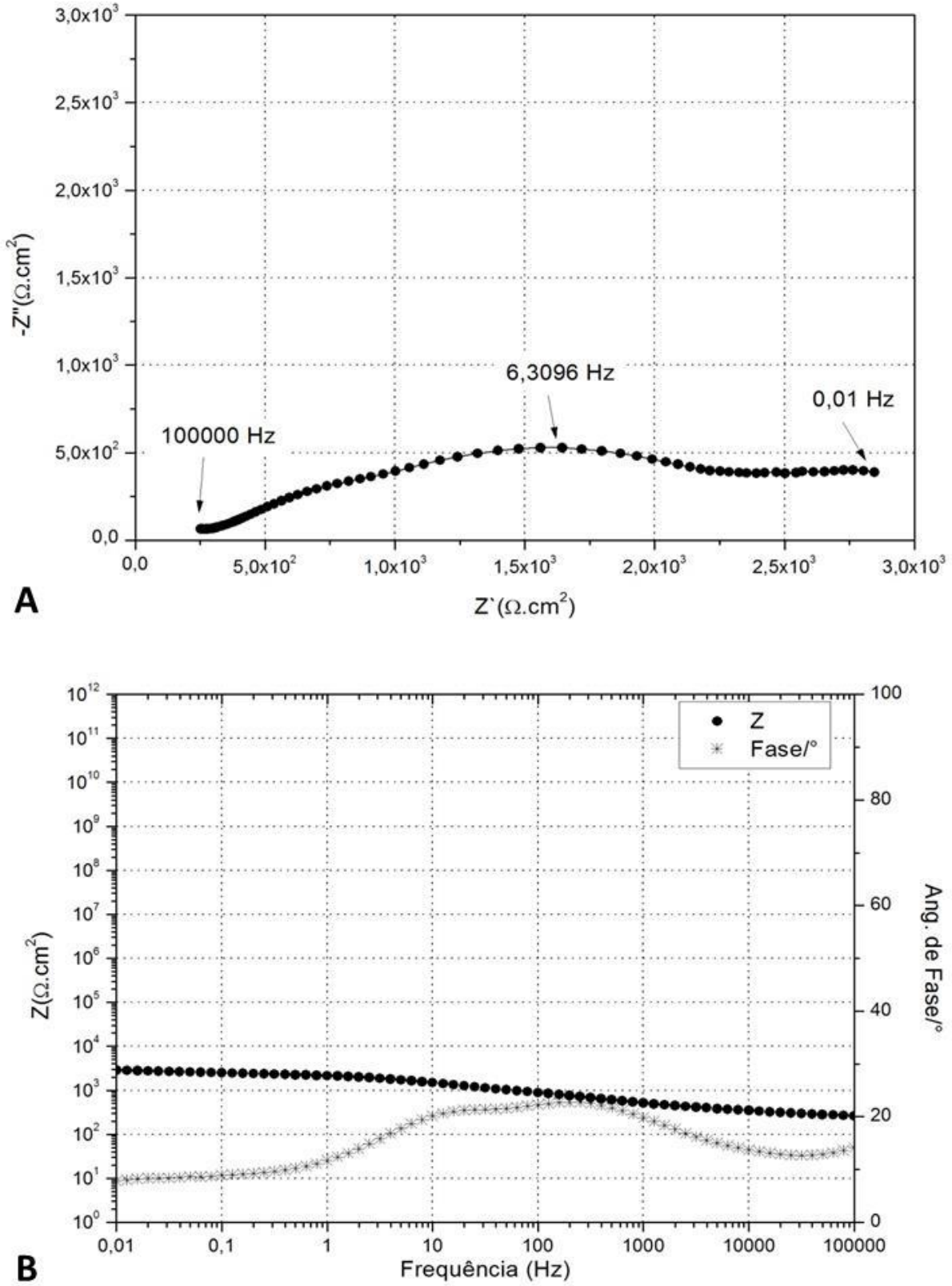


Figura 90. Diagramas de Nyquist (A) e Bode (B). Tinta de Nb_2O_5 com EPS imersa em água de produção do pré-sal, t = 144 dias de imersão com amplitude de sinal de 350 mV.

Avaliando o comportamento após 144 dias de imersão, no gráfico de Nyquist (Figura 90A) há indicação de três constantes de tempo, indicando a resistência do revestimento, a resistência a transferência de massa e resistência a transferência de massa. De acordo com gráfico de Bode (Figura 90B) observamos uma diminuição da propriedade de barreira pelo ângulo de fase, baixa resistência a transferência de carga e massa quando comprado ao comportamento inicial. Na Figura 91 é apresentado o aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal.

Os valores obtidos de impedância são menores quando comparados com o sistema sem EPS. O perfil apresentado pelos diagramas de Nyquist (Figura 86A) e Bode (Figura 86B), são os mesmos apresentados pelos outros revestimentos à base de óxido de nióbio após 144 dias de imersão.

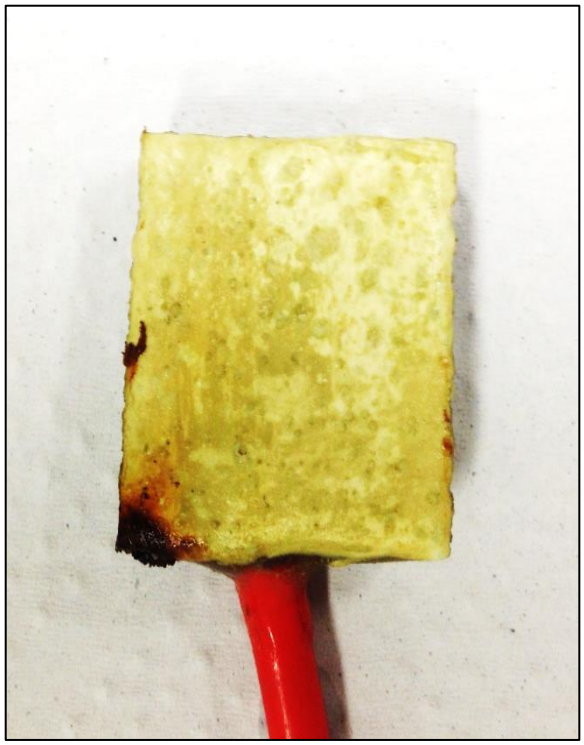


Figura 91. Aspecto visual do corpo de prova revestido com Nb_2O_5 incorporado com EPS após 144 dias de imersão em água de produção do pré-sal com realização de ensaio de EIE com amplitude de sinal de 350 mV.

IV.4 Análise dos Revestimentos e EPS por FTIR

A absorção de água em tintas quimicamente ativas é determinada pela quantidade de grupos hidrofílicos ou hidrolisáveis na estrutura química dos seus constituintes. Desta forma, a avaliação dos grupos funcionais que atuam como barreira em relação à permeação da água nos revestimentos anti-incrustantes é muito importante, pois a presença de solução aquosa na tinta pode ativar a dissolução dos pigmentos e a hidrólise de diferentes ligações mudando o comportamento químico do biocida com o passar do tempo, sendo um dos principais critérios para avaliar o efeito protetor de revestimentos anti-incrustantes (Bressy *et al*., 2009).

A eficiência, durabilidade e compatibilidade das tintas anti-incrustantes e anticorrosivas dependem da eficiência do mecanismo de ação dos óxidos no interior do revestimento aplicado sobre a estrutura a ser protegida (Trentin *et al*, 2001). O espectro de FTIR dos corpos de prova antes do ensaio, isto é, sem exposição à solução salina são apresentados nas Figuras 92 e 93 e, sumarizados na Tabela 06. Pode-se observar que a incorporação de EPS na tinta de Cu_2O não interfere no O – H “livre”. Entretanto, na tinta de Nb_2O_5 ocorre uma redução significativa no pico de O – H “livre” após a incorporação do EPS, sendo observado o aparecimento da banda de O – H como quelato tanto na tinta de Nb_2O_5 quanto na tinta de Cu_2O, indicando que o EPS pode favorecer à estabilidade dos óxidos nas tintas por ligações de coordenação. Os grupos nitrogenados, tais como amina e amidas, são adicionados às tintas de Cu_2O e Nb_2O_5, respectivamente após a incorporação do EPS. A diferença observada nas atribuições dos picos das carbonilas está relacionada à presença dos grupos nitrogenados fornecidos pelo EPS. Além disso, a presença de anel aromático é uma característica da tinta de Nb_2O_5, não sendo influenciada pela presença do EPS. A tinta de Cu_2O apresenta as bandas de interação de metais com

grupos orgânicos na ausência e na presença de EPS. Entretanto, esta característica só é incorporada à tinta de Nb_2O_5 após a adição de EPS. Estes resultados corroboram com o estudo apresentado por Armelin *et al*. (2009), onde tintas marinhas foram modificadas pela adição de polímeros e o espectro de FTIR demonstrou que não houve modificação na resina base da tinta.

Tabela 06. Atribuição dos Picos para o FTIR das Amostras antes do ensaio de imersão.

Picos de FTIR				Atribuições de Pico
Figura 92A	Figura 92B	Figura 93A	Figura 93B	
3676	3672	3681	3658	Deformação axial de O – H “livre”, isto é, que não participa de ligação de hidrogênio.
-	3565, 3453	-	-	Deformação axial assimétrica e simétrica de aminas primárias do N – H não associado.
-	-	-	3467	Deformação axial de N – H “livre” em amida secundária;
-	3233	-	3280	Deformação axial de O – H quelato;
-	-	3063	3056	Deformação axial de C – H de aromáticos;
1726	1678	1730	1654	Deformaçãoaxial de C = O;
-	-	1657 - 1508	1606 - 1463	Vibrações das ligações C = C de aromáticos;
1585	1608	-	-	Deformação axial de C = C;
1470	1437	-	-	Deformação angular de C – H simétrica ($-CH_2-$);
		1364	1361, 1244	Deformação axial de C – O de fenóis;
1407 - 1360	1390 - 1324	1317	1303	Deformação angular de C – H assimétrica ($-CH_3$);
-	-	1184	1185 - 1084	Deformação axial de C – O de álcool terciário e secundário;
1045	1045	-	1041	C – O álcool primário
945	853	-	--	Deformação C – H para fora do plano;
-	-	833	828	2 H adjacentes (anéis aromáticos para-substituídos e 1,2,3,4-tetrasubstituídos);
776	756	-	-	Deformação angular de grupos etila;
< 630	< 616	-	< 679	Interação dos metais com grupos orgânicos;

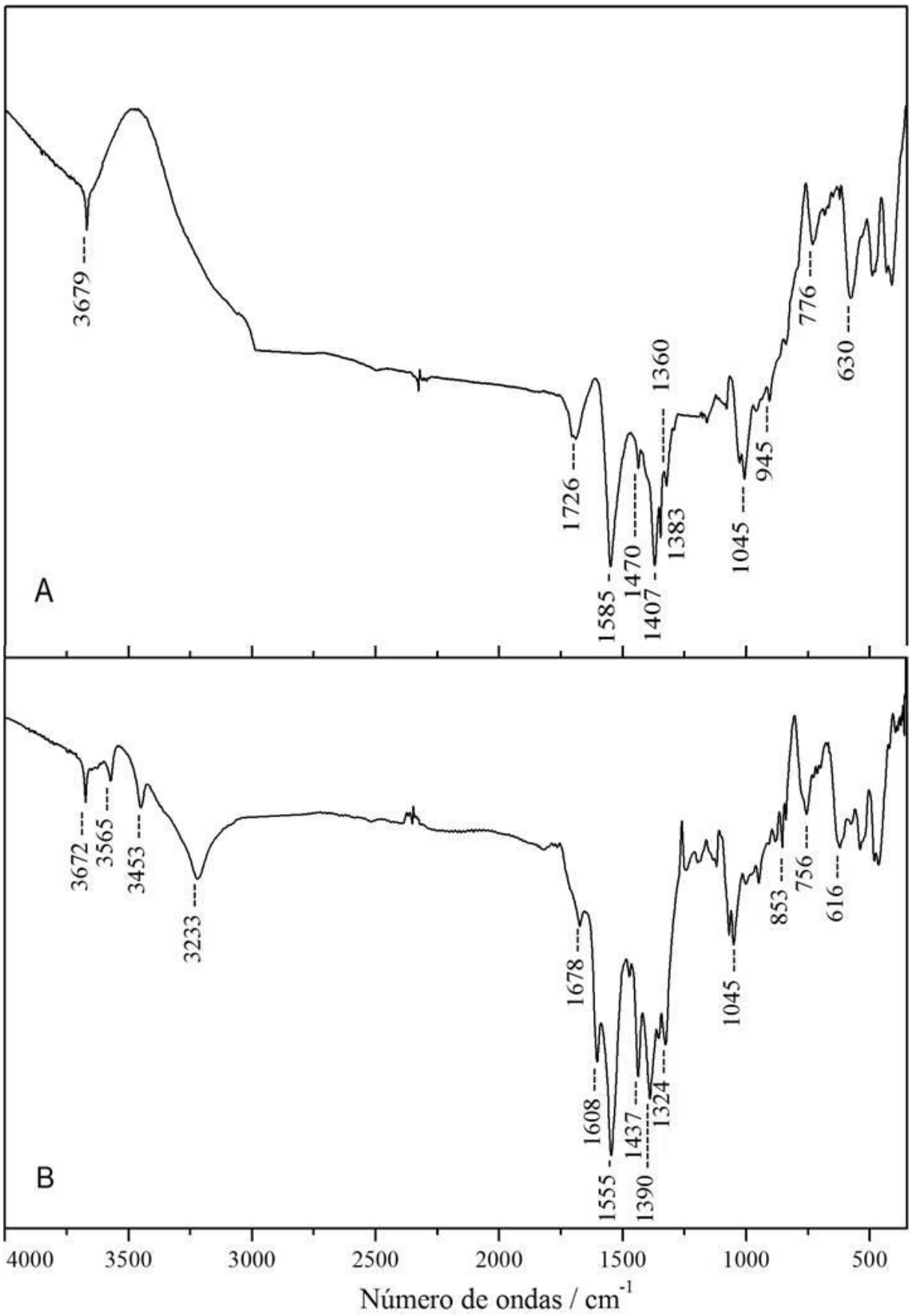


Figura 92. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas sem exposição (t = 0 dia) contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS.

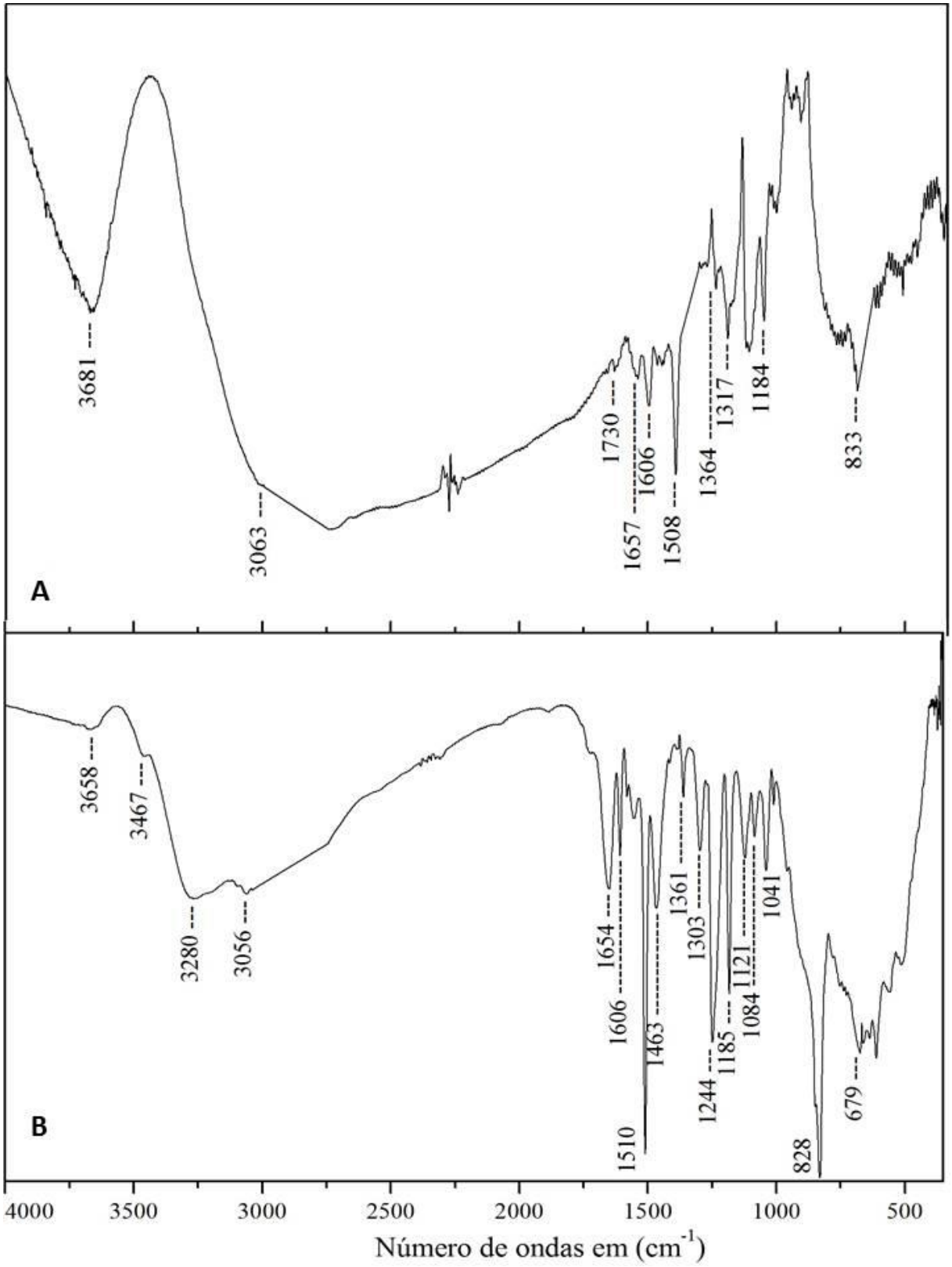


Figura 93. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas sem exposição (t = 0 dia) contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS.

