## AVALIAÇÃO DA CORROSÃO INDUZIDA MICROBIOLOGICAMENTE EM AÇO CARBONO AISI 1020 REVESTIDO COM TINTA PIGMENTADA COM ÓXIDO DE NIÓBIO

## Lindomar Cordeiro Antunes de Araújo

Dissertação Apresentada ao Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos para a Obtenção do Grau de Mestre em Ciências.

Orientadores: D.Sc. Eliana Flávia Camporese Sérvulo D.Sc. Ladimir José de Carvalho

Escola de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro Agosto, 2011

## AVALIAÇÃO DA CORROSÃO INDUZIDA MICROBIOLOGICAMENTE EM AÇO CARBONO AISI 1020 REVESTIDO COM TINTA PIGMENTADA COM ÓXIDO DE NIÓBIO

## Lindomar Cordeiro Antunes de Araújo

Dissertação submetida ao corpo docente do curso de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Aprovada por:

Eliana Flávia Camporese Sérvulo, 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)

> > Maria Alice Gomes de Andrade Lima, D.Sc. (Universidade Federal de Pernambuco, UFPE)

Márcia Teresa Soares Lutterbach, D.Sc. (Instituto Nacional de Tecnologia, INT)

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

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

> Rio de Janeiro Agosto, 2011

## FICHA CATALOGRÁFICA

Araújo, Lindomar Cordeiro Antunes de. Avaliação da corrosão induzida microbiologicamente em A663a aço carbono AISI 1020 revestido com tinta pigmentada com óxido de nióbio (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)./ Lindomar Cordeiro Antunes de Araújo.-.- Rio de Janeiro, UFRJ, 2011. 127Fls. Orientadores: D.Sc. Eliana Flávia Camporese Sérvulo e D.Sc. Ladimir José de Carvalho Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. 1. Corrosão Induzida Microbiologicamente. 2. Revestimento. 3.Bactérias. I.Sérvulo, Eliana Flávia Camporese. II.Carvalho, Ladimir José de. III.Título. CDU 577.1 (043)

À minha família

### AGRADECIMENTOS

- À Deus, pois sem Ele nada seria possível;
- À Prof<sup>a</sup>. Eliana Flávia, pelas orientações, estímulo e apoio em todos os momentos necessários;
- Ao Prof<sup>o</sup> Ladimir pela orientação e disposição para concluir este trabalho;
- À prof<sup>a</sup> Leila pela amizade e auxílio no início de algumas análises;
- Aos técnicos de Laboratório "Paulinho" pelo apoio e distração e Iracema nas "conversas" de incentivo;
- Ao laboratório de Corrosão "Vicente Gentil" (EQ/UFRJ), em especial à professora Simone por permitir a execução das análises eletroquímicas;
- Ao laboratório de Biocorrosão e Biodegradação (LABIO/INT) pelo treinamento e apoio na realização deste trabalho;
- Ao laboratório de Corrosão e Degradação (INT) pelo apoio na realização das análises de pites.
- Aos novos amigos de laboratório do INT (Labio), Ana, Victor, Miriam, Mariana e Tatiana, pela amizade;
- Ao laboratório de Microscopia Eletrônica do PAM, em especial a Técnica Mariana pela colaboração das análises de MEV e EDS;
- A toda minha família, em especial minha mãe Rita Cordeiro pelo amor transmitido mesmo à distância, ao meu irmão Dorgival pela "força", a minha irmã Rozeane, e ao meu sobrinho Rafael;
- Ao amigo, Jorge Leandro pela "amizade" e força;
- Aos professores e amigos do Maranhão, Prof<sup>o</sup> Paulo Roberto (UFMA), Prof<sup>a</sup> Eliene (UFMA) e Prof<sup>o</sup> Fábio França (UEMA), pelo incentivo de ingressar no mestrado;
- Ao CNPq pelo apoio financeiro.

"A vida é uma pedra de amolar: desgasta-nos ou afia-nos, conforme o metal de que somos feitos."

George Bernard Shaw

### RESUMO

Araújo, Lindomar Cordeiro Antunes de. Avaliação da Corrosão Induzida Microbiologicamente em Aço Carbono AISI 1020 Revestido com Tinta Pigmentada com Óxido de Nióbio. Orientadores: Eliana Flávia Camporese Sérvulo e Ladimir José de Carvalho. Rio de Janeiro: EQ/UFRJ, 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos).

Os micro-organismos são capazes de iniciar, facilitar ou acelerar o processo corrosivo na superfície de materiais, metálicos ou não metálicos. A Corrosão Induzida Microbiologicamente (CIM), termo empregado para denominar a corrosão mediada por micro-organismos, está diretamente relacionada à aderência de espécies microbianas à superfície metálica e sua posterior colonização, levando à formação de biofilmes (estruturas heterogêneas e complexas constituídas por células microbianas inseridas em uma matriz polimérica de origem microbiana). No biofilme, podem co-existir varias espécies de diferentes gêneros microbianos, cuja atividade pode resultar na produção de enzimas, EPS, ácidos orgânicos e inorgânicos, que por sua vez podem afetar as reações catódicas e/ou anódicas em metais, intensificando a velocidade dos processos eletroquímicos na interface biofilme/metal. A aplicação de revestimentos tem sido um método adotado para prevenir ou controlar a adesão de micro-organismos e, consequentemente, a CIM, principalmente do aço ao carbono, um metal muito empregado em diversos seguimentos industriais pelo baixo custo, mas pouco resistente à corrosão. Neste trabalho foi realizada uma avaliação comparativa entre a colonização e a CIM sobre o aço carbono AISI 1020, sem e com revestimento à base de óxido de nióbio, em água do mar (Baía de Guanabara). Os componentes do revestimento - óxido de nióbio, resina epóxi e tinta - apresentaram efeito tóxico sobre as populações planctônicas de bactérias heterotróficas aeróbias, bactérias redutoras de sulfato (BRS) e bactérias precipitantes de ferro; enquanto as bactérias heterotróficas anaeróbias não foram susceptíveis. Para os corpos-de-prova em água do mar, decorrido sete dias de exposição, foi evidenciado um número maior das populações bacterianas nos biofilmes formados sobre as superfícies metálicas revestidas comparativamente às não revestidas, exceto para as BRS, sendo a concentração das populações sésseis dependentes da concentração das mesmas na fase planctônica. Ao final do monitoramento (35 dias), a concentração de BRS nos biofilmes sobre os corpos-de-prova com revestimento foi inferior em 5 ordens de grandeza. As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelaram a ocorrência de bactérias, na forma de bastonetes, aderidas ao aço carbono com revestimento. Quando os corpos-de-prova, sem revestimentos foram expostos à água do mar - in natura -foi observada corrosão uniforme e localizada, em maior intensidade. Já os corpos-de-prova revestidos não apresentaram evidências de empolamento e enferrujamento no período total. As análises eletroquímicas mostraram a influência das bactérias sobre os potenciais e corrente de corrosão do aço ao carbono. No entanto, poucas variações foram detectadas quando o metal foi revestido com a tinta, verificando a eficácia do óxido de nióbio na proteção do aço carbono.