Após 144 dias de exposição e aplicação da 10 mV, são apresentados os grupos químicos presentes nos revestimentos a base de óxido de cobre (Figuras 94, 96 e 98) e óxido de nióbio (Figuras 95, 97 e 99), em água do mar sintética e ao fluido de processo do pós-sal e pré-sal, respectivamente. Em todos os sistemas estudados, observa-se que, após a degradação dos revestimentos na ausência e presença de EPS, ocorre um incremento significativo de grupos funcionais.

Os revestimentos de óxido de cobre com ou sem EPS na formulação apresentam o mesmo perfil de degradação do material nos diferentes meios utilizados. Entretanto, na presença de EPS há uma indicação da formação de um polímero de OH^- e a formação de ligações $–CH_2$-Cl na região (800 – 600 cm^{-1}). Associado a isso, grupos metila e metilenos passam a ser observados no espectro após a degradação do material. Contudo, ocorre uma redução na coordenação dos metais presentes nas tintas.

Nos revestimentos de óxido de nióbio as hidroxilas “livres” foram polimerizadas. Com isso, estes espectros não apresentaram picos de hidroxilas “livres”. Além disso, as tintas de óxido nióbio apresentam anéis aromáticos. Entretanto, com a degradação do material ocorre uma redução na quantidade de anéis aromáticos e, da mesma forma que as tintas de cobre, aparecem grupos derivados de cloreto de acila.

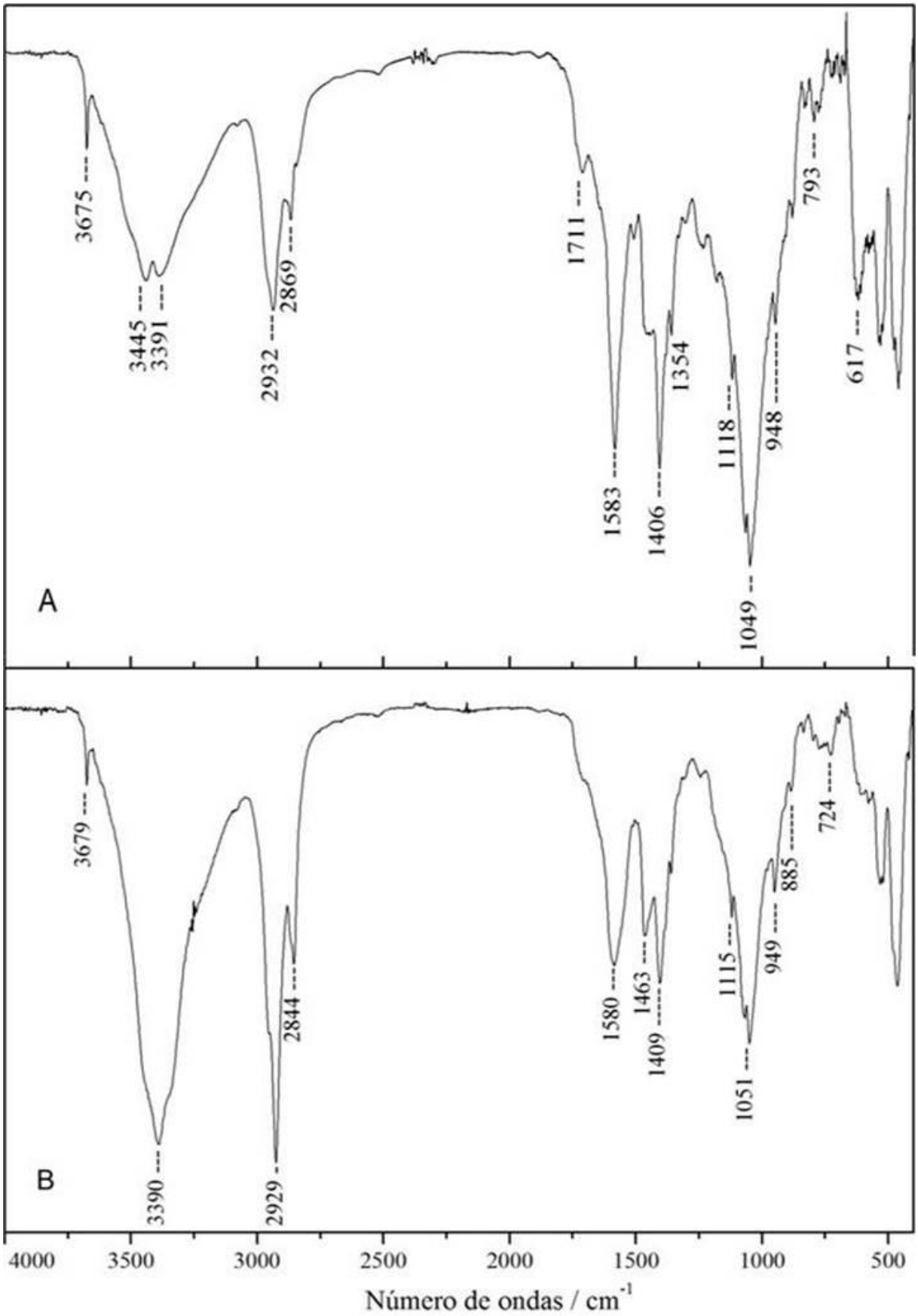


Figura 94. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética.

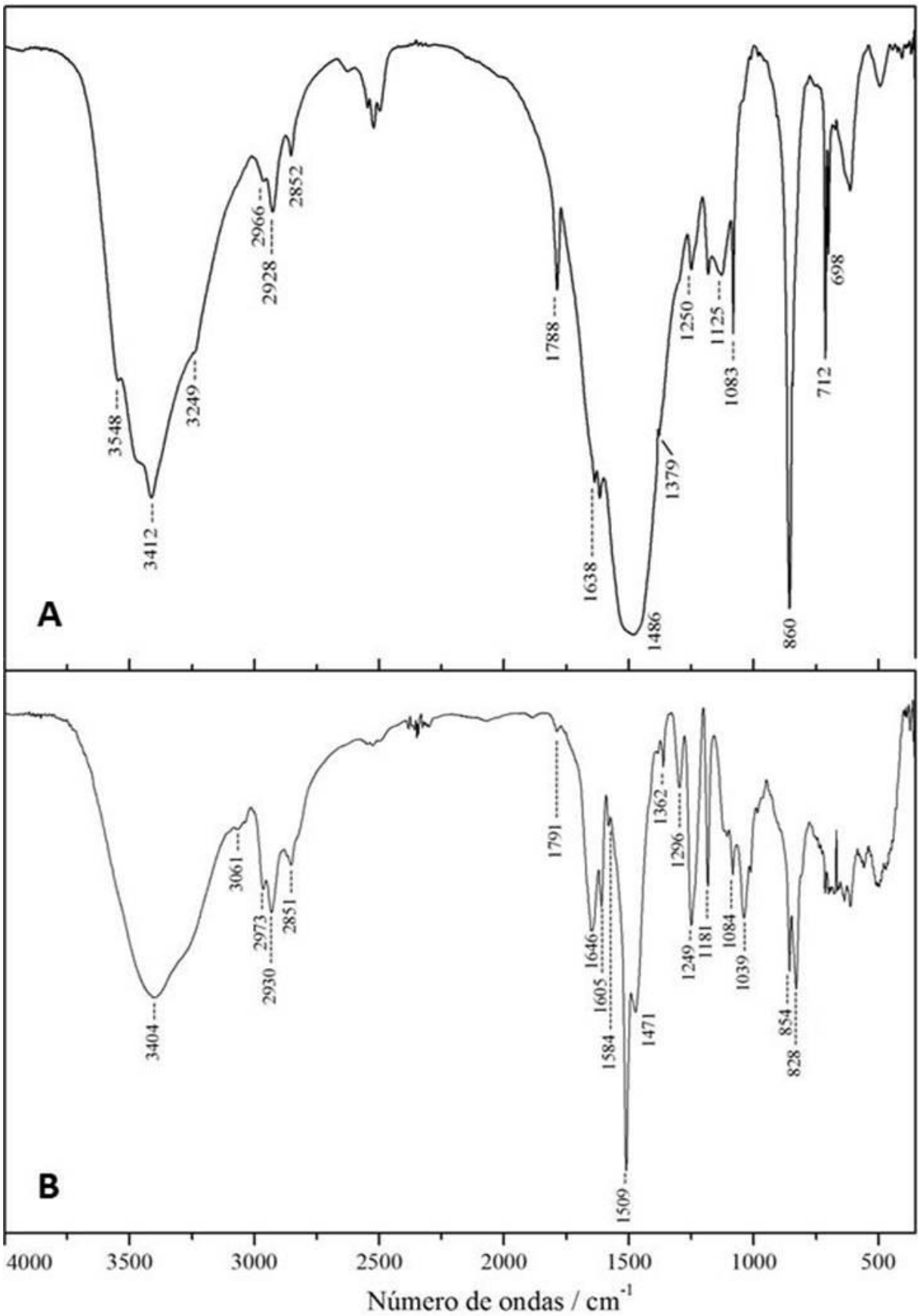


Figura 95. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética.

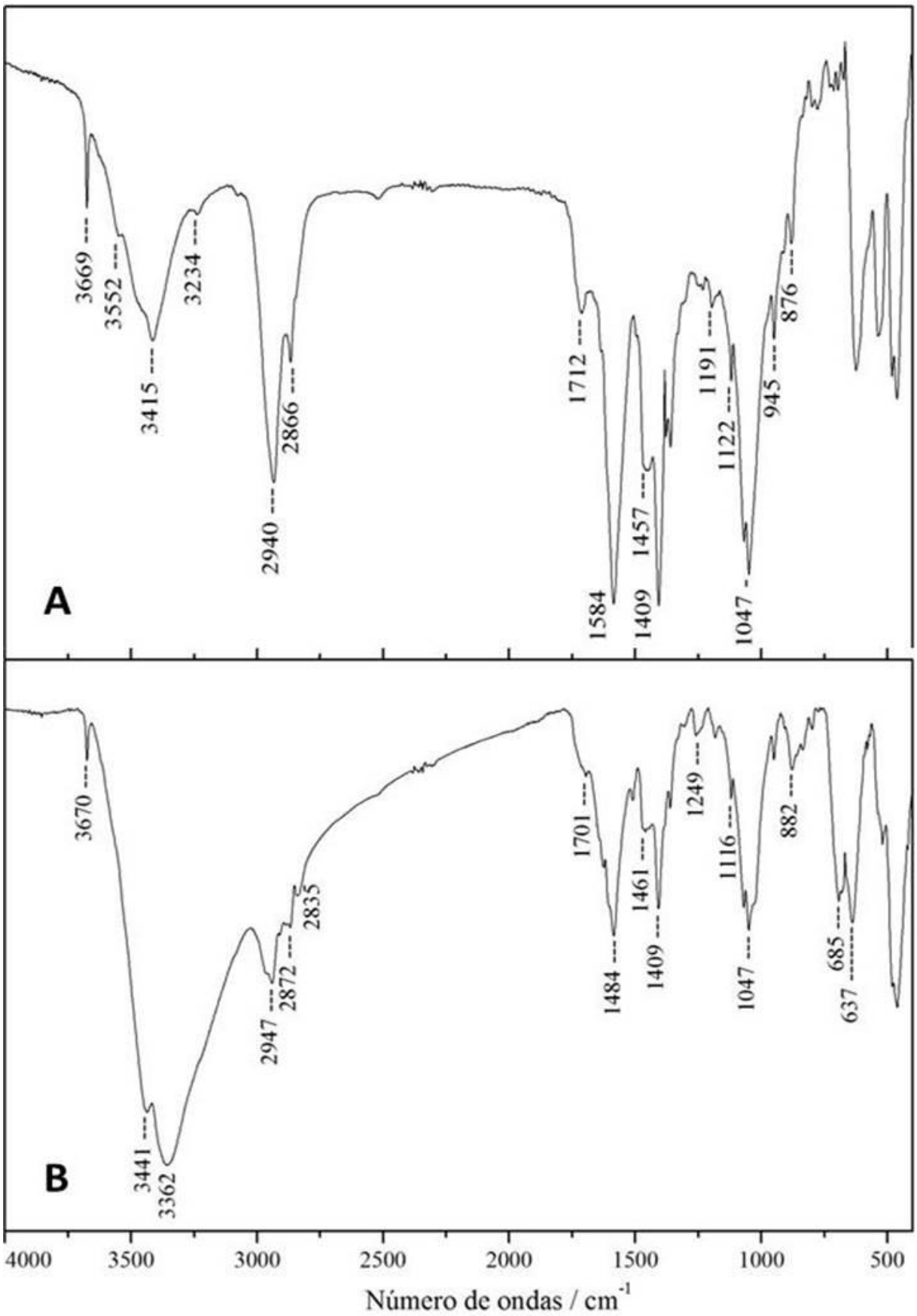


Figura 96. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal.