### ABSTRACT

Araújo, Lindomar Cordeiro Antunes de. Evaluation of Microbiologically Induced Corrosion of Carbon Steel AISI 1020 coated with pigment inks with Niobium Oxide. Orientadores: Eliana Flávia Camporese Sérvulo e Ladimir José de Carvalho. Rio de Janeiro: EQ/UFRJ, 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos).

The micro-organisms may initiate, facilitate or accelerate the corrosion of metallic and nonmetallic surfaces. Microbiologically Induced Corrosion (MIC), the term used to describe the corrosion activity mediated by micro-organisms, is directly related to the adherence of microbial species on metal surface and subsequent colonization, leading to biofilms formation (heterogenous and complex structures consisting of microbial cells embedded in a polymer matrix of microbial origin). Within the biofilm, many kinds of different microbial groups can coexist, and their activity can result in enzymes production, EPS, organic and inorganic acids, which in turn may affect the cathodic and / or anodic metallic reactions, increasing the speed of electrochemical processes at the biofilm/metal interface. The application of coating has been a method frequently adopted to prevent or control the adhesion of micro-organisms and MIC, mainly carbon steel, due to its intensive use in various industries related to its low cost, even though presenting a low corrosion resistance. This study aimed at evaluating comparatively the colonization and MIC of carbon steel AISI 1020, with and without a base coat of niobium oxide, in sea water (Guanabara Bay). The components of the coating - niobium oxide, epoxy and paint - presented toxic effects on the plankton populations of aerobic heterotrophic bacteria, sulfacereducing bacteria (SRB) and iron precipitating bacteria, while anaerobic heterotrophic bacteria were not susceptible. After seven days of exposure, except for SBR, it was evidenced a greater number of bacterial populations in biofilms formed on the metal surface compared to the uncoated one. At this time, the concentration of sessile population was dependent on their concentration in the planktonic phase. At the end of monitoring period (35 days), the SRB concentration in biofilms on coated coupons had lowered 5 orders of magnitude. The electron scanning microscopy (SEM) results revealed the occurrence of bacteria, in the form of rods, attached to the coated carbon steel. A uniform and located corrosion was observed on uncoated coupons exposed to sea water (fresh and sterile), especifically more intense in fresh seawater. However, the coated coupons showed no blistering or rusting evidence in the total period. The electrochemical tests showed the influence of bacteria on the current and corrosion potential of carbon steel, although few changes were detected when the metal was painted, showing the effectiveness of the niobium oxide coating on the protection of carbon steel.

## ÍNDICE GERAL

CAPÍTULO 1 – Introdução e Objetivos	16
1.1 – Introdução	17
1.2 -Objetivos	
CAPÍTULO 2 –Revisão Bibliográfica	20
2.1 – Corrosão	21
2.1.1 – Tipos de Corrosão	23
2.1.2 –Materiais Metálicos	24
2.2 – Corrosão Induzida Microbiologicamente (CIM)	27
2.3 –Formação de Biofilme	27
2.4 – Micro – organismos Promotores de CIM	31
2.4.1 –Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)	
2.4.2 –Bactérias Precipitantes de Ferro	
2.4.3 –Bactérias Oxidantes de Enxofre	
2.4.4 – Micro – organismos produtores de ácidos	
2.4.5 –Bactérias Produtoras de EPS	
2.5 –Mecanismo da CIM	
2.5.1 –Formação de Células de aeração diferencial	
2.5.2 – Produção de metabólitos corrosivos	
2.5.3 –Consumo de Inibidores de Corrosão	
2.5.4 – Despolarização Catódica	
2.5.5 –Destruição/Remoção de revestimentos protetores	40
2.6 – Técnicas empregadas para prevenção/controle da CIM	41
2.6.1 –Revestimento	41
2.6.1.1 – Revestimento metálico	
2.6.1.2 – Revestimentos não – metálicos inorgânicos	42
2.6.1.3 – Revestimentos não – metálicos orgânicos	42
2.7 –Óxido de Nióbio	

# viii

2.8 – Principais Métodos Eletroquímicos utilizados na CIM	45
2.8.1 –Potencial de Corrosão	45
2.8.2 – Curvas de Polarização	46
2.9 –Importância do Estudo da Corrosão	47
CAPÍTULO 3 - Materiais e Métodos	48
3.1 –Corpos-de-provas	49
3.2 –Revestimento	50
3.3 –Fluido do processo	51
3.4 –Desenvolvimento Experimental	51
3.4.1 –Ensaio Preliminar	51
3.4.1.1 – Avaliação da toxicidade dos componentes do revestimento	51
3.4.2 –Efeito do revestimento na formação de biofilme e na CIM	53
3.4.3 – Análises Eletroquímicas	55
3.4.3.1 – Medidas de Potencial a Circuito Aberto	56
3.4.3.2 – Ensaios de Polarização Anódica e Catódica	56
3.5 –Metodologia Analítica	57
3.5.1 – Quantificação das populações bacterianas	57
3.5.1.1 –Bacterianas Heterotróficas Aeróbias	58
3.5.1.2 –Bactérias Precipitantes de Ferro	59
3.5.1.3 –Bactérias Heterotróficas Anaeróbias	60
3.5.1.4 –Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)	60
3.5.3 –Dosagem de Sulfeto Total	62
3.5.4 –Perda de Massa/Taxa de Corrosão	63
3.5.5 –Densidade de Pites	64
3.5.6 – Preparo dos corpos-de-prova para análise de MEV	64
3.5.7 – Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia (MEV)	
de Energia Dispersiva (EDS)	65
CAPÍTULO 4 –Resultados e Discussões	66
4.1 - Avaliação da Toxicidade dos Componentes do Revestimento	
sobre Bactérias Planctônicas	67
4.2 –Efeito do Revestimento na Formação de Biofilme e na CIM	68