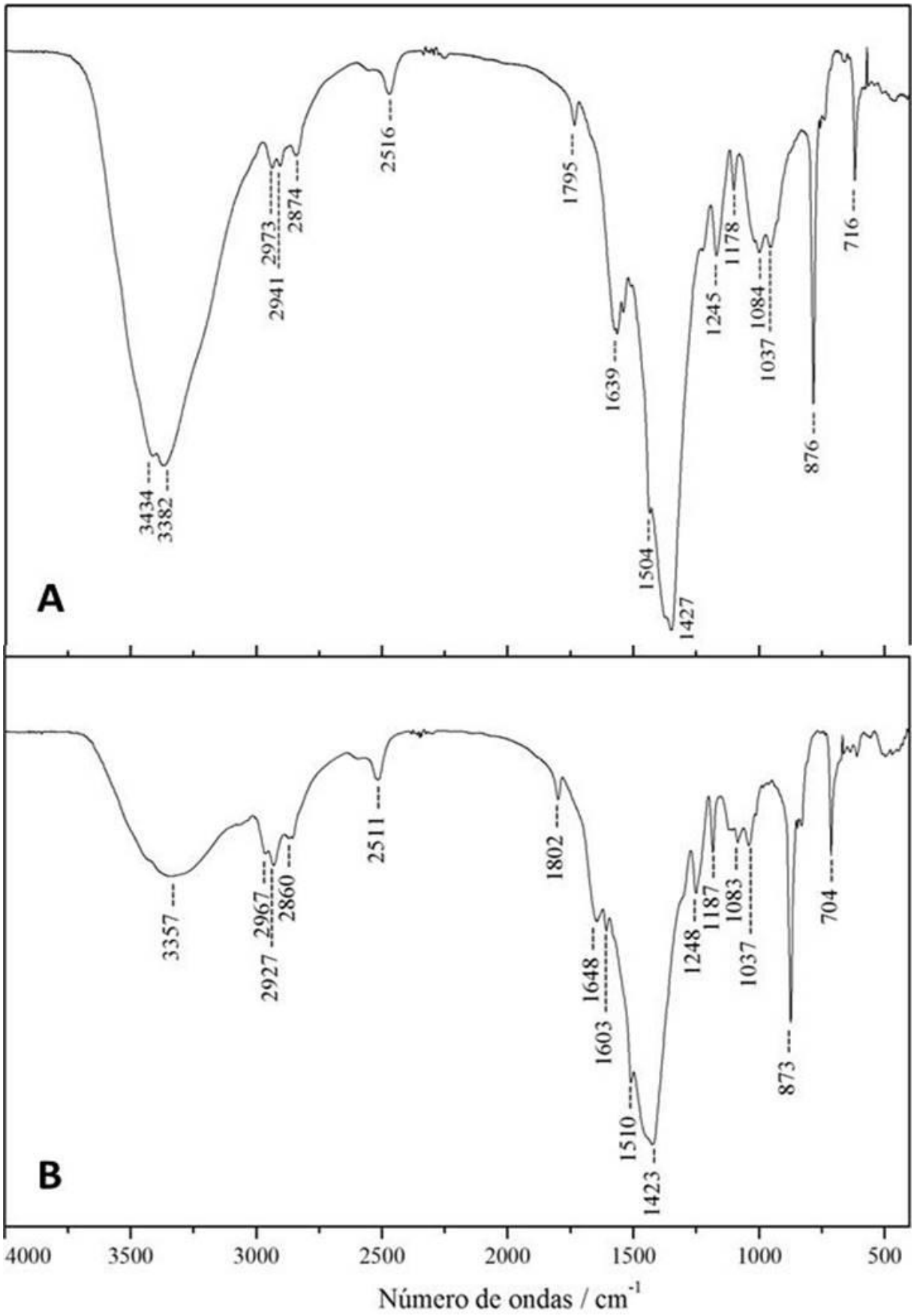


Figura 97. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal.

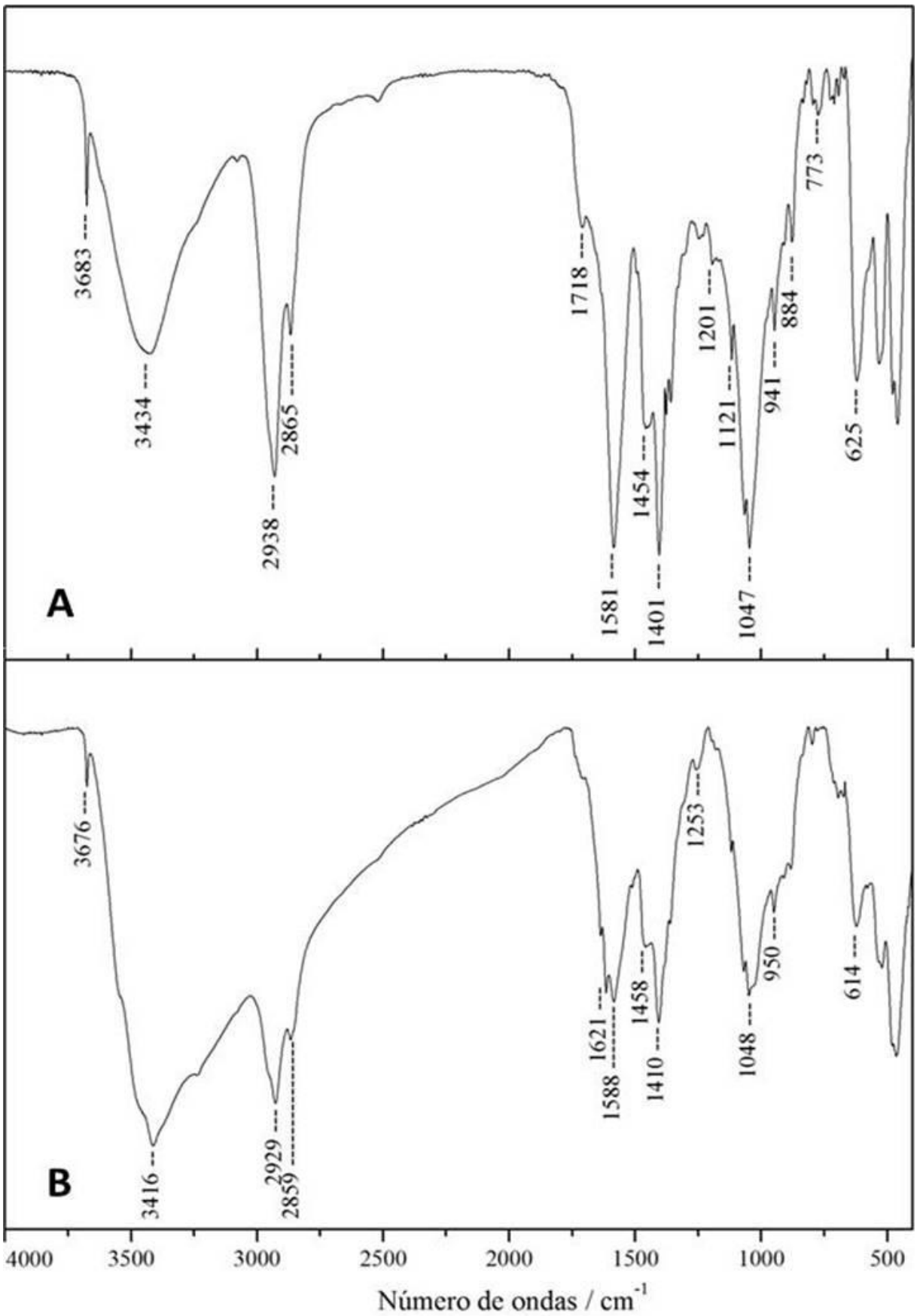


Figura 98. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal.

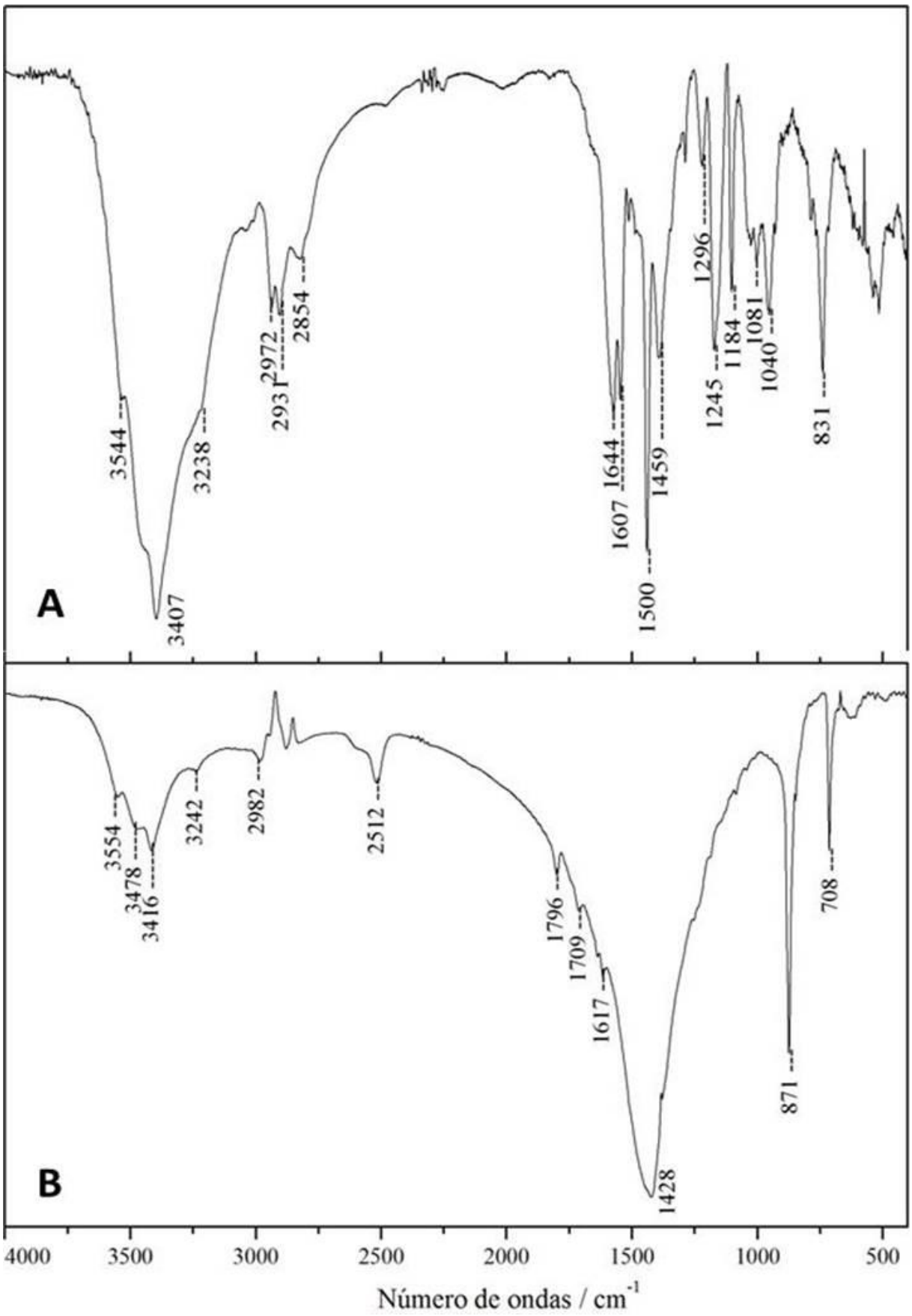


Figura 99. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 10 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal.

Não pretendemos discutir exaustivamente, cada pico dos espectros de FTIR apresentados adiante, onde iremos destacar apenas as principais associações espectrais. Com a aplicação de 350 mV de amplitude de sinal, após o ensaio de EIE e 144 dias de imersão nos diferentes meios corrosivos, são apresentados os espectros de FTIR dos diferentes revestimento estudados.

Na Figura 100, observamos os espectros da tinta à base de óxido de cobre, imersa em água do mar sintética, na ausência (Figura 100A) e na presença (Figura 100B) do EPS. Observamos que ocorre uma manutenção no perfil espectral após a incorporação do EPS. Entretanto, o surgimento do pico de 3674 cm^{-1} (Figura 100B), associado à presença de grupos não polimerizados de OH, indicando que após a incorporação do EPS este pode ter contribuido para uma possível despolimerização do revestimento. Além disso, o incremento de grupos C – H, associados aos picos de 2942 e 2906 cm^{-1} (Figura 100B), indicam uma maior hidrofobicidade a tinta em questão. Entretanto, analisando as regiões > 800 cm^{-1}, obsevamos menor quantidades de picos associadas à adsorção de derivados halogenados.

Na Figura 101, observamos os espectros da tinta a base de óxido de nióbio, imersa em água do mar sintética, na ausência (Figura 101A) e presença (Figura 101B) do EPS. Obseva-se que não ocorrem mudanças no espectro geral de ambas as figuras. Entretanto, associando o desaparecimento do pico de 3678 cm^{-1} (Figura 101A) com a incorporação do EPS, representando uma possível polimerização das hidroxilas livres, com a modificação no perfil dos picos apresentados nas regiões compreendidas entre 2800 – 2900, 1360 e 700 cm^{-1}, sugerimos que ocorra uma “complexação” entre os óxidos de nióbio com o EPS, indicando a afinidade química e física do polímero ao revestimento de Nb_2O_5.

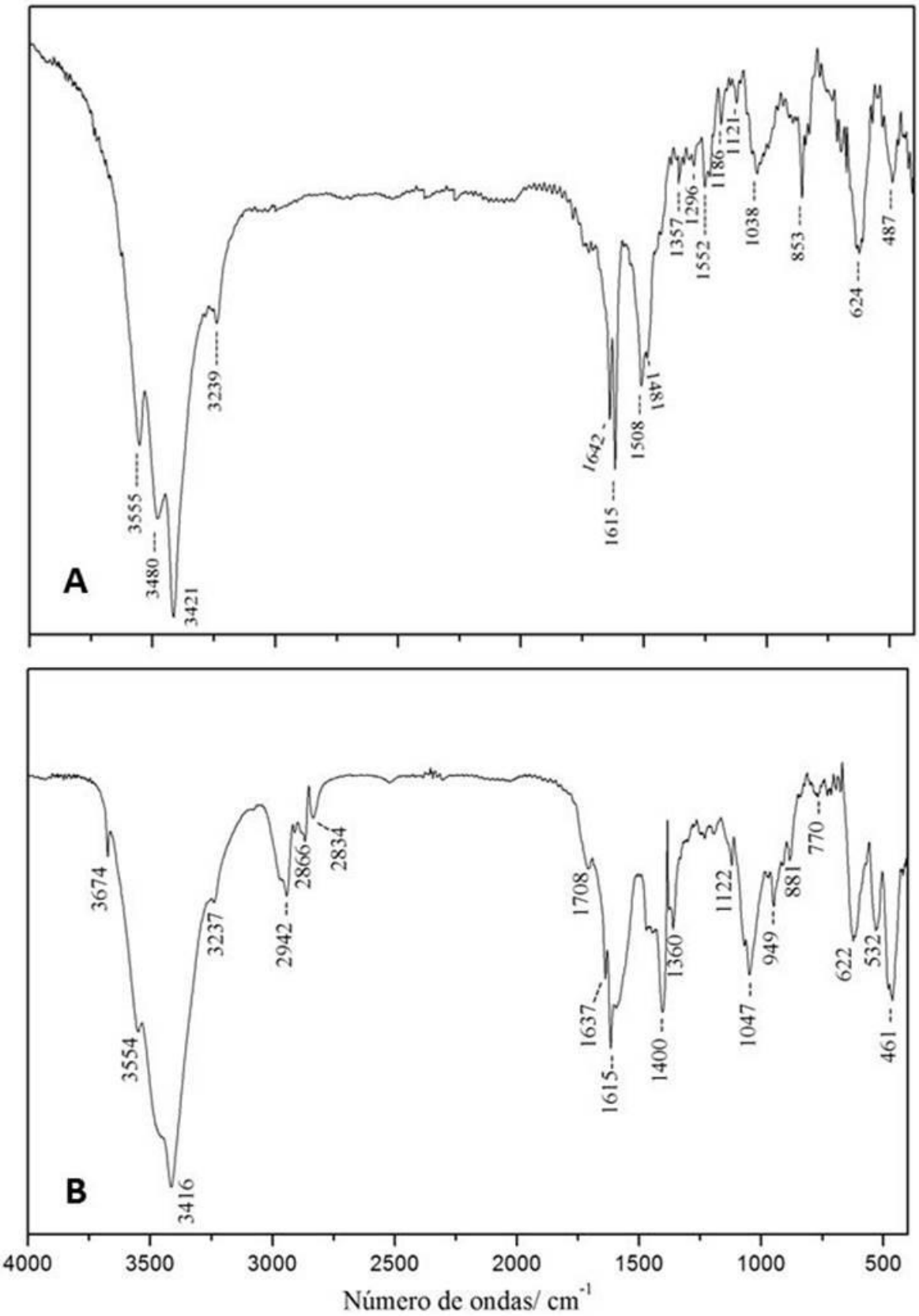


Figura 100. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética.