4.2.1 – Monitoramento Microbiológico na Fase Planctônica
4.2.2 –Formação de Biofilme sobre corp os-de-prova de aço carbono71
4.2.3 –Formação de Biofilme sobre corpos-de-prova de aço
carbono com revestimento à base de Óxido de Nióbio74
4.2.4 – Análise comparativa da formação de Biofilme em função da
presença de Óxido de Nióbio77
4.2.5 – Análise por MEV dos Biofilmes formados sobre os corpos-de-prova81
4.2.6 – Avaliação da Perda de Massa e Taxa de Corrosão
4.2.7 – Análise do Ataque à superfície metálica91
4.2.8 –Determinação da Densidade de pites95
4.3 – Análises Eletroquímicas
4.3.1 –Curvas de Polarização97
4.3.2 –Potencial em Circuito Aberto100
CAPÍTULO 5 – Conclusões
5.1 –Conclusões
CAPÍTULO 6 –Sugestões de trabalhos futuros108
CAPÍTULO 7 –REFERÊNCIAS109
CAPÍTULOS 8 – ANEXOS

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de formação de biofilme
Figura 2: Representação da polarização e despolarização na região catódica40
<b>Figura 3</b> : Diagrama de equilíbrio potencial-pH para o sistema Nb-H <sub>2</sub> O, a 25°C44
Figura 4: Estrutura da dupla camada elétrica45
Figura 5: Curvas de polarização catódica e anódica46
Figura 6: Corpos-de-prova usados nos ensaios50
Figura 7: Sistema utilizado no monitoramento da formação de biofilme e CIM55
Figura 8: Sistema utilizado nos ensaios eletroquímicos
Figura 9: Aspecto visual do caldo nutriente antes e após do crescimento microbiano58
Figura 10: Aspecto visual do meio citrato férrico amoniacal verde após e antes do crescimento das bactérias precipitantes do ferro
Figura 11: Aspecto visual do meio fluido ao tioglicolato após e antes do crescimento microbiano
Figura 12: Aspecto visual do meio Postgate após e antes do crescimento de BRS61
Figura 13: Monitoramento de diferentes populações de bactérias na fase planctônica de sistema
experimental contendo água do mar, onde foram inseridos cupons de aço carbono69

Figura 14: Variação das populações de bactérias em biofilmes formados sobre superfícies de aço
carbono em água do mar73
Figura 15: Variação das populações de bactérias em biofilmes formados sobre superfícies de aço
carbono com revestimento à base de óxido nióbio, em água do mar75
Figura 16: Comportamento das populações sésseis ao longo do tempo em função da presença de
óxido de nióbio78
Figura 17: Aspecto visual dos sistemas experimentais após 15 dias para aço carbono e aço
carbono/revestimento a base de nióbio em água do mar <i>in natura</i> 79
Figura 18: Imagens das superfícies de cupons de aço carbono sem e com revestimento à base de
óxido de nióbio após 21 dias em água do mar
Figura 19: Imagens (MEV) do biofilme formado sobre aço carbono revestido com óxido de
nióbio e gráfico de EDS
<b>Figura 20</b> : Imagens (MEV) dos cristais formados sobre superficies de aço carbono apos 55 días
Eigure 21: Imagens (MEV) dos cristais formados sobre superfícies de aco carbono anós 35 dias
de exposição em água do mar <i>in natura</i> e gráfico de FDS
Eigure 22: Imagana (MEV) dos gristais formados sobre superfísios de soo gerbono anés 25 dies
da exposição em água do mar in natura o gráfico do EDS
Eigure 23: Variação da parda da massa para supone da aco carbono, som o com revestimento
durante expecição em áque de mar in natura e estáril
durante exposição em agua do mai <i>în nuturu</i> e esterm

Figura 24: Imagens (MEV) das superfícies dos cupons de aço carbono e aço carbono com
revestimento, antes de serem usados nos ensaios92
Figure 25: Imagana (MEV) das suporfísios das supons motólicos impresos om éque do mor in
<b>Figura 25.</b> Intagens (MEV) das superficies dos cupons metancos miersos em agua do mar <i>m</i>
<i>natura</i> e água do mar estéril por 7 e 28 dias, respectivamente93
Figura 26: Imagens (MEV) das superfícies dos cupons metálicos revestidos com tinta à base de
óxido de nióbio após 28 dias de exposição em água do mar estéril e <i>in natura</i>
Figura 27: Imagens da superfície do cupom de aço carbono em água do mar <i>in natura</i> no tempo
de 21 dias96
<b>Figura 28</b> : Imagem mostrando corrosão localizada no cupom metálico em água do mar <i>in natura</i>
no tempo de 25 dias
no tempo de 55 días
Figura 29: Curva de polarização para os ensaios conduzidos com cupons de aço carbono em
água do mar estéril, <i>in natura</i> , em função do tempo99
Figura 30: Medida de potencial em circuito aberto do aço carbono AISI 1020 em água do
mar
Figura 31: Sistema experimental empregado nos ensaios eletroquímicos101
<b>Figura 32</b> : Medida de potencial em circuito aberto do aco carbono AISI 1020 com revestimento
à base de óxido de nióbio em na água do mar 102
Figura 33: Medida de potencial em circuito aberto do aço carbono AISI 1020 com revestimento
à base de óxido de nióbio, com defeito (risco), em água do mar103
Figure 34: Aspecto de super de see aspecto revestido com defeito se final de 25
rigura 34. Aspecto do cupom de aço carbono revestido com defeito ao final de 35
dias104

# ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Condições dos testes de toxicidade
Tabela 2: Composição da Solução Redutora
Tabela 3: Composição do Caldo Nutriente
Tabela 4: Composição do Meio Citrato Férrico Amoniacal Verde
Tabela 5: Composição do Meio Postgate E Modificado61
Tabela 6: Classificação da taxa de corrosão do aço carbono64
Tabela 7: Efeito tóxico dos componentes do revestimento sobre diferentes grupos bacterianos67
Tabela 8: Valores da concentração de sulfeto na fase planctônica 80
Tabela 9: Taxas de corrosão e classificação do processo corrosivo correspondente para os      diferentes ensaios realizados

# CAPÍTULO 1 Introdução e Objetivos

#### 1.1 - INTRODUÇÃO

A corrosão induzida microbiologicamente (CIM), corrosão microbiana, ou simplesmente biocorrosão é um processo eletroquímico influenciado por processos biológicos, devido à atividade de micro-organismos, que vem causando, ao longo dos anos, sérios prejuízos a diferentes setores industriais. Não existem números oficiais para o custo da CIM, e na literatura poucas informações são encontradas. Em 2001, a CC Technologies Laboratories, a Nace International, e o Federal Highway (FHWA), que administra as rodovias norte-americanas divulgou que o impacto da corrosão nos diversos setores industriais dos Estados Unidos teve um custo total de cerca US\$ 140 bilhões, equivalendo a 3,1% do PIB. No Brasil, os gastos com corrosão foram estimados em torno de US\$ 30 bilhões em 2006, representando 3,5% do PIB, o que equivaleria a US\$ 400 bilhões, em valores atuais (www.icz.org.br/latingalva; www.engesoftware.eng.br). Em 1964, Booth, no Reino Unido, sugeriu que 50% das falhas de corrosão em dutos eram decorrentes de CIM. Jack e colaboradores (1992) estimaram ser a CIM responsável por 34% dos danos em empresas de petróleo. Segundo Fleming (1996), pelo menos 20% dos custos relacionados à corrosão podem ser associados a biocorrosão, correspondendo a um prejuizo de 30-50 bilhões de dólares anualmente em todo o mundo.

A corrosão microbiana tem causado problemas e perdas inestimáveis nas indústrias químicas, petroquímicas, civil, naval, em estruturas de aço, como pontes, cais, plataformas e nas indústrias de energia elétrica (CAPELLETI, 2004; VIDELA & HERRERA, 2005). Isto porque os micro-organismos estão amplamente distribuídos na natureza e apresentam tendência a aderir às superfícies, metálicas e não metálicas, nos mais diferentes tipos de ambientes. Quando os micro-organismos aderem a um material, estes modificam as condições na interface sólido/solução, intensificando o processo corrosivo. A nova interface material/solução é denominada de interface bioeletroquímica, já que seu comportamento depende tanto das variáveis eletroquímicas (que controlam a corrosão) quanto das biológicas (que condicionam o biofilme) (VIDELA, 2003).

O aço carbono tem sido o material mais empregado mundialmente nos mais variados segmentos industriais, devido ao seu custo relativamente baixo, e suas boas propriedades mecânicas. Contudo, apresenta certas limitações, a principal delas sendo a baixa resistência à corrosão (MAINIER, 2005). Quando o aço carbono é exposto à água, particularmente água do mar, a presença e a atividade dos micro-organismos podem causar corrosão por pite, abertura de

fendas em estruturas metálicas, surgimento de células de aeração diferencial, além da corrosão galvânica (LITTLE & WAGNER, 1997; VIDELA, 2003; VIDELA & HERRERA, 2005; GENTIL, 2007). Logo, a necessidade de se ter *expertises* na área para avaliar como as condições de um ambiente podem interferir na CIM do material metálico e indicar as medidas mais apropriadas para sua prevenção ou controle.

Em várias situações é possível proteger uma superfície metálica que eventualmente venha a sofrer CIM através do emprego de revestimentos. Os revestimentos podem ser aplicados por várias técnicas e processos tais como eletrodeposição, pintura, soldagem ou ainda aspersão térmica.

A aplicação de revestimentos, além de atuar na proteção contra a corrosão, também provê uma maneira econômica de combinar as propriedades do substrato metálico e a do revestimento, para obtenção de um material composto com boas propriedades mecânicas, e resistente à corrosão (CAPRA, 2005). No presente trabalho, um revestimento constituído por tinta à base de óxido de nióbio, foi aplicado ao aço ao carbono AISI 1020, através da técnica de pintura. O óxido de nióbio apresenta-se quimicamente inerte aos agentes corrosivos que provocam corrosões severas, normalmente presentes em refinarias (CARVALHO, 2004). Porém, poucas informações existem sobre a ação do óxido de nióbio como agente antimicrobiano e sua eficácia na aderência, colonização e CIM. Portanto, dentro desta perspectiva, o estudo da biocorrosão do aço carbono revestido com tinta de óxido de nióbio é de suma importância, principalmente em relação à prevenção da corrosão, e pela ocorrência da CIM em superfícies metálicas.

#### **1.2 - OBJETIVO GERAL:**

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar o efeito do óxido de nióbio quando aplicado na superfície de aço carbono AISI 1020, exposto à água do mar, na prevenção à colonização e à CIM.

Para tanto, foram considerados os seguintes objetivos específicos:

 Avaliar o efeito antimicrobiano dos diferentes componentes do revestimento para as populações bacterianas tidas como principais responsáveis pela CIM;

- Monitorar as populações de bactérias na fase planctônica (água do mar) e nos biofilmes ao serem formados sobre os corpos-de-prova revestidos e não -revestidos;
- Avaliar o processo corrosivo de corpos-de-prova, sem e com revestimento através da determinação da perda de massa, taxa de corrosão (obtida a partir de experimentos de perda de massa), densidade de pites e da análise morfológica da superfície do metal;
- Avaliar comparativamente a variação do potencial ao longo dos experimentos eletroquímico e microbiológico para corpos-de-prova, sem e com revestimento, neste último caso, também com defeito.

# **CAPÍTULO 2**

# Revisão Bibliográfica

#### 2.1 – CORROSÃO

O termo corrosão deriva do latim *corrodere*, que significa destruir. Cientificamente, este termo tem sido empregado para designar a destruição total, parcial ou superficial de materiais por ataque eletroquímico, químico ou eletrolítico (MERÇON; GUIMARÃES & MAINIER, 2004).