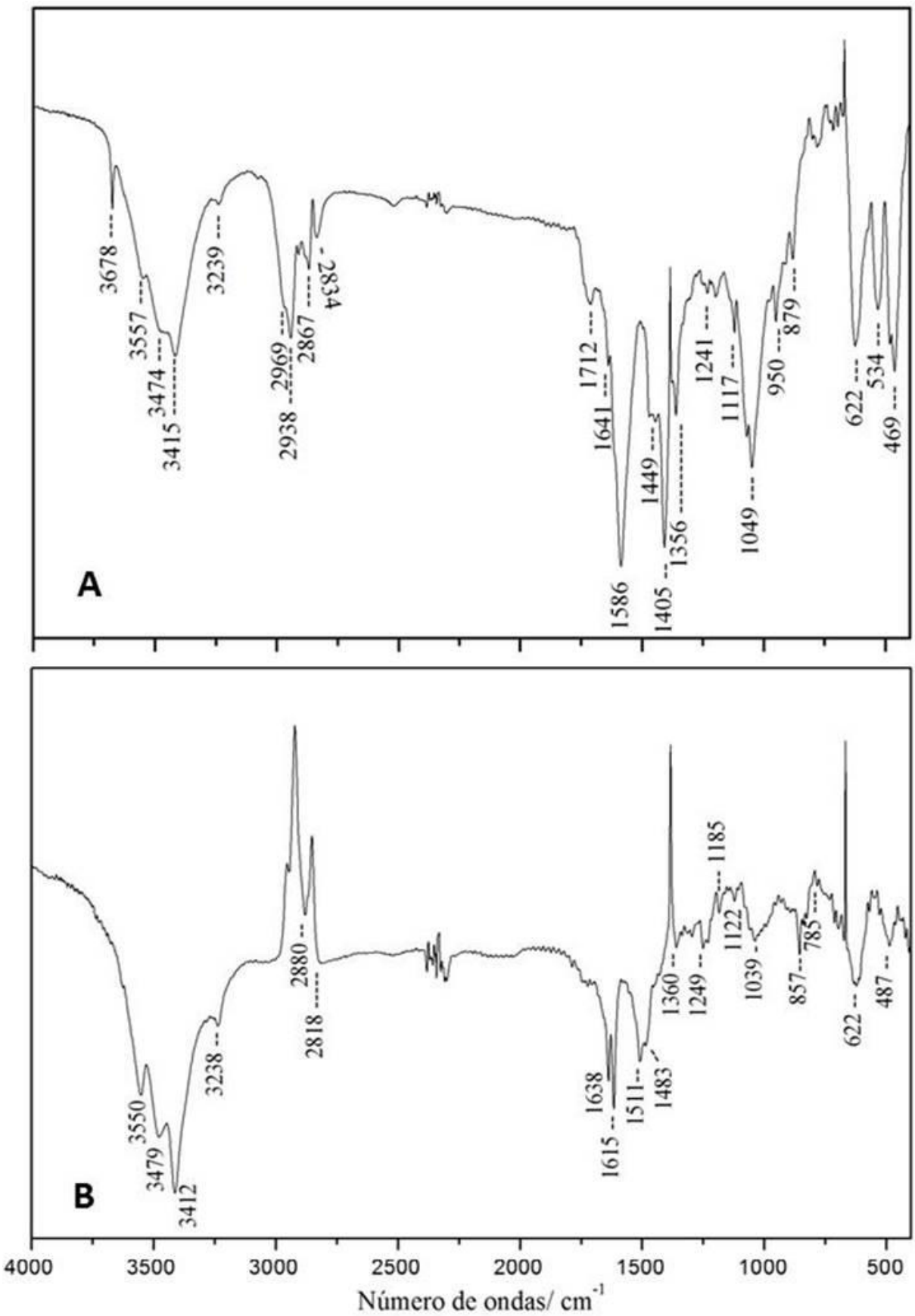


Figura 101. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água do mar sintética.

Na Figura 102, observamos os espectros da tinta a base de óxido de cobre, imersa em água de produção do pós-sal, na ausência (Figura 102A) e presença (Figura 102B) do EPS. As diferenças mais significativas, estão associadas ao desaparecimento dos picos de 2930 e 2866 cm^{-1} (Figura 102A) e, redução significativa dos apontamentos compreendidos na região de 1700 a 1400 cm^{-1} (Figura 102B), evidenciando o processo de degradação do material mas, com mecanismo diferente ocasionado pela diferente constituição do meio corrosivo em estudo, quando comparado aos resultados em água do mar sintética.

Na Figura 103, observamos os espectros da tinta a base de óxido de nióbio, imersa em água de produção do pós-sal, na ausência (Figura 103A) e na presença (Figura 103B) do EPS. Observamos o mesmo perfil espectral do revestimento antes e após a incorporação do EPS, quando comparado com os principais apontamentos observados em água do mar sintética. Entretanto, devido a maior agressividade do meio, os picos possuem menor amplitude se sinal, sugerindo maior degradação da tinta na ausência de EPS.

Na Figura 104, observamos os espectros da tinta a base de óxido de cobre, imersa em água de produção do pré-sal, na ausência (Figura 104A) e presença (Figura 104B) do EPS. Observamos que não houveram mudanças significativas no perfil do espectro apresentados com e sem EPS, indicando mesmo padrão de degradação do material após 144 dias de imersão, isto é, a manutenção dos picos associados a OH livre e “despolimerizada” na região de 3600 cm^{-1}, ligações de C – H de hidrocarbonetos na região compreendida entre 2900 e 2800 cm^{-1} e perfil similar na região < 1700 cm^{-1}.

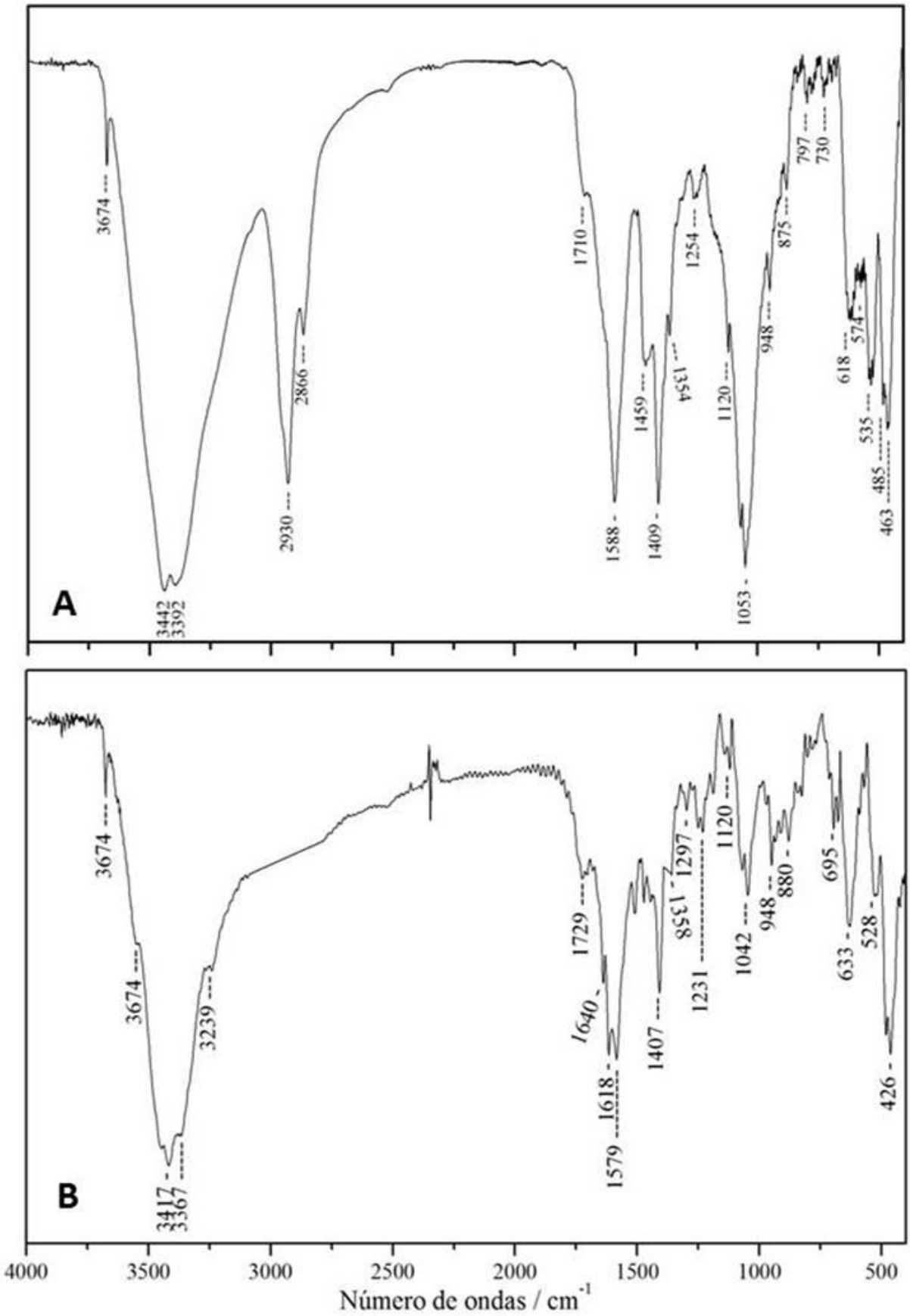


Figura 102. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal.

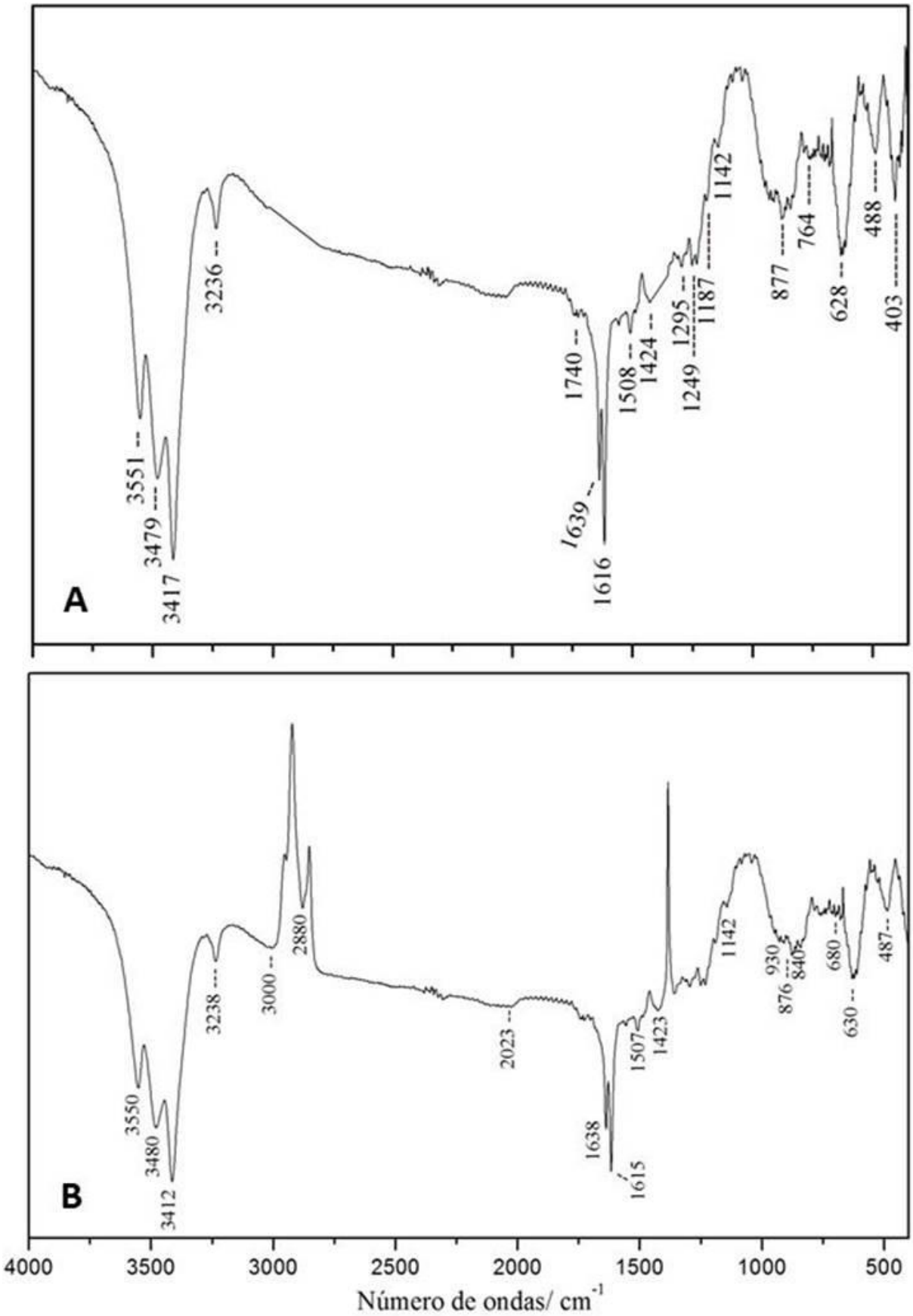


Figura 103. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pós-sal.

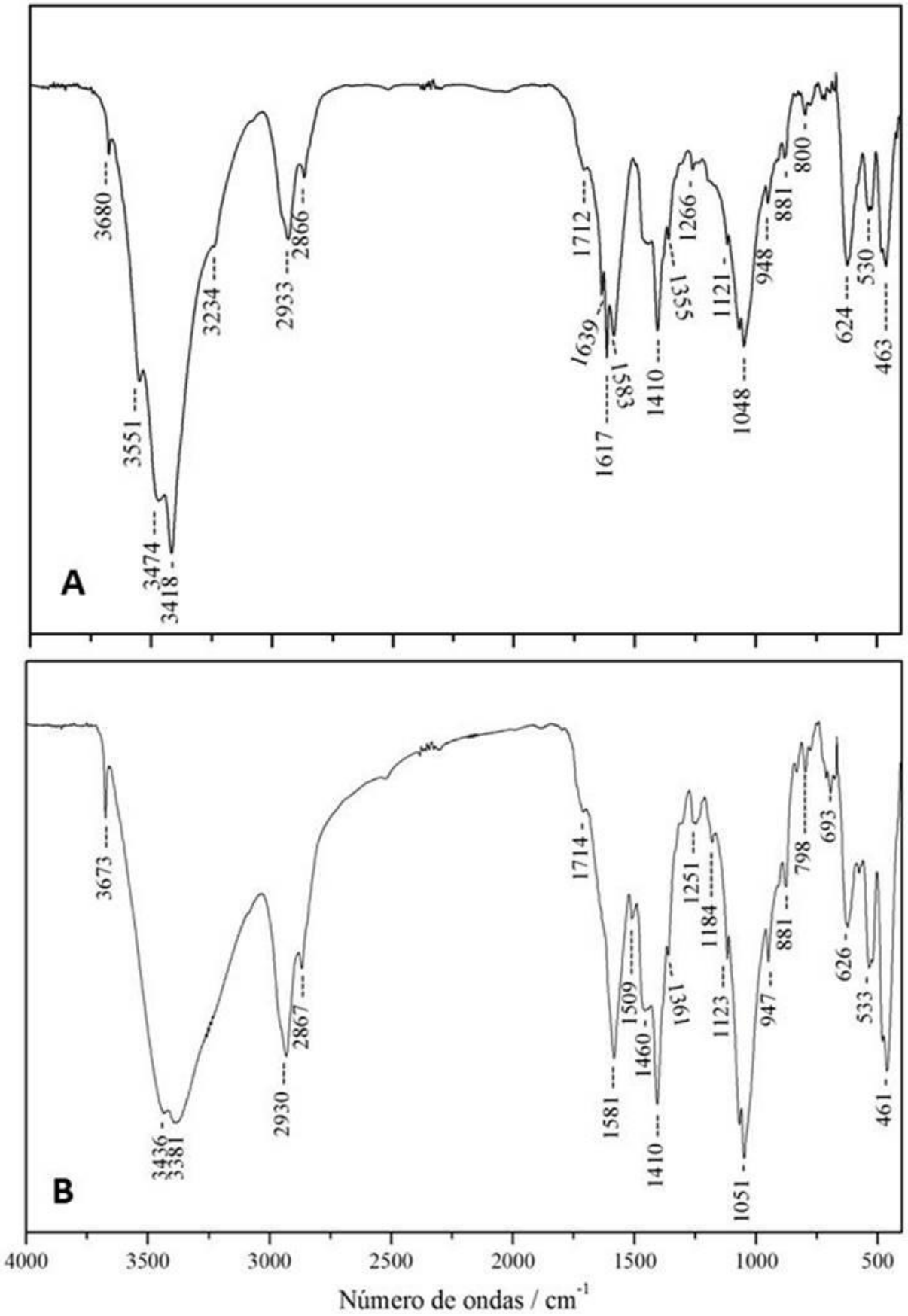


Figura 104. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Cu_2O e (B) Cu_2O com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal.

Na Figura 105, observamos os espectros da tinta a base de óxido de nióbio, imersa em água de produção do pré-sal, na ausência (Figura 105A) e presença (Figura 105B) do EPS. Observamos o incremento de grande quantidade de OH polimerizadas na região acima de 3000 cm^{-1} pela presença do EPS (Figura 105B), bem como as ligações C – H associadas aos picos 2926 e 2850 cm^{-1}. Entretanto, os picos associados as interações dos grupos orgânicos com os halogênios (< 1400 cm^{-1}) é menor na ausência do EPS (Figura 105A), indicando menor adsorção destes eletrólitos na interface do revestimento na presença do biopolímero.