Segundo Gentil (2007), a corrosão consiste na deterioração de um material por ação química ou eletroquímica do ambiente associada ou não a esforços mecânicos. É um processo espontâneo, que pode incidir tanto sobre materiais metálicos quanto não metálicos (madeira, concreto, mármore, plásticos e cerâmicas) (MERÇON; GUIMARÃES & MAINIER, 2004). Este fenômeno causa a decomposição gradual dos materiais, na maioria das vezes, resultando em danos irreparáveis, tornando necessária a sua substituição, o que gera perdas econômicas (FERREIRA, 2005).

Os ambientes corrosivos são inúmeros, mas a incidência da corrosão em meio aquoso é maior (SCULLY, 1990). Por isso, os problemas com corrosão são freqüentes e ocorrem nas mais variadas atividades, em especial, nas indústrias naval, petrolífera, e petroquímica, que envolvem a circulação de meios aquosos em estruturas de grande porte. E, cerca de 80% dos casos de deterioração por corrosão é de natureza eletroquímica, o que explica a grande influência da eletroquímica no estudo da corrosão (SCULLY, 1990; GENTIL, 2007).

Na natureza, a corrosão eletroquímica é mais freqüente do que a corrosão química, e em alguns casos, mais severa. Para a ocorrência da corrosão eletroquímica é necessária a presença de água, em geral, à temperatura ambiente, enquanto que a corrosão química ocorre na ausência de água e, normalmente, em temperaturas elevadas posto que à temperatura ambiente, a energia não é suficiente para impulsionar a formação de alguns óxidos (MERÇON; GUIMARÃES & MAINIER, 2004).

A corrosão eletroquímica resulta na formação de uma pilha de corrosão (JONES, 1996; FREIRE, 1997). Uma pilha eletroquímica apresenta os seguintes componentes (MERÇON; GUIMARÃES & MAINIER, 2004; GENTIL, 2007): (i) anodo: região onde ocorre a reação de oxidação (corrosão), formando íons metálicos positivos, que migram para o eletrólito; (ii) eletrólito: solução condutora ou condutor iônico, que permite o transporte da corrente elétrica do anodo para o catodo, através de circuito externo ou do próprio material; (iii) cátodo: região onde ocorre a reação de redução, a partir dos íons positivos existentes na solução; e (iv) circuito metálico: ligação metálica entre o anodo e o catodo por onde ocorre o transporte dos elétrons, no sentido anodo-catodo (MAERK, 1992).

As pilhas são células eletroquímicas em que a movimentação de cargas é gerada espontaneamente pela diferença de potencial natural existente entre os dois eletrodos da célula (ânodo e cátodo) (GENTIL, 2007). Logo, para evitar que o processo corrosivo se instale é necessário que haja destruição da pilha, o que pode ser feito através da remoção de um dos componentes (cátodo, eletrólito ou circuito), a exceção do ânodo, que é a estrutura metálica a ser protegida (GENTIL, 2007).

As reações que ocorrem nos processos de corrosão eletroquímica são reações de oxidação e redução, conforme exemplificado para o ferro em meio aquosos (Equações 1 a 6), apresentado por Merçon, Guimarães e Mainier (2004):

Fe
$$Fe^{2+} + 2 e^{-}$$
 (oxidação - reação anódica)(1) $2 H_2O + 2 e^{-} H_2 + 2 OH^{-}$  (redução - reação catódica)(2) $Fe^{2+} + 2 OH^{-} Fe(OH)_2$  (produto de corrosão que se deposita sobre o metal, em uma região  
intermediária entre o ânodo e cátodo)(3)Em baixo teor de oxigênio:  $3 Fe(OH)_2 \longrightarrow Fe_3O_4 + 2H_2O + 3H_2$ (4)Em alto teor de oxigênio:  $2 Fe(OH)_2 + H_2O + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow 2 Fe(OH)_3$ (5)  
 $2 Fe(OH)_3 \longrightarrow Fe_2O_3.H_2O + 2 H_2O$ (6)

No caso da corrosão do ferro, os produtos de corrosão consistirão de  $Fe_3O_4$  (coloração preta) e  $Fe_2O_3.H_2O$  (coloração alaranjada a castanho-avermelhada), além da presença de hidróxidos de ferro.

Em ambiente úmido, a corrosão do ferro é cerca de 100 vezes mais rápida na presença de oxigênio do que na sua ausência. Mas, mesmo em condição de aerobiose, a corrosão é lenta por duas razões: (i) a redução da água (Equação 2) é lenta; e (ii) a formação de camada de hidróxido ferroso (Equação 3), a partir da transferência de elétrons, inibe reações posteriores.

No início do processo corrosivo, a velocidade da corrosão apenas depende da composição do ar ou do líquido onde o material se encontra. Por exemplo, a umidade do ar à beira-mar e seu conteúdo em cloreto de sódio resulta em aceleração do processo eletroquímico. A poluição industrial também é causa de corrosão devido à emissão de dióxido de enxofre que corrói rapidamente o ferro e o zinco (SILVA JR, SANCHES & SASSON, 1997). Porém, à medida que o processo avança se formam os produtos de corrosão (Equações 4 e 6), e o material passa a sofrer corrosão em velocidade que vai depender dessa barreira formada e do metal base.

#### 2.1.1 - Tipos de Corrosão

A corrosão pode ser dividida em dois grupos principais: **corrosão uniforme**, quando ocorre ataque uniforme da superfície do material, causando a sua perda de massa; e **corrosão localizada**, que pode ser denominada como corrosão por pites ou alveolar (GENTIL,2007; VIDELA, 2003). A corrosão por pites se caracteriza pela presença de cavidades, na superfície do metal, em geral, de pequeno diâmetro, mas de profundidade várias vezes maior que este (GENTIL, 2007).

A corrosão localizada pode ser induzida pela formação de depósitos, bióticos ou abióticos, sobre a superfície metálica, originando uma célula de aeração diferencial ou de concentração de oxigênio. Em uma célula desse tipo, a área sob o depósito (área menos oxigenada) atuará como ânodo, enquanto a área descoberta atuará como catodo. Este tipo de corrosão é comum nos setores industriais, em particular, quando há participação de micro-organismos (LITTLE *et al.*, 1995).

Além da corrosão localizada e da uniforme, segundo Gentil (2007), podemos ter outras formas (ou tipos) de corrosão que podem ser apresentadas considerando –se a aparência ou forma de ataque e as diferentes causas da corrosão e seus mecanismos. Deste modo podemos classificar algumas morfologias do processo corrosivo: uniforme, por placas, alveolar, puntiforme, intergranular, filiforme, por esfoliação, grafítica, dezinficação, em torno do cordão de solda e fragilização por hidrogênio. Já a corrosão classificada segundo as causas ou mecanismos se processa por aeração diferencial, eletrolítica associada à solicitação de esforços mecânicos (ou corrosão sob tensão fraturante) em torno de cordão de solda, seletiva (grafítica e dezinficação), empolamento ou fragilização pelo hidrogênio.

#### 2.1.2 – Materiais Metálicos

Anualmente, as indústrias perdem bilhões de dólares por causa da corrosão (COSTERTON & WILSON, 2004; RODRIGUES, 2010). As perdas econômicas podem ser de ordem direta ou indireta. As de ordem direta estão relacionadas a custos relativos à substituição de peças e equipamentos, aplicação e manutenção de métodos de proteção. Já as perdas indireta são em decorrência de paralisações acidentais, perdas ou contaminação de produtos e perda de eficiência (diminuição da transferência de calor em trocadores de calor, entupimento ou perda de carga em tubulações de água). Por isso, as indústrias, em especial, do petróleo têm investido cada vez mais em novos materiais e, principalmente, em definir formas de prevenção ou controle da corrosão.

Existem diversos materiais metálicos que variam quanto às propriedades e preço. Obviamente, quanto mais resistente o material à corrosão maior o seu custo. Dentre os materiais metálicos, os aços carbono, por causa do seu baixo custo e das suas características - alta resistência a impactos, ductibilidade, tenacidade e facilidade de soldagem - têm sido extensivamente empregados (SILVA, 2009).

Os aços carbono comuns são ligas de ferro-carbono que, além do ferro, apresentam carbono (0,008 a 2%) e alguns elementos químicos (manganês [Mn], silício [Si], fósforo [P] e enxofre [S]), em baixas concentrações, cujo somatório corresponde a no máximo 2% da composição total da liga (CARDOSO, 2005; PANOSSIAN, 1993; COLPAERT, 1965). Em geral, a concentração de cada elemento residual no aço carbono é de no máximo 1,65% de Mn, 0,30% de Si, 0,04% de P e 0,05% de S, pois acima destas concentrações passam a ser considerados elementos de liga, exercendo funções especiais no aço (COLPAERT, 1965; PANOSSIAN, 1993). O percentual de elementos residuais, ou impurezas, está relacionado ao mineral de procedência e ao processo de fabricação do aço.

O carbono é o elemento determinante das propriedades mecânicas do aço. Em geral, quanto maior o teor de carbono do aço, maior é sua dureza, porém menor sua ductibilidade. Por isso, os aços podem ser classificados, em relação ao percentual de carbono, em: baixo, médio e alto carbono, e quanto ao percentual de carbono e dureza em: doce e duro, podendo ainda ser subdivididos em extra doce, doce, meio duro e duro. O quadro 1 apresenta a classificação dos aços ao carbono, e respectivas propriedades e aplicações, em função do teor de carbono:

Quadro 1- Classificação, propriedades e aplicações do aço carbono em função do teor de carbono presente na liga.

Teor de carbono	Propriedades	Aplicação
Baixo	moles e fracas, mas de elevadas	Carcaça de automóveis, chapas
(10 ≤ 0,30%)	ductibilidade e tenacidade; são	em tubulações e em
	usináveis e soldáveis	edificações, e latas estanhadas.
Médio	Elevada resistência à abrasão e	Rodas de trens, e engrenagens.
$(0,30 \le C \ge 0,85\%)$	tenacidade	
Alto	Mais duros, menos dúcteis	Ferramentas de corte, lâminas
$(0,85 \le C \ge 1,50\%)$		de serra para metais, molas e
		arames de alta resistência

Fonte: Adaptado de CARDOSO (2005)

Os aços carbono são essencialmente ligas de ferro e carbono que podem ser intencionalmente adicionados elementos com o objetivo de promover mudanças micro-estruturais que, por sua vez, levam a mudanças nas propriedades físicas e mecânicas, permitindo ao material desempenhar funções específicas. A adição de elementos de liga (níquel, cromo, manganês, tungstênio, molibdênio, vanádio, silício, cobalto e alumínio) confere características especiais, tais como resistência à tração e à corrosão, elasticidade, ductibilidade, dureza, entre outras, ou apenas facilita o processo de fabrico (usinabilidade). Por conseguinte, os então denominados aços-liga ou aços especiais são melhores do que os aços carbono. De acordo com a norma NBR 6215, os aços especiais podem possuir os seguintes elementos de liga em teores máximos: Cu (0,35%), Cr (0,20%), Ni (0,25%), Al (0,10%), B (0,0030%).

Os aços carbono e aços especiais seguem a mesma classificação, dividindo-se também em graus, tipos e classes. Os sistemas de classificação também são os mesmos, destacando-se os sistemas AISI, SAE, ASTM e UNS. Na prática, o sistema americano – AISI (*American Iron and Steel Institute*) - é o mais adotado para a classificação dos aços. Neste caso, o aço carbono é seguido de AISI e por quatro algarismos. Os dois primeiros algarismos representam as porcentagens aproximadas dos elementos de liga mais significativos, enquanto os dois algarismos finais representam a quantidade de carbono. Por exemplo, o aço carbono AISI 1020, extensivamente usado em instalações industriais e portuárias, pertence ao grupo dos aços comuns ao carbono, contendo 0,2% de carbono, ou seja, se classifica como baixo carbono.