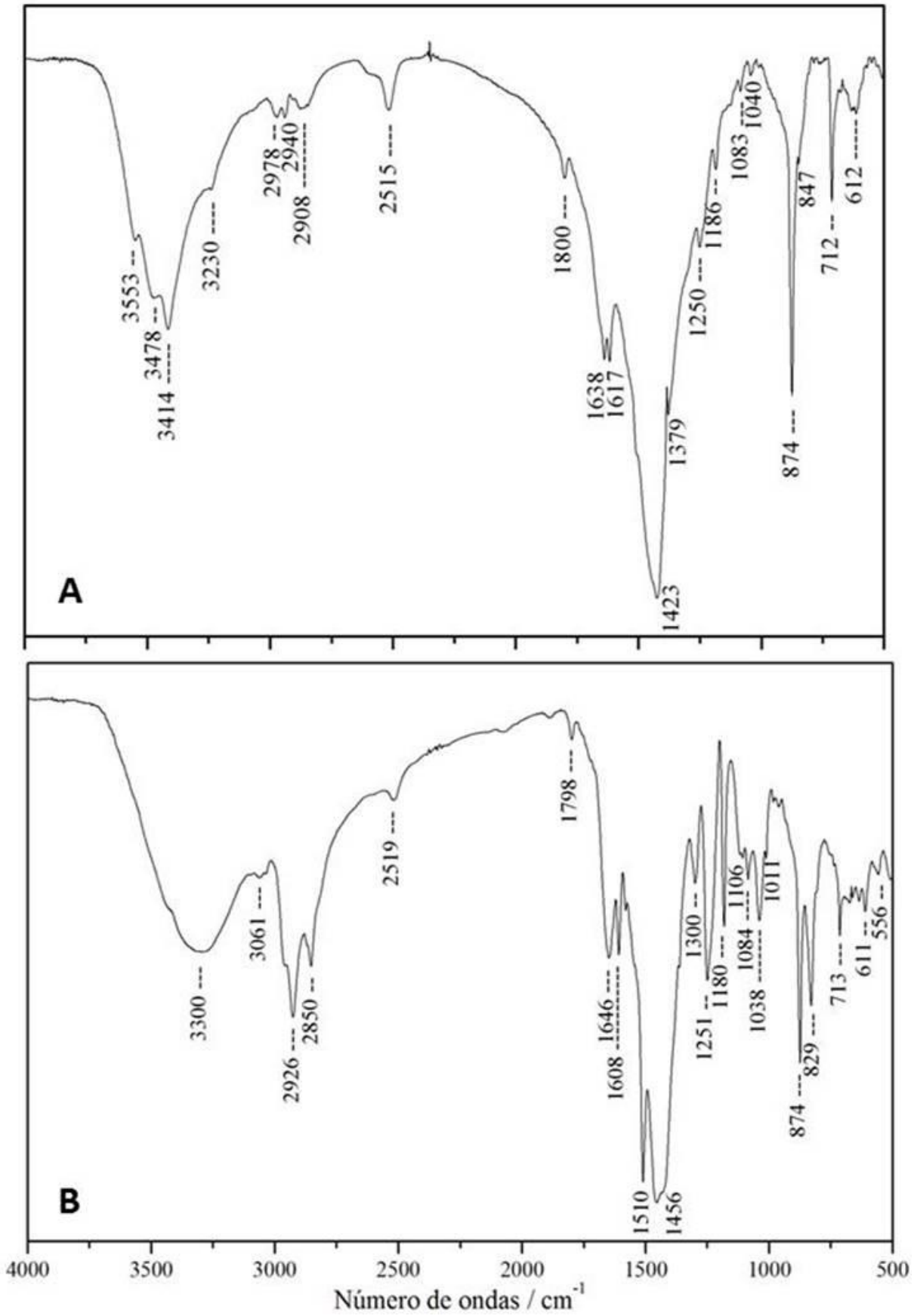


Figura 105. Espectros de FTIR, mostrando o perfil das tintas contendo (A) Nb_2O_5 e (B) Nb_2O_5 com EPS, após aplicação de 350 mV realizado pelo ensaio de EIE e imersão durante 144 dias em água de produção do pré-sal.

IV.5 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV.

As estruturas metálicas revestidas não estão imunes aos diferentes tipos de processos corrosivos. Em meios salinos, a corrosão localizada se desenvolve com maior facilidade devido à presença de íons agressivos como os cloretos (Cristóbal *et al*, 2006). Entretanto, a presença de microrganismos sobre as superfícies podem estimular o aumento do processo de corrosão localizada por reações na interface do material ocasionada pela atividade do metabolismo bacteriano (Ismail *et al*., 1999). Desta forma, a técnica utilizando a MEV foi utilizada para avaliar a formação de biofilme bacteriano sobre as superfícies metálicas revestidas, submetidas ou não à proteção catódica. Os ensaios de imersão em água do mar natural foram procedidos conforme descrito no capítulo III (item 5. Avaliação da Formação do Biofilme Marinho: com e sem aplicação de proteção catódica). A seguir são apresentados os resultados de microscopia nos sistemas com e sem proteção catódica galvânica antes e após 7 dias de imersão dos corpos de prova em água do mar *in natura,* bem como, a Tabela 07 com os potenciais eletroquímicos dos corpos de prova no início e após os ensaios.

Tabela 07. Potenciais eletroquímicos dos diferentes sistemas antes e após 7 dias de imersão em água do mar *in natura*.

Tipo de revestimento	Proteção catódica galvânica	Potencial eletroquímico ($V_{Ag/AgCl}$) inicial	Potencial eletroquímico ($V_{Ag/AgCl}$) final
Cu_2O sem polímero	Sim Não	-0,980 -0,062	-1,020 0,048
Cu_2O com polímero	Sim Não	-1,097 -0,060	-1,105 -0,056
Nb_2O_5 sem polímero	Sim Não	-1,096 - 0,081	-1,100 0,249
Nb_2O_5 com polímero	Sim Não	-0,950 - 0,017	-0,955 -0,463

Na Figura 106 são apresentadas as imagens dos revestimentos à base de óxido de cobre (Figura 106A) e óxido de nióbio (Figura 106B), sem EPS e antes da imersão em água do mar e aplicação da proteção catódica.

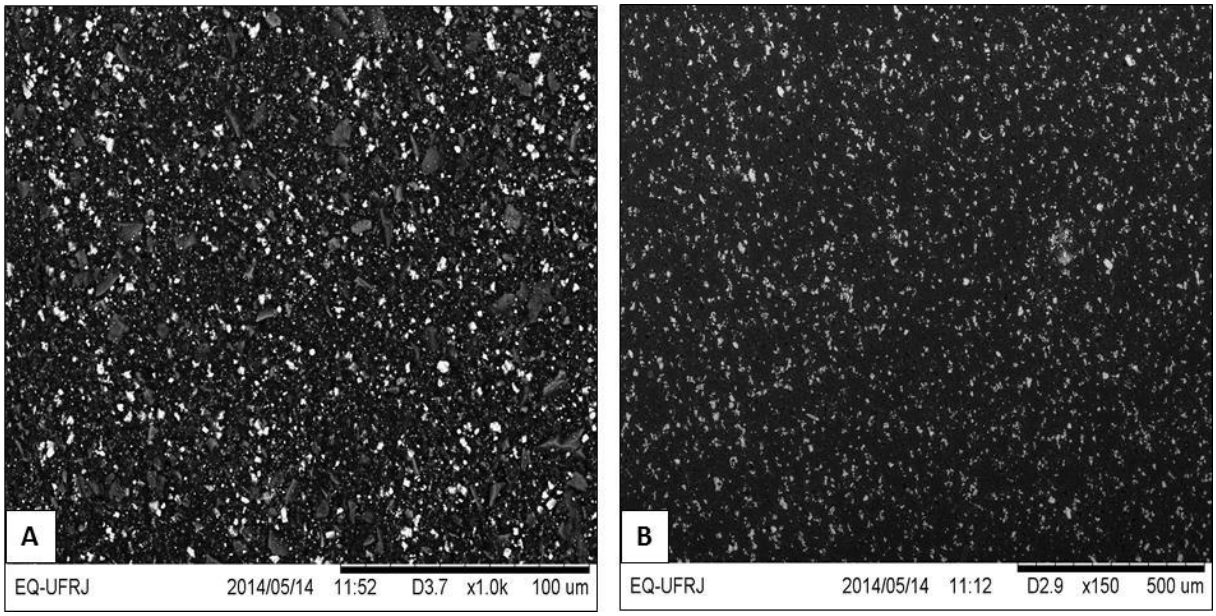


Figura 106. Microscopia Eletrônica de Varredura dos revestimentos: (A) óxido de cobre e (B) óxido de nióbio antes dos ensaios de imersão em água do mar.

Inicialmente, podemos observar que os dois revestimentos na ausência de EPS apresentam aspecto similar na distribuição dos seus respectivos óxidos (pontos mais claros nas imagens) e ausentes de qualquer contaminação bacteriana e poros.

Na Figura 107 são apresentadas as imagens dos revestimentos à base de óxido de cobre e óxido de nióbio, com EPS e antes da imersão em água do mar e aplicação da proteção catódica. Podemos observar que o revestimento de óxido de cobre já apresenta poros no revestimento, evidenciando que a incorporação do EPS na tinta pode alterar o seu comportamento anticorrosivo (Figura 107A). Entretanto, na tinta a base de óxido de nióbio, observamos a adsorção do EPS sob o revestimento, bem como ausência de porosidade na tinta (Figura 107B).

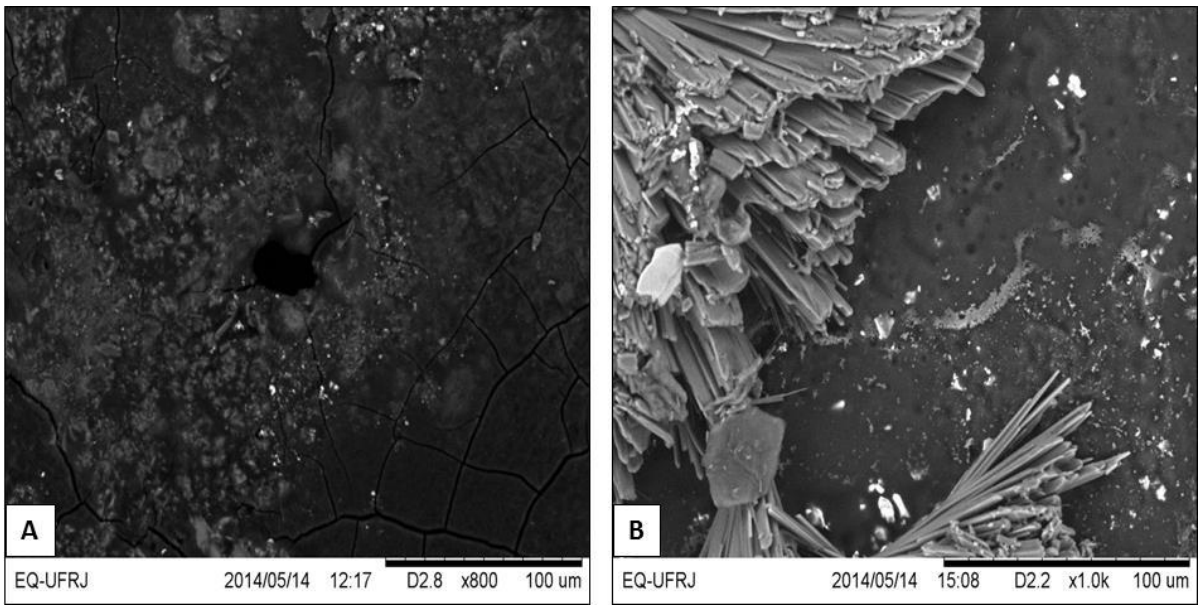


Figura 107. Microscopia Eletrônica de Varredura dos revestimentos incorporados com EPS: (A) óxido de cobre e (B) óxido de nióbio antes dos ensaios de imersão em água do mar.

O primeiro estágio do processo de corrosão microbiológica e formação de incrustações marinhas está associado à formação do biofilme bacteriano. De acordo com a sua composição, esses polímeros podem promover um aumento na quantidade de água no poro dos revestimentos (Sand, 1997). Desta forma, os biofilmes são capazes de receber elétrons vindos pelos poros dos metais revestidos, favorecendo o fluxo de elétrons do metal (anodo) para diferentes aceptores de elétrons como oxigênio (catodo), acelerando o processo de corrosão (Beech & Sunner, 2004).

Quando os revestimentos são colocados em água do mar in natura sofrem imediatamente complexas interações físicas, químicas e biológicas, resultando na absorção / adsorção de material orgânico dissolvido, alterações eletrostáticas e outras características inerentes ao substrato (Edyvean *et al*, 1992). Além disso, os autores demonstram em seu estudo sobre a relação da proteção catódica com o estabelecimento de bactérias marinhas em aço ao carbono, que nos ecossistemas aquáticos, as bactérias são os colonizadores pioneiros de uma superfície recém-

introduzida, sendo que o metabolismo destas bactérias pode resultar na atração de mais células, por formar condições ideais para outros grupos de micro-organismos. Na Figura 108 são apresentas às imagens dos revestimentos à base de óxido de cobre, (A) sem proteção e EPS; (B) com proteção catódica e sem EPS; (C) sem proteção catódica e com EPS; (D) com proteção catódica e EPS, após 7 dias de imersão em água do mar. Podemos observar nas Figura 108A e B, a formação inicial do biofilme marinho devido à colonização bacteriana associados a formação de um filme condicionante, independente da aplicação da proteção catódica. A formação do filme orgânico condicionante pode ser observado sem auxílio do microscópio, como uma fina camada rugosa adsorvida ao revestimento a base de Cu_2O na ausência (Figura 109A) e presença da proteção catódica (Figura 109B).