De acordo com os dados da literatura, os aços de baixa carbono, devido a sua composição, se oxidam com extrema facilidade, apresentando baixa resistência à corrosão (PANOSSIAN, 1993; CARDOSO, 2005; COSTA, 2006). Mas, apesar disso, esta liga metálica é ainda hoje o material mais comumente utilizado na construção de adutoras, oleodutos, gasodutos e minerodutos. A corrosão é ainda mais intensa quando o material é exposto à água do mar, uma vez que a presença do íon cloreto potencializa o efeito corrosivo. O cloreto de sódio, por ser um eletrólito forte, eleva a condutividade da solução eletrolítica, fazendo com que seja formada uma complexa camada composta de óxidos e hidróxidos de ferro. Estes produtos de corrosão são volumosos, e pouco aderentes, o que permite que o fluxo aquoso os remova com facilidade da superfície, deixando o metal novamente exposto e, assim, susceptível ao processo corrosivo. Por outro lado, em águas com baixa condutividade há formação de produtos de corrosão compactos e aderentes à superfície, o que pode resultar em efeito protetor. A taxa de corrosão referenciada para aço carbono em água do mar, meio de alta condutividade, é 130 µm/ano (www.cimm.com.br), o que segundo a norma NACE RP-07-75 corresponde à taxa de corrosão. Em geral, esta taxa é linear por 8 anos. Depois deste período a taxa de corrosão decresce a um patamar mais baixo e constante.

Considerando que os tubos de aço carbono correspondem hoje a cerca de 90% das tubulações industriais, é primordial investir em métodos de controle ou prevenção da corrosão, em particular quando há presença de micro-organismos em número expressivo (> 10<sup>4</sup> células/mL), cujo metabolismo possa concorrer para intensificar o processo corrosivo. De acordo com Videla (2002), a concentração e a atividade dos micro-organismos presentes podem interferir intensamente na forma de prevenção da corrosão, inviabilizando economicamente a sua aplicação ou tornando-a ineficiente. A seguir faremos uma exposição sobre a corrosão induzida microbiologicamente.

#### 2.2 - CORROSÃO INDUZIDA MICROBIOLOGICAMENTE

Conceitua-se como Corrosão Induzida Microbiologicamente (CIM), quando a deterioração do material é mediada pela atividade de micro-organismos (VIDELA, 2003). Por exemplo, os micro-organismos podem alterar a concentração de oxigênio dissolvido, o valor do pH e a concentração de compostos orgânicos e inorgânicos do ambiente em que se encontram (NATISHAN *et al.*, 1999).

Segundo Rocha (2006), os micro-organismos são ubíquos e capazes de rapidamente colonizar os mais diversos materiais, desde que haja um mínimo de água livre e de nutrientes necessários ao seu desenvolvimento. Assim sendo, pode-se evidenciar a CIM em ambientes aquosos (água do mar, de rios, e de sistemas de resfriamento), em solos, sedimentos, regiões pantanosas, e mesmo em solventes orgânicos e combustíveis (ORNEK *et al.*, 2002; GENTIL, 2007). A CIM se caracteriza pela rapidez de sua implantação de forma quase que imperceptível.

Os micro-organismos são capazes de iniciar, facilitar ou acelerar o processo corrosivo, embora, na maioria dos casos, sem alterar o fenômeno eletroquímico (NAGIUB & MANSFELD, 2002; ORNEK *et al.*, 2002; VIDELA & HERRERA, 2005). Logo, evidencia-se um processo anódico de dissolução do material metálico e um processo catódico complementar (VIDELA, 1996).

A CIM está diretamente relacionada com a aderência de micro-organismos na superfície dos materiais e a sua posterior colonização, levando à formação de biofilmes (DAVEY & O'TOLLE, 2000).

#### 2.3 – FORMAÇÃO DE BIOFILME

Os biofilmes são estruturas heterogêneas e complexas que se formam a partir da colonização microbiana nas superfícies sólidas, vivas ou inertes, tanto em ambientes naturais quanto industriais (CHARACKLIS & MARSHALL, 1990; BEECH, 2004). De acordo com Boari (2008), os biofilmes microbianos ocorrem naturalmente nos mais variados tipos de ambientes, sejam eles bióticos como tecidos vegetais e animais, ou abióticos, como rochas, metais e polímeros diversos.

Em geral, quando os materiais são imersos em ambientes com a presença de água, os micro-organismos autóctones encontram condições nutricionais que favorecem seu metabolismo, resultando em crescimento e reprodução, bem como na síntese e excreção de bioprodutos, tais como substâncias poliméricas extracelulares (EPS – *Extracellular Polymeric Substance*) (FANG, XU & CHAN, 2002; GEORGE, MARCHAL & NEWMAN, 2003). Por sua vez, o EPS favorece a adsorção de nutrientes e de outras células microbianas da fase planctônica (no estado livre). Assim sendo, os biofilmes são formados por comunidades microbianas, de diferentes graus de complexidade, imobilizadas em uma matriz polimérica de origem microbiana (EPS), com canais intersticiais, por onde há a passagem do fluido circulante (LEWANDOWSKY, STOODLEY & ROE, 1995; CHAN *et al.*, 2002). Em suma, os biofilmes são constituídos de materiais orgânicos (carboidratos, proteínas, lipídeos, fosfolipídeos, vitaminas, entre outros) e inorgânicos (sais minerais), gerados pelo metabolismo celular ou absorvidos do fluido pelo EPS, e principalmente água, que representa mais 95% da sua composição (PARIZZI *et al.*, 2004; BEER & STOODLEY, 2006; MACEDO, 2006).

A formação do biofilme é uma estratégia de sobrevivência de micro-organismos em ambientes onde as condições são adversas, o que resulta em alterações fenotípicas diversas entre as células planctônicas (vida livre) e as na forma séssil (aderidas). Por exemplo, as mesmas espécies microbianas na fase séssil normalmente são mais resistentes a agentes antimicrobianos do que no estado planctônico (MOSTELLER & BISHOP, 1993; CABEÇA, 2006). Isto porque, nos biofilmes, formam-se micro – habitats, que oferecem proteção às células neles inseridas contra as condições estressantes do meio ambiente.

Dentre os vários fatores relacionados à formação de biofilmes, os principais são: as características físico-químicas do material e a expressão de fatores de virulência pelos microorganismos, tais como produção de cápsula, fimbrias e síntese de adesinas fimbriais e não fimbriais (ZOTTOLA & SASAHARA, 1994).