Conforme descrito na revisão bibliográfica, as correntes catódicas podem provocar redução do oxigênio dissolvido, e promover uma maior concentração de carbonatos (Rousseau *et al*, 2010). Desta forma, dependendo do potencial aplicado podem ser precipitados diferentes carbonatos, como o carbonato de cálcio e/ou magnésio. Com isso, a formação de precipitados inorgânicos é observada tanto no MEV (Figura 108C e D), quanto no aspecto macroscópico do material (Figura 110A e B). Experimentalmente, cálcio e magnésio se apresentam como necessários para melhor adesão bacteriana (Gordon & Millero, 1984) e, sugerem que o cálcio pode estar envolvido na estabilização dos polissacarídeos ácidos bacterianos (Marriot *et al*., 2014). Cooksey & Cooksey (1988) demonstraram que o cálcio também é necessário para a fixação de diatomáceas marinhas como um “íon ponte”. Da mesma forma que o apresentado, a formação de precipitados ocorreu tanto na ausência quando na presença da proteção catódica, indicando um efeito indutivo pela presença do EPS o revestimento. Entretanto, a incorporação do EPS inibiu o estabelecimento bacteriano até o final do período estudado, indicando um

retardamento no processo de colonização da tinta. Desta forma, essas informações evidenciam que a presença de bactérias marinhas não foi influenciada pela aplicação da proteção catódica e, a incorporação do EPS inibiu o estabelecimento dos microrganismos,

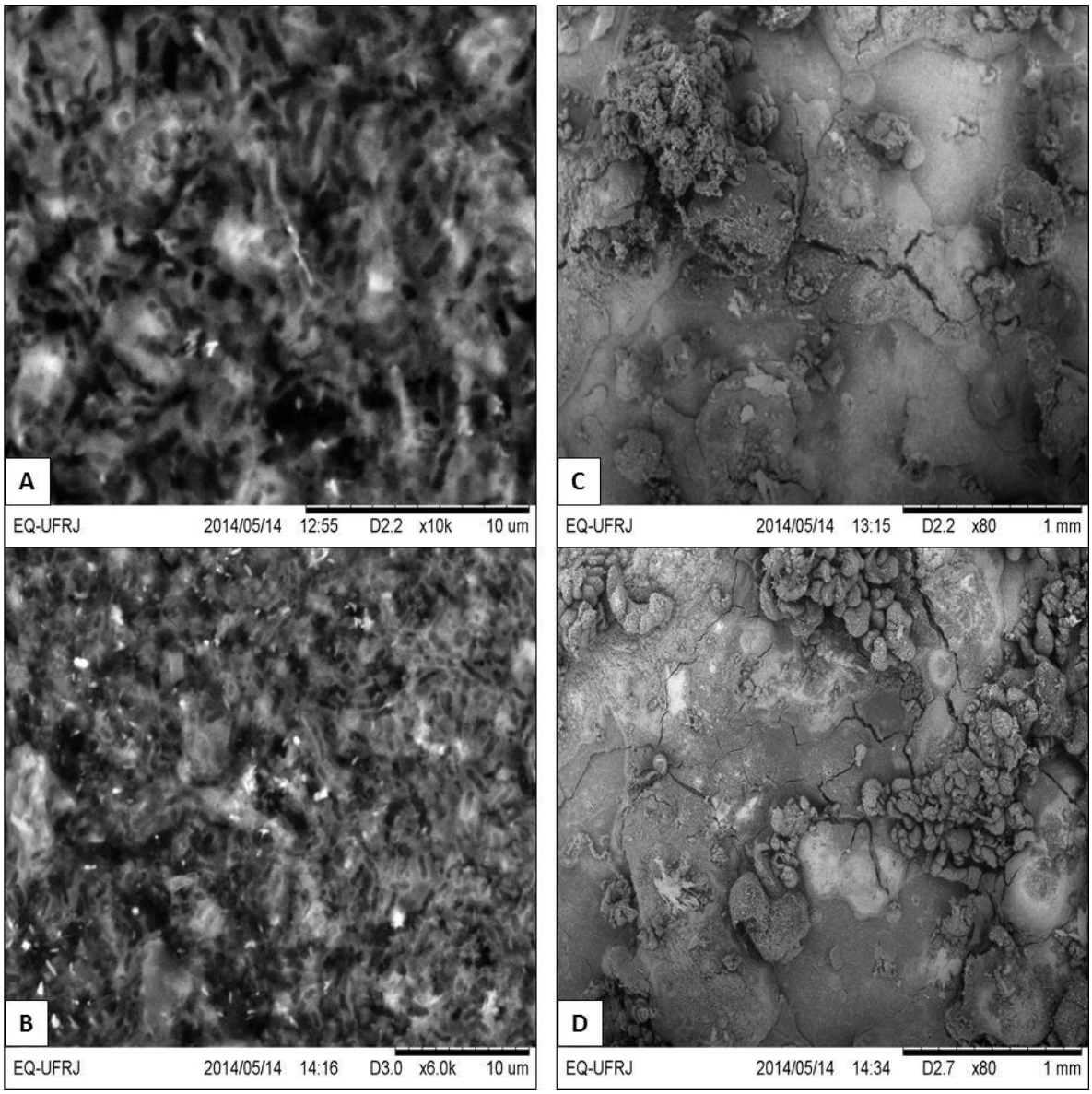


Figura 108. Microscopia Eletrônica de Varredura do revestimento de Cu_2O após 7 dias de imersão em água do mar: (A) sem proteção e EPS; (B) com proteção catódica e sem EPS; (C) sem proteção catódica e com EPS; (D) com proteção catódica e EPS.

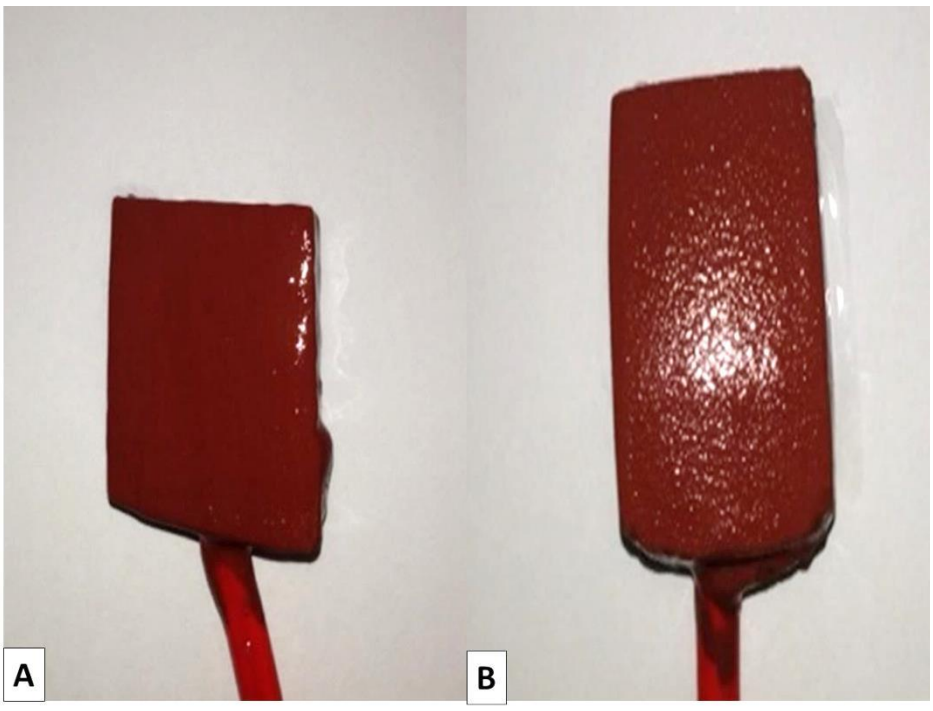


Figura 109. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de cobre na (A) ausência e (B) presença da proteção catódica.

Na Figura 111 é apresentada a imagem dos revestimentos a base de óxido de nióbio, (A) sem proteção e EPS; (B) com proteção catódica e sem EPS; (C) sem proteção catódica e com EPS; (D) com proteção catódica e com EPS, após 7 dias de imersão em água do mar. Podemos observar em todas as figuras que não há o estabelecimento de microrganismos, tanto na ausência quando na presença da aplicação da proteção catódica. Além disso, nas Figuras 111B e 111D, observamos claramente a interação do EPS com o óxido de nióbio, com uma formação polimérica adsorvida ao revestimento. A formação do filme polimérico pode ser observado sem auxílio do microscópio, como uma maior rugosidade adsorvida ao revestimento a base de Nb_2O_5 quando comparamos com o revestimento sem EPS (Figura 112A) e com EPS (Figura 112B) na ausência da proteção catódica. O mesmo resultado microscópico (Figuras 111A e C) e macroscópico foi obtido com a aplicação da proteção catódica na ausência (Figura 113A) e presença (figura 113B)

de EPS quando comparado com os resultados anteriores para o revestimento de óxido de nióbio.

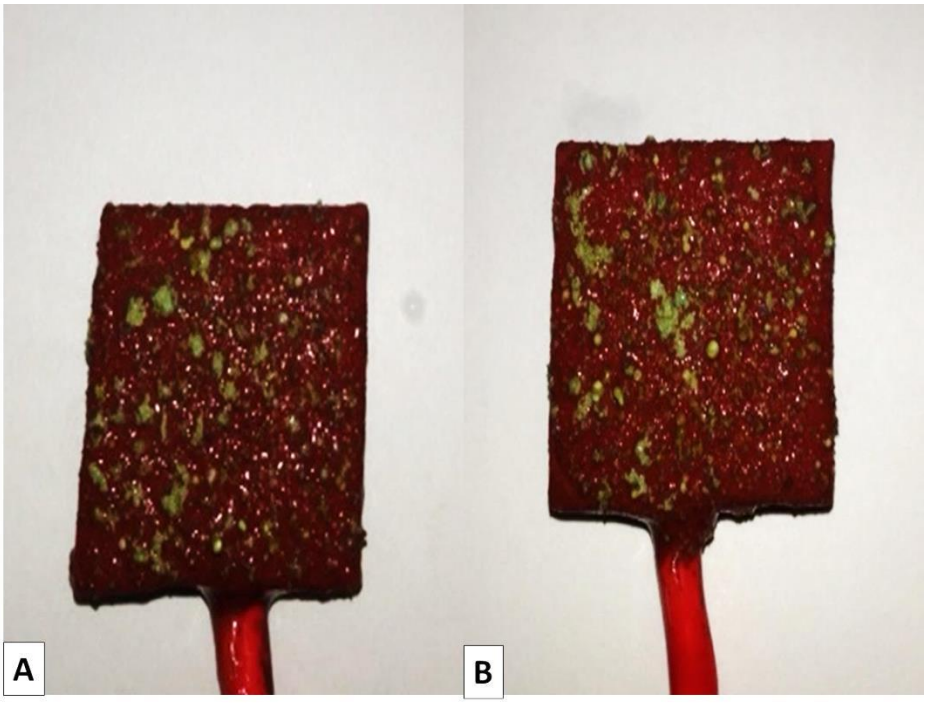


Figura 110. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de cobre com EPS na (A) ausência e (B) presença da proteção catódica.

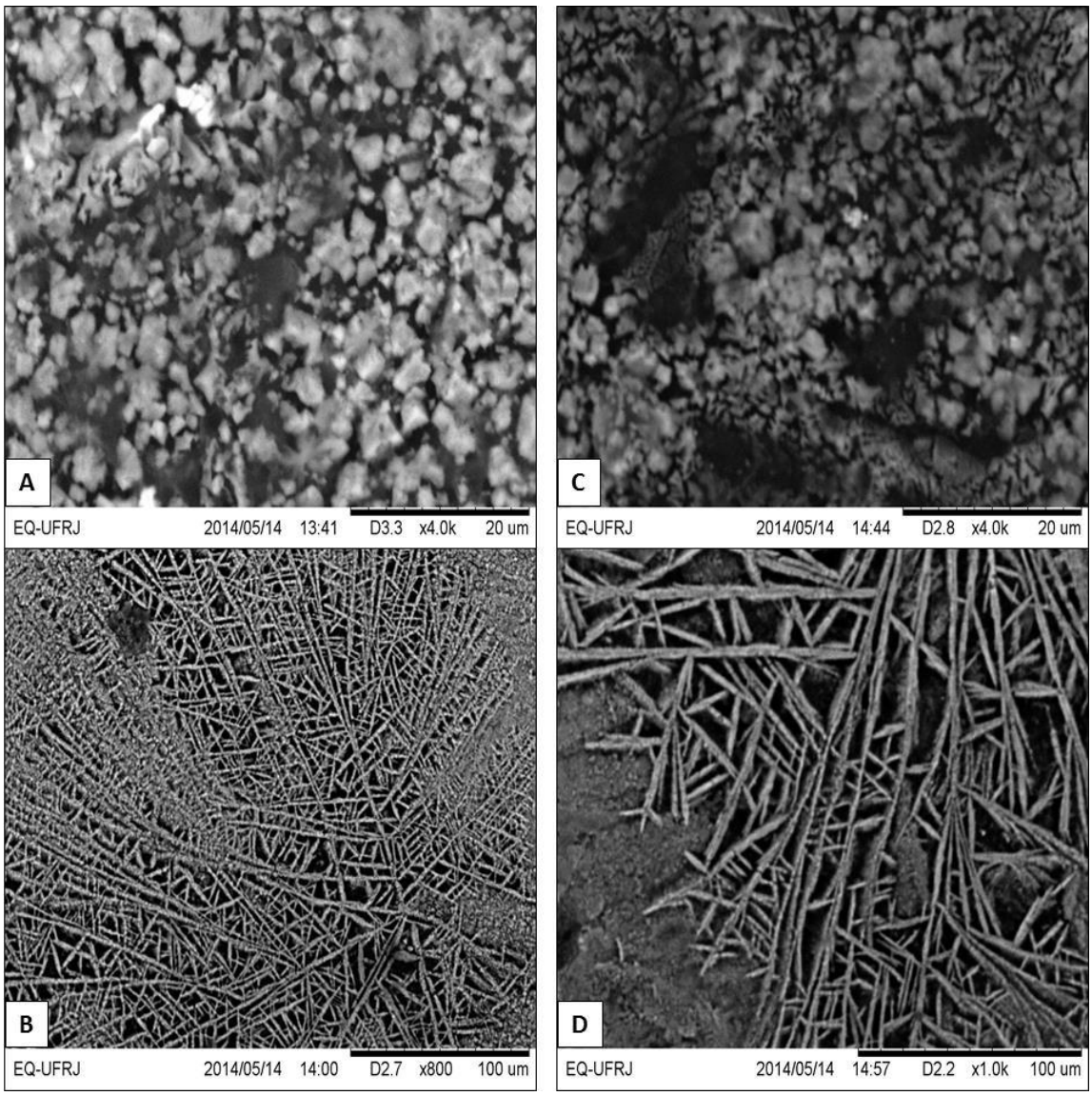


Figura 111. Microscopia Eletrônica de Varredura do revestimento de Nb_2O_5 após 7 dias de imersão em água do mar: (A) sem proteção catódica e sem EPS; (B) com proteção catódica e sem EPS; (C) sem proteção catódica e com EPS; (D) com proteção catódica e EPS.

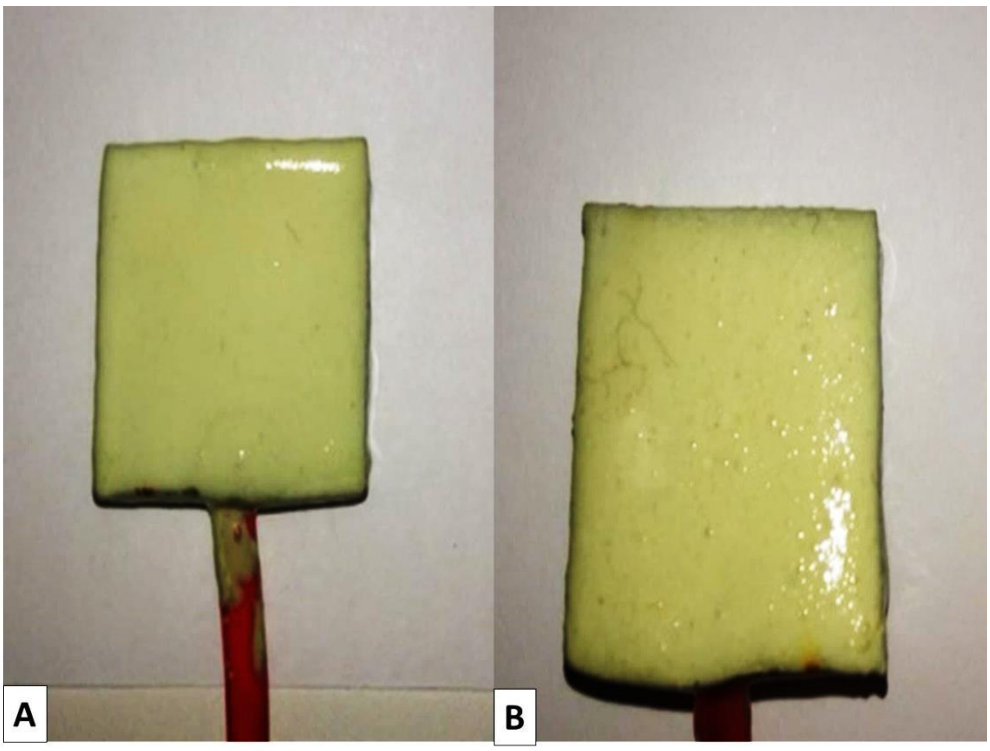


Figura 112. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de nióbio sem proteção catódica na (A) ausência e (B) presença de EPS.

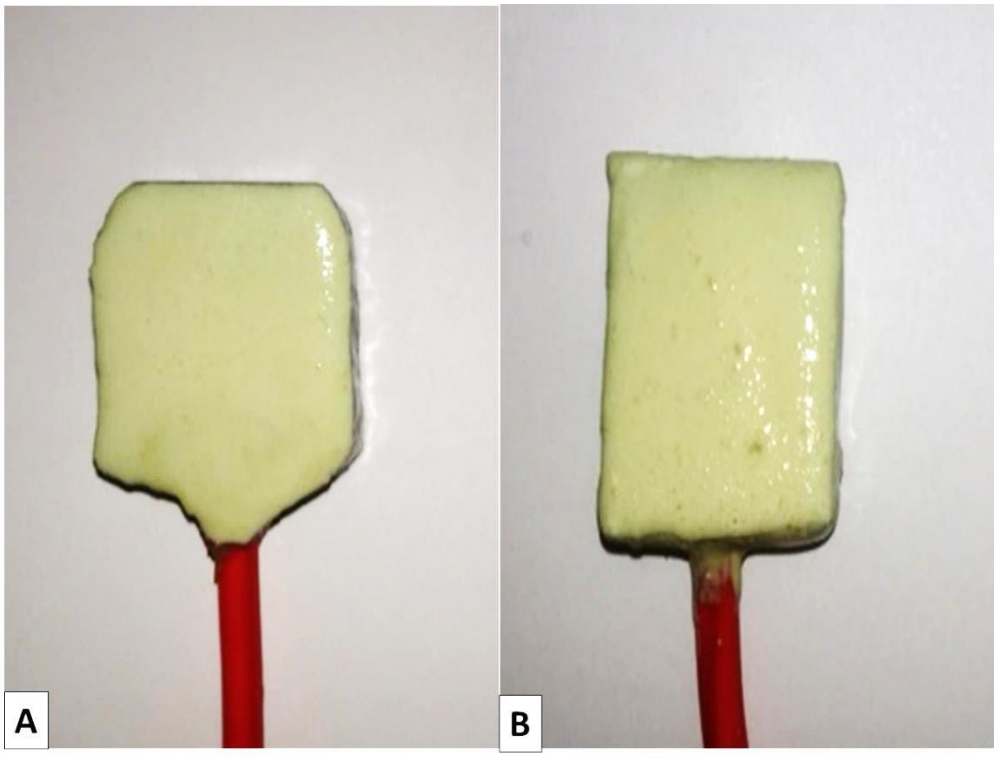


Figura 113. Aspecto macroscópico da superfície dos revestimentos a base de óxido de nióbio com proteção catódica na (A) ausência e (B) presença de EPS.

CAPÍTULO 5

Considerações Finais e Conclusões

A pesquisa integrou diferentes áreas para o desenvolvimento de soluções de problemas industriais, como a biotecnologia e a eletroquímica, sendo o eixo de ligação para estudar a prospecção de uma nova fonte de substância *antifouling*, bem como resolver problemas industriais acarretados pelo efeito da biocorrosão.

O trabalho visou a obtenção de um biopolímero renovável extraído de uma cianobactéria, para uso como um possível substituto de aos biocidas convencionais e tóxicos, utilizados em diferentes revestimentos protetores de aço – carbono submerso em meio marinho para combater a formação do biofilme bacteriano e a incrustação biológica.

Os métodos aplicados e otimizados para a síntese, extração e purificação adotados permitiram obter a produção do EPS proposto com sucesso. Entretanto, o desenvolvimento de uma rota sintética para a fração do EPS responsável pela propriedade *antifouling* deve ser desenvolvida para viabilizar a produção do biopolímero em escala piloto.

Comparando a estabilidade do EPS nas tintas a base de óxido de cobre e óxido de nióbio, observamos que a tinta de cobre não possui boa interação com o EPS, sendo modificada também a sua propriedade anticorrosiva, evidenciada pelos espectros de impedância eletroquímica. Entretanto, o óxido de nióbio teve uma boa interação com o biopolímero, e com menos alterações da sua propriedade anticorrosiva. Desta forma, devido ao comportamento coloidal do EPS em diferentes pHs, os revestimentos incorporados com essa biomolécula devem ser modificados, para que a incorporação do EPS, seja ela por ação mecânica ou química, aconteça de maneira otimizada, apresentando menor rugosidade e, como consequência melhor desempenho. Isto é, a tinta precisará ser preparada para receber o EPS.

Utilizando a técnica de Espectroscopia de Infravermelho, foi possível determinar os grupos funcionais presentes no EPS, bem como a sua modificação após

incorporação no revestimento e avaliação após a degradação das tintas em diferentes meios corrosivos. Desta forma, os resultados indicam que o revestimento de óxido de nióbio, quando comparado aos resultados do óxido de cobre, é o mais indicado para a incorporação do EPS.

O estudo do comportamento dos revestimentos em diferentes meios corrosivos indicaram, como era de se esperar devido a sua alta salinidade, que as águas de produção (pós-sal e pré-sal) foram mais agressivas quando comparadas com a água do mar sintética. Os revestimentos à base óxido de cobre na presença do EPS em água do mar formaram produtos de corrosão carbonáticos enquanto que as águas de produção promoveram a formação de óxidos de ferro, indicando o aumento da porosidade da tinta. Entretanto, essas observações não foram evidenciadas nos revestimentos de óxido de nióbio tanto na ausência quando na presença de EPS. Desta forma, a tinta a base de óxido de nióbio, quando comparada à tinta a base de cobre, foi mais indicada para o uso no meio de maior corrosividade avaliado nesse estudo, que foi a água produzida em região de pré-sal. A incorporação do EPS para efeito antifouling nessa tinta demonstrou ser uma boa opção para evitar a formação de biofilmes.

De acordo com os espectros de FTIR, a adição do EPS incorporou diferentes grupos funcionais orgânicos aos revestimentos. Entretanto, os espectros da incorporação do EPS na tinta de óxido de nióbio evidenciam maior associação química entre os materiais. Além disso, ao final dos experimentos, o perfil apresentado pelos espectros evidencia diferentes formas de interação dos meios com a tintas, tanto na presença quando na ausência do EPS nos diferentes meios corrosivos.

Os ensaios laboratoriais visando avaliar o desempenho das tintas modificadas em relação à formação do biofilme bacteriano marinho sobre corpos de prova de

aço-carbono revestidos com as diferentes tintas na presença ou ausência da proteção catódica, demonstraram claramente o efeito anti-bacteriano do EPS nas condições testadas. Para o revestimento de óxido de cobre, o tempo estipulado para o ensaio foi suficiente para obtenção resultados significativos. Foi verificado nesse caso o desenvolvimento inicial do biofilme bacteriano marinho. Entretanto, no caso da tinta de óxido de nióbio, não foi observada a formação do biofilme após sete dias de imersão em água do mar natural. Entretanto, esse resultado pode indicar que para esse tipo de tinta, seria necessário um ensaio de maior duração para avaliar o efeito *antifouling* do revestimento na presença do EPS. Além disso, a aplicação da proteção catódica não inibiu nem favoreceu o estabelecimento das bactérias nos revestimentos testados.

Como resultado final do trabalho, pôde-se concluir que o EPS se apresentou como uma molécula anti-bateriana promissora para o segmento de tintas *antifouling* e que a eficácia desse polímero na prevenção da formação de biofilmes sobre o aço-carbono depende do tipo de tinta na qual é incorporado.

CAPÍTULO 6

Referências Bibliográficas

AKBARINEZHAD, E.; REZAEI, F.; NESHATI, J. Evaluation of a high resistance paint coating with EIS measurements: Effect of high AC perturbations. Progress in Organic Coatings, v. 61, p. 45 – 52, 2008.

AL-JUBOORI, R. A.; YUSAF, T. Biofouling in RO system: mechanisms, monitoring and controlling. Desalination, v. 302, p. 1 – 23, 2012.

ALMEIDA, E. Surface Treatments and Coatings of Metals. A General Overview. 1. Surface Treatments Surface Preparations and the Nature of Coatings, v. 40, p. 3 – 14, 2001.

ALMEIDA, E.; DIAMANTINO, T. C.; SOUSA, O. Marine Paints: The particular case of antifouling paints. Progress in Organic Coatings, v. 59, p. 02 – 20, 2007.

ARAÚJO, L. C. A. Avaliação da Corrosão Microbiologicamente induzida em Aço Carbono (1020) com Revestimento de Tinta de Óxido de Nióbio. Dissertação de Mestrado, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 124 p., 2011.

ARMSTRONG, E.; BOYD, K. G.; BURGESS, J. G. Prevention of Marine Biofouling Using Natural Compounds from Marine Organisms. Biotechnology Annual Review, v. 06, p. 221 – 241, 2000.

ARSKOLD, E.; SVENSSON, M.; GRAGE, H.; ROOS, S.; RADSTROM, P.; VAN NIEL, E. W. J. Environmental influences on exopolysaccharide formation in *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730. Int. J. Food Microbiol., v.116, p. 159 – 167, 2007.

ARTHUR, D. E.; JONATHAN, A.; AMEH, P. O.; ANYA, C. A review on the assessment of polymeric materials used as corrosion inhibitor of metals and alloys. International Journal of Industrial Chemistry, v. 2, p. 01 – 09, 2013.

BADGER, M. R.; PRICE, G. D.; LONG, B. M. The Environmental Plasticity and Ecological Genomics of the Cyanobacterial CO_2 Concentrating Mechanism. Journal of Experimental Botany, v. 57, p. 249 – 265, 2006.

BARBALAT, M.; LANARDE, L.; CARON, D.; MEYER, M.; VITTONATO, J.; CASTILLON, F.; FONTAINE, S.; REFAIT, P. Electrochemical study of the corrosion rate of carbon steel in soil: Evolution with time and determination of residual corrosion rates under cathodic protection. Corrosion Science, v. 55, p. 246 – 253, 2012.

BEECH, I.; SUNNER, J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. Current Opinion in Biotechnology, v. 15, p. 181 – 186, 2004.

BELLOTTI, N.; DEL AMO, B.; ROMAGNOLI, R. Tara tannin a natural product with antifouling coating application. Progress in Organic Coatings, v. 74, p. 411–417, 2012.

BIANCHI, G.; LONGHI, P. Copper in sea-water, potential-pH diagrams. Corrosion Science, v. 13, p. 853 – 864, 1973.

BONDARENKO, A. S. Analysis of large experimental datasets in electrochemical impedance spectroscopy. Analytica Chimica Acta, v. 743, p. 41– 50, 2012.

BUCHWEISHAIJA, I.; MHINZI, G. S., Natural products as a source of environmentally friendly corrosion inhibitors: the case of gum exudates from *Acacia seyal var. seyal*. Portugaliae. Electrochim Acta, v. 26, p. 257 – 265, 2008.

BUSSCHER, H. J.; NORDE, W.; SHARMA, P. K.; VAN DER MEI, H. C. Interfacial re-arrangement in initial microbial adhesion to surfaces, Curr. Opin. Colloid Interface Sci. v.,15, p. 510 – 517, 2010.

CALLOW, M. E.; CALLOW, J. A. Marine Biofouling: a sticky problem. Biologist, v. 49, p. 10 – 14, 2002.

CAMILLI, A.; BASSLER, B.L. Bacterial small-molecule signaling pathways. Science, v. 311, p. 1113 – 1116, 2006.

CAMOVSKA, D. B.; ARSOV, M. L.; GRCEV, T. P. Electrochemical and impedance characterization of passive films. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, v. 26,p. 95 – 101, 2007.

CHAMBERS, L. D.; STOKES, K. R.; WALSH, F. C.; WOOD, R. J. K. Modern approaches to marine antifouling coatings. Surface & Coatings Technology, v. 201, p. 3642 – 3652, 2006.

CHICO, B.; SIMANCAS, J.; VEGA, J. M.; GRANIZO, N.; DÍAZ, I.; FUENTE, D.; MORCILLO, M. Anticorrosive Behaviour of Alkyd Paints Formulated with Ion-exchange Pigments. Progress in Organic Coatings, v. 61, p. 283 – 290, 2008.

CIPRIANI, T. R. Polissacarídeos de *Maytenus ilicifolia* (Espinheira-Santa) com Atividade Gastroprotetora. Dissertação de Doutorado em Ciências, Universidade Federal do Paraná, PR – Brasil. 95p. 2007.

COHEN, Y.; JORGENSEN, B. B.; REVSBECH, N. P.; POPLAWSKI, R. Adaptation to hydrogen sulfide of oxygenic and anoxygenic photosynthesis among cyanobacteria. Appl. Environ. Microbiol. v. 51, p. 398 – 407, 1986.

COLLAZO, A.; IZQUIERDO, M.; NÓVOA, X. R.; PÉREZ, C. Surface treatment of carbon steel substrates to prevent cathodic delamination. Electrochimica Acta, v. 52, p. 7513 – 7518, 2007.

COOKSEY, B.; COOKSEY, K. E. Chemical signal-response in diatoms of the genus Amphora. Journal of Cell Science, v. 91, p. 523 – 529, 1988.

CRISTÓBAL, A. B.; ARENAS, M. A.; CONDE, A.; DAMBORENEA, J. Corrosion of stainless steels covered by exopolymers. Electrochimica Acta, v. 52, p. 546 – 551, 2006.

CURIONI, M.; COTTIS, R. A.; DI NATALE, M.; THOMPSON, G. E. Corrosion of dissimilar alloys: Electrochemical noise. Electrochimica Acta, v. 56, p. 6318 – 6329, 2011.

CUTHBERTSON, L.; MAINPRIZE, I. L.; NAISMITH, J. H.; WHITFIELD, C. Pivotal roles of the outer membrane polysaccharide export and polysaccharide copolymerase protein families in export of extracellular polysaccharides in Gram-negative bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev., v. 73, p. 155 – 177, 2009.

DAVEY M. E.; O'TOOLE, G. A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 64, p. 847 – 867, 2000.

DEFLORIAN, F.; ROSSI, S. An EIS study of ion diffusion through organic coatings. Electrochimica Acta, v. 51, p. 1736 – 1744, 2006.

DE GIORGI, V. G. Evaluation of perfect paint assumptions in modeling of cathodic protection systems. Engineering Analysis with Boundary Elements, v. 26, p. 435 – 445, 2002.

DE PHILIPPIS, R.; VINCENZINI, M. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. FEMS Microbiol. Rev., v. 22, p. 151 – 175, 1998.

DE PHILIPPIS, R.; SILI, C.; PAPERI, R.; VINCENZINI, M. Exopolysaccharide-producing cyanobacteria and their possible exploitation: a review. J. Appl. Phycol., v. 13, p. 293 – 299, 2001.

DE PHILIPPIS, R.; VINCENZINI, M. Outermost polysaccharidic investments of cyanobacteria: nature, significance and possible applications. Recent Res. Dev. Microbiol., v. 07, p. 13 – 22, 2003.

DONG,C. F.; FUA, A. Q.; LIB, X. G.; CHENGA,Y. F. Localized EIS characterization of corrosion of steel at coating defect under cathodic protection. Electrochimica Acta, v. 54, p. 628 – 633, 2008.

DOUMIT, C. N.; PINOTTI, M. H. Exopolissacarídeos de Cianobactérias. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, v. 25, p. 43 – 52, 2004.

EDYVEAN, R. G. J.; MAINES, A. D.; HUTCHINSON, C. J.; SILK, N. J.; EVANS, L. V. Interactions Between Cathodic Protection and Bacterial Settlement on Steel in

Seawater. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 29, p. 251 – 271, 1992.

EMI, H.; KUMANO, A.; YAMAMOTO, N.; NAKAMURA, Y.; BABA, N.; SHIHARA, H.; A recent study on life assessment of ships and offshore structures. Tech Bull Nippon Kaiji Kyokai, v. 09, p. 27 – 49, 1991.

FARNDALE, R. W., BUTTLE, D. J., BARRETT, A. J. Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue. Acta Biochim. Biophys., v. 883, p. 173 – 177, 1986.

FINKENSTADT, V. L.; COTE, G. L.; WILLETT, J. L. Corrosion protection of low-carbon steel using exopolysaccharide coatings from Leuconostoc mesenteroides. Biotechnology Letters, v. 33, p. 1093 – 1100, 2011.

FREITAS, F.; ALVES, V. D.; REIS, M. A. M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. Trends in Biotechnology, v. 29, 388 – 398, 2011.

GARDINER, C. P.; MELCHERS, R. E. Corrosion analysis of bulk carrier ships. In: Proceedings of the Conference on Corrosion & Prevention, 9 – 12 November, Brisbane, 1997.

GIOVANNONI, S. J.; TURNER, S.; OLSEN, G. J.; BARNS, S.; LANE, D. J.; PACE, N. R. Evolutionary Relationships among Cyanobacteria and Green Chloroplasts. Journal of Bacteriology, v. 170, p. 3584 – 3592, 1988.

GORDON, A. S.; MILLERO, F. J. Electrolyte Effects on Attachment of an Estuarine Bacterium. Applied and Environmental Microbiology, v. 47, p. 495 – 499, 1984.

GUEZENNEC, J. G. Cathodic Protection and Microbially Induced Corrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, p. 275 – 288, 1994.

HARRINGTON, D. A.; DRIESSCHE, P. Mechanism and equivalent circuits in electrochemical impedance spectroscopy. Electrochimica Acta, v. 56, p. 8005 – 8013, 2011.

HERSHKOVITZ, N.; OREN, A.; COHEN, Y. Accumulation of Trehalose and Sucrose in Cyanobacteria Exposed to Matric Water Stress. Applied and Environmental Microbiology, v. 57, p. 645 – 648, 1991.

IKUMA, K.; DECHO, A. W.; LAU, B. L. T. The extracellular bastions of bacteria – A Biofilm Way of Life. Nature Education Knowledge, v. 42, 2013.

ISMAIL, K. M.; JAYARAMAN, A.; WOOD, T. K.; EARTHMAN, J. C. The influence of bacteria on the passive film stability of 304 stainless steel. Electrochimica Acta, v. 44, p. 4685 – 4692, 1999.

JIE, L.; XIANG-BOC, L.; JIA, W.; TIAN-YUANA, L.; XIAO-MING, W. Studies of impedance models and water transport behaviours of epoxy coating at hydrostatic pressure of seawater. Progress in Organic Coatings, v. 76, p. 1075 – 1081, 2013.

JOHNSTON, S. L; VOORDOUW, G. Sulfate-Reducing Bacteria Lower Sulfur-Mediated Pitting Corrosion under Conditions of Oxygen Ingress. Environ. Sci. Technol., v. 46, p. 9183 − 9190, 2012.

JUDICE, M.A.M. Determinação de componentes extracelulares de lodos ativados. São Carlos, 1991. 146 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo.

KEAR, G.; BARKER, B. D.; WALSH, F. C. Electrochemical corrosion of unalloyed copper in chloride media—a critical review. Corrosion Science, v. 46, p.109 – 135, 2004.

KONSTANTINOU, I. K.; ALBANIS, T. A. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. Environment International, v. 30, p. 235 – 248, 2004.

LEE, W.; LEWANDOWSKI, Z.; NIELSEN, P. H.; HAMILTON, W. A. Role of sulfate-reducing bacteria in corrosion of mild steel: a review. Biofouling, v. 08, p. 165 – 194, 1995.

MARÉCHAL, J.; HELLIO, C. Challenges for the Development of New Non-Toxic Antifouling Solutions. Int. J. Mol. Sci., v. 10, p. 4623 – 4637, 2009.

MARRIOTT, A.S.; HUNT, A. J.; BERGSTROM, E.; WILSON, K.; BUDARIN, V. L. Investigating the structure of biomass-derived non-graphitizing mesoporous carbons by electron energy loss spectroscopy in the transmission electron microscope and X-ray photoelectron spectroscopy. Carbon, v. 67, p. 514 – 524, 2014.

MARTINEZ, S.; ZULJ, L. D.; KAPOR, F. Disbonding of underwater-cured epoxy coating caused by cathodic protection current. Corrosion science, v. 51, p. 2253 – 2258, 2009.

MELCHERS, R. E. The effect of corrosion on the structural reliability of steel offshore structures, Corrosion Science, v. 47, p. 2391 – 2410, 2005.

MELCHERS, R. E. Modelling of marine immersion corrosion for copper-bearing steels. Corrosion Science, v. 45, p. 2307 – 2323, 2003.

MELCHERS, R. E. Corrosion uncertainty modelling for steel structures. Journal of Constructional Steel Research, v. 52, p. 3 – 19, 1999.

MELCHERS, R. E.; WELLS, T. Models for the anaerobic phases of marine immersion corrosion. Corrosion Science, v. 48, p. 1791 – 1811, 2006.

MELO, R. S.; NEVES, M. H. C. B.; BAPTISTA, O. R. Cultivo axênico das cianobactérias marinhas *Aphanothece halophytica* Frémy, 1933 e *Chroococcus minutus* (Kützing) Nägeli, 1849. Acta Botanica Brasilica, v. 25, p. 234 – 240, 2011.

MIRANDA, L. R.; CARVALHO, L. J.; PEREIRA, A. C. Niobium based paints and coatings, its oxides and anticorrosive use. United States Patente Application Publication. 2004/0132885 A1. 2004.

MOJICA, J.; GARCIA, E.; RODRÍGUES, F. J.; GENESCÁ, J. Evaluation of the protection against corrosion of a thick polyurethane film by electrochemical noise. Progress in Organic Coatings, v. 42, p. 218 – 225, 2001.

MOZZI, F.; GIORI, G. S. D.; VALDEZ, G., F., D. UDP galactose 4-epimerase: a key enzyme in exopolysaccharide formation by *Lactobacillus casei* CRL 87 in controlled pH batch cultures. J. Appl. Microbiol., v. 94, p. 175 – 183, 2003.

OGUZIE, E. E.; OGUKWE, C. E., OGBULIE, J. N.; NWANEBU, F. C.; ADINDU, C. B.; UDEZE, I. O.; OGUZIE, K. L.; EZE, F. C. Broad spectrum corrosion inhibition: corrosion and microbial (SRB) growth inhibiting effects of *Piper guineense* extract. J. Mater. Sci., v. 47, p. 3592 – 3601, 2012.

OYEDEJI, O. A.; ADENIYI, B. A.; AJAYI. O.; KÖNIG, W. A. Essential Oil Composition of Piper guineense and its Antimicrobial Activity. Another Chemotype from Nigeria. Phytother. Res. v. 19, p. 362 – 364, 2005.

PAIK, J. K.; KIM, D. K. Advanced method for the development of an empirical model to predict time-dependent corrosion wastage. Corrosion Science, v. 63, p. 51 – 58, 2012.

PARSEK, M. R.; SINGH, P.K. Bacterial biofilms: An emerging link to disease pathogenesis. Annu. Rev. Microbiol., v. 57, P. 677 – 701, 2003.

PELLI, A. A.; AZEVEDO, R. A.; CINELLI, L. P.; MOURÃO, P. A. S.; BRITO-GITIRANA, L; Dermatan sulfate is the major metachromatic glycosaminoglycan in the integument of the anuran *Bufo ictericus*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, v. 146, p. 160 – 165, 2007.

PEREIRA, S.; ZILLE, A.; MICHELETTI, E.; MORADAS-FERREIRA, P.; DE PHILLIPPIS, R.; TAMAGNINI, P. Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors and putative genes

involved in their biosynthesis and assembly. FEMS Microbiol Rev., v. 33, p. 917 – 941, 2009.

PERKINS, J.; BORNHOLDT, R. A. The corrosion product morphology found on sacrificial zinc anodes. Corrosion Science, v. 17, p. 377 – 384, 1977.

POLISKIE, M.; CLEVENGER, J. O. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy for Coating Characterization and Failure Analysis. Metalfinishing, p. 46 – 49, 2008.

RAMÍREZ, G.; RODIL, S. E.; MUHL, S.; TURCIO-ORTEGA, D.; OLAYA, J. J.; RIVERA, M.; CAMPS, E.; ESCOBAR-ALARCÓN, L. Amorphous niobium oxide thin films. Journal of Non-Crystalline Solids, v. 356, p. 2714 – 2721, 2010.

REED, R. H.; BOROWITZKA, L. J.; MACKAY, M. A.; CHUDEK, J. A.; FOSTER, R.; WARR, S. R. C.; MOORE, D. J.; STEWART, W. D. P. Organic solute accumulation in osmotically stressed cyanobacteria. FEMS Microbiol. Rev. 39: 51 – 56, 1986.

REGELSBERGER, G.; ATZENHOFER, W.; RÜKER, F.; PESCHEK, G. A. Biochemical Characterization of a Membrane-bound Manganese containing Superoxide Dismutase from the Cyanobacterium *Anabaena* PCC 7120. The Journal of Biological Chemistry, v. 277, p. 43615 – 43622, 2002.

ROUSSEAU, C.; BARAUD, F.; LELEYTER, L.; GIL, O. Cathodic protection by zinc sacrificial anodes: Impact on marine sediment metallic contamination. Journal of Hazardous Materials, v. 167, p. 953 – 958, 2009.

SANCHEZ, B.; VANDERSTEEN, R. B.; SCHOUKENS, J. Optimal multisine excitation design for broadband electrical impedance spectroscopy. Meas. Sci. Technol., v. 22, 11 pp., 2011.

SAND, W. Microbial Mechanisms of Deterioration of Inorganic Substrates- A General Mechanistic Overview. International Biodeterioration & Biodegradation, vol. 40, p. 183 – 190, 1997.

SANZ-LÁZARO, C.; NAVARRETE-MIER, F.; MARIN, A. Biofilm responses to marine fish farm wastes. Environmental Pollution, v. 159, p. 825 – 832, 2011.

SATPUTE, S. K.; BANAT, I. M.; DHAKEPHALKAR, P. K.; BANPURKAR, A. G.; CHOPADE, B. A. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. Biotechnology Advances, v. 28, p. 436 – 450, 2010.

SCHEERDER, J.; BREURB, R.; SLAGHEKC, T.; HOLTMAND, W.; VENNIKD, M.; FERRARIE, G. Exopolysaccharides (EPS) as anti-corrosive additives for coatings. Progress in Organic Coatings, v. 75, p. 224–230, 2012.

SCHULTZ, M. P. Effects of coating roughness and biofouling on ship resistance and powering. Biofouling, v. 23, p. 331 – 341, 2007.

SENGOKU, J.; NAITO, M.; OKAMOTO, H.; OGITA, T.; ICHIKAWA, S. On the visibility of fast reactions in electrochemical impedance spectroscopy. Chemical Physics Letters, v. 525, p. 125 – 128, 2012.

SHAN, C.; JIADAO, W.; HAOSHENG, C.; DARONG, C. Progress of marine biofouling and antifouling technologies. Chinese Science Bulletin, v. 56, p. 598 – 612, 2011.

SHEPHERD, R.; ROCKEY, J; SUTHERLAND, I. W.; ROLLER, S. Novel bioemulsifiers from microorganisms for use in foods. J. Biotechnol., v. 40, p. 207 – 217, 1995.

SIEDLAREK, H.; WAGNER, D.; FISCHER, W. R.; PARADIES, H. H. Microbiologically influenced corrosion of copper: the ionic transport properties of biopolymers. Corrosion Science, v. 36 (10), p. 1751 – 1763, 1994.

SILVERMAN, D. C. Rapid corrosion screening in poorly defined systems by electrochemical impedance technique. Corrosion, v. 46, p. 589 – 585, 1990.

SOARES, C. G.; GARBATOV, Y.; ZAYED, A. Effect of environmental factors on steel plate corrosion under marine immersion conditions. Corrosion Engineering, Science and Technology, v. 46(4), p. 524 – 541, 2011.

SORENSEN, P. A.; KIIL, S.; DAM-JOHANSEN, K.; WEINELL, C. E. Anticorrosive coatings: a review, v. 06, p. 135 – 176, 2009.

STOODLEY, P.; SAUER, K.; DAVIES, D.G.; COSTERTON, J.W. Biofims as complex differentiated communities. Annu. Rev. Microbiol., v. 56, p. 187 – 209, 2002.

STOWE, S. D.; RICHARDS, J. J.; TUCKER, A. T.; THOMPSON, R.; MELANDER, C.; CAVANAGH, J. Anti-Biofilm Compounds Derived from Marine Sponges. Mar. Drugs, v. 09, p. 2010 – 2035, 2011.

SU, X.; ZHOU, Q.; ZHANG, Q.; ZHANG, Y.; ZHANG, H. Study on the deterioration process of bipolar coating using electrochemical impedance spectroscopy. Applied Surface Science, v. 257, p. 6095 – 6101, 2011.

SUTHERLAND, I. W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. Int. Dairy J., v. 11, p. 663 – 674, 2001.

THU, Q. L.; BONNET, G.; COMPERE, C.; TRONG, H. L.; TOUZAIN, S. Modified wire beam electrode: a udeful tool to evaluate compatibility between organic coatings and catodic protection. Progress in Organic Coatings, v. 52, p. 118 – 125, 2005.

UMOREN, S. A.; EBENSO, E. E.; OKAFOR, P.C.; EKPE, U.J.; OGBOBE, O. Effect of halides on the corrosion inhibition of mild steel in alkaline medium using polyvinyl alcohol. J. Appl. Polymer. Sci., v.103, p. 2810 – 2816, 2006.

VEDAPRAKASH, L.; DINESHRAM, R.; RATNAM, K.; LAKSHMI, K.; JAYARAJ ,K.; MAHESH, S. B.; VENKATESAN, R.; SHANMUGAM, A. Experimental studies on the effect of different metallic substrates on marine biofouling. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 106, p. 1 – 10, 2013.

VENZLAFF, H.; ENNING, D.; SRINIVASAN, J.; MAYRHOFER, K. J. J.; HASSEL, A. W.; WIDDEL, F.; STRATMANN, M. Accelerated cathodic reaction in microbial corrosion of iron due to direct electron uptake by sulfate-reducing bacteria. Corrosion Science, v.66, p. 88 – 96, 2013.

VIDELA, H. A. Prevention and control of biocorrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 49, p. 259 – 270, 2002.

VIDELA, H. A. Biocorrosão, *Biofouling* e Bioterioração de materiais. 1ª ed., Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 2003.

VIDELA, H. A.; HERRERA, L. K. Understanding microbial inhibition of corrosion. A comprehensive overview. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 63, p. 896 – 900, 2009.

VOULVOULIS, N.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Review Alternative Antifouling Biocides. Applied Organometallic Chemistry, v. 13, p. 135 – 143, 1999.

WHANG, L.; WANG, L.; REN, X.; YE, X.; LI, W.; YUAN, S.; SUN, M.; SHENG, G.; YU, H.; WANG, X. pH Dependence of Structure and Surface Properties of Microbial EPS. Environ. Sci. Technol., v. 46, p. 737 – 744, 2012.

WHELAN, A.; REGAN, F. Antifouling strategies for marine and riverine sensors. Journal of Environmental Monitoring, v. 8, p. 880 – 886, 2006.

WHITFIELD, C. Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in Escherichia coli. Annu. Rev. Biochem., v. 75, p. 39 – 68, 2006.

WHITTON, B. A.; POTTS, M. Introduction to the cyanobacteria. The Ecology of Cyanobacteria (Whitton BA & Potts M, eds), p. 1 – 11. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 2000.

WOLYNEC, S. Técnicas Eletroquímicas em Corrosão. São Paulo: Edusp – Editora da Universidade de São Paulo, 2003.

YAN, M.; GELLING, V. J.; HINDERLITER, B. R.; BATTOCCHI, D.; TALLMAN, D. E.;

BIERWAGEN, G. P. SVET method for characterizing anti-corrosion performance of metal-rich coatings. Corrosion Science, v. 52, p. 2636 – 2642, 2010.

YEBRA,D. M.; KIIL,S.; DAM-JOHANSEN, K. Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. Progress in Organic Coatings, v. 50, p. 75–104, 2004.

YEBRA, D. M.; KIIL, S.; WEINELL, C. E.; DAM-JOHANSEN, K. Effects of Marine Microbial Biofilms on the Biocide Release Rate From Antifouling Paints – A Model-based Analysis. Progress in Organic Coatings, v. 57, p. 56 – 66, 2006.

YEGANEH, M.; TORABI, Z. Comparison between the experimental and theoretical electrochemical impedance for microcrystalline and nanocrystalline copper immersed in near neutral chloride solution. Micro & Nano Letters, vol. 7, p. 208 – 211, 2012.

YIN, K. M.; WU, H. Z. Electrochemical impedance study of the degradation of organic-coated copper. Surface and Coatings Technology, v. 106, p. 167 – 173, 1998.

YTREBERG, E.; KARLSSON, J.; EKLUND, B. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. Science of the Total Environment, v. 408, p. 2459 – 2466, 2010.

ZHANG, D.; LEE, D.; PAN, X. Fluorescent quenching for biofilm extracellular polymeric substances (EPS) bound with Cu(II). Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, v. 43, p. 450 – 454, 2012.

ZHELUDKEVICH, M. L.; SHCHUKIN, D. G.; YASAKAU, K. A.; MÖHWALD, H. FERREIRA, M. G. S. Anticorrosion Coatings with Self-healing Effect Based on Nanocontainers Impregnated with Corrosion Inhibitor. Chem. Mater., v. 19, p. 402 – 411, 2007.

ZHOU, Q.; WANG, Y.; BIERWAGEN, G. P. Influence of the composition of working fluids on flow-accelerated organic coating degradation: Deionized water versus electrolyte solution. Corrosion Science, v. 55, p. 97 – 106, 2012.

ZHU, G.; HOU, J.; ZHU, H.; QIU, R.; XU, J. Electrochemical synthesis of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) on stainless steel and its corrosion inhibition performance. J. Coat. Technol. Res., v. 10, p. 659 – 668, 2013.