Segundo Videla e Herrera (2005), a formação de biofilmes sobre metais é um processo acumulativo, dinâmico e geralmente não uniforme, o que concorre para que se instale o processo corrosivo. Ademais, a atividade microbiana resulta na produção de enzimas, EPS, ácidos orgânicos e inorgânicos, que podem afetar sobremodo as reações cátodicas e/ou ânodicas, intensificando a velocidade dos processos eletroquímicos na interface biofilme/metal. Por outro

lado, o recobrimento da superfície do metal pelo biofilme pode resultar em proteção contra agressões químicas e físicas do ambiente (PARIZZI *et al.*, 2004; MACEDO, 2006).

As etapas de formação do biofilme envolvem processos complexos e pode ser resumida conforme a figura 1:



Figura 1: Esquema de formação de biofilme (GHIGO, 2003).

Dentre as principais fases no desenvolvimento de um biofilme destacam-se (DREESZEN, 2003; JANNING *et al.*, 2005):

- Formação de camada condicionante ao entrar em contato com água, tem início a deposição de matérias orgânicas e inorgânicas sobre a superfície do material, formando uma fina película de 20 a 80 µm de espessura;
- Adesão de bactérias "colonizadoras primárias" algumas bactérias planctônicas, através de diferentes modos (processo difuso, transporte convectivo e movimento ativo), aderem ao sólido, entranhando na *camada limítrofe*, que é a zona inativa da superfície onde a velocidade de vazão tende a zero;
- Formação de EPS (glicocálix) as bactérias do biofilme sintetizam e excretam EPS, em quantidades correspondentes a 70-90% da massa seca do biofilme (FLEMMING, 1996).
   Além de favorecer a união dos micro-organismos sésseis entre si, o EPS é responsável por

consolidar a fixação do biofilme à superfície do sólido. Também serve como fonte nutricional no caso de condição de estarvação, ou seja, de baixa disponibilidade de nutrientes. Segundo Morton e colaboradores (1998), o EPS é capaz de concentrar enzimas digestivas produzidas pelas células microbianas, aumentando sua eficiência metabólica (MORTON *et al.*, 1998). Tem-se ainda que o material polimérico, por conta da presença de grupos funcionais negativos, favorece a reações com íons metálicos, contribuindo tanto para o metabolismo microbiano quanto para a dissolução do metal de base onde o biofilme foi formado, intensificando o processo corrosivo (COSTERTON *et al.*, 1995). O EPS ainda pode ter ação protetora para os micro-organismos sésseis contra diferentes produtos (biocidas, inibidores de corrosão, etc.) e a metais que poderiam inativá-los. Segundo Stewart e Costerton (2001), a matriz polimérica pode aumentar em até 1000 vezes a resistência dos micro-organismos aos biocidas quando na fase séssil em comparação ao estado planctônico;

- Adesão de "colonizadores secundários" são micro-organismos que metabolizam os produtos gerados pelos colonizadores primários, ou ainda excretam substâncias que podem ser assimiladas pelos outros propiciando a manutenção da viabilidade celular no biofilme;
- Biofilme maduro quando a comunidade no biofilme atinge um estágio metabolicamente cooperativo e complexo, com participação de uma única, ou mais comumente, de espécies diversas, formam micronichos de características diferenciadas. O biofilme maduro atua como um consórcio funcional de células, com padrões de crescimento alterados, cooperação fisiológica e eficiência metabólica. Nesta fase, as células localizadas em regiões diferentes do biofilme exibem diferentes padrões de expressão genética (IST, 2008);
- Desprendimento do biofilme A células no biofilme podem se desprender pela própria reprodução celular, ou pode haver desprendimento das camadas mais externas devido a fenômenos de erosão superficial ou descolamento. Uma vez na fase planctônica, as células podem vir a recolonizar a superfície metálica.

O crescimento de qualquer biofilme é limitado pela disponibilidade de nutrientes no fluido circulante, mas principalmente pela condição nutricional no interior do biofilme (IST, 2008). Além disso, fatores como pH, difusão de oxigênio, e osmolaridade controlam a maturação

do biofilme. A velocidade do fluxo aquoso também está diretamente relacionada ao crescimento do biofilme, além de interferir na sua formação e modificar consideravelmente os parâmetros eletroquímicos (DE FRANÇA & CRAVO JR, 2000).

A espessura e a complexidade do biofilme criam um gradiente de aeração, que gera condições adequadas ao desenvolvimento de micro-organismos quer aeróbios (na parte mais externa) quer anaeróbios (em regiões mais internas do biofilme) (COSTERTON *et al.*, 1995).

#### 2.4 – MICRO-ORGANISMOS PROMOTORES DE CIM

Em biofilmes são encontradas espécies dos diferentes grupos microbianos, sendo as bactérias consideradas as principais responsáveis pela CIM, dada a sua ubiquidade, maior velocidade de geração, diferenciados tipos de metabolismo e metabólitos gerados. Segundo Batista (2001), os micro-organismos considerados principais responsáveis pela corrosão podem ser distinguidos de diferentes formas, sendo uma delas relacionada ao metabolismo. Os diferentes grupos microbianos atuam na CIM pela: (i) produção de ácidos, estimulando a reação anódica; (ii) produção de H<sub>2</sub>S ou de outros agentes oxidantes, favorecendo a reação catódica; ou (iii) degradação de revestimentos de superfícies metálicas, usados como método de prevenção à corrosão (VIDELA, 2003).

#### 2.4.1. Bactérias redutoras de sulfatos (BRS)

Este grupo compreende espécies anaeróbias dos domínios Eubacteria e Archaebacteria, morfológica e fisiologicamente distintas, mas que em comum apresentam a capacidade de realizar um processo de respiração anaeróbica, denominado redução desassimilativa do sulfato, onde o sulfato é o aceptor final de elétrons, com liberação de gás carbônico e de sulfetos (gás sulfídrico, sulfetos e bissulfetos metálicos) em alta concentração (JENNEMAN & KNAPP, 1986; BARTON, 2009; GONZÁLEZ, SANTANA & MIRZA-ROSCA, 1998; CASTRO *et al.*, 2000). O ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S) é um agente altamente reativo, tóxico e corrosivo (KUANG *et al.*, 2007; MUYER & STAMS, 2008), enquanto o sulfeto de ferro (FeS) é reconhecidamente acelerador da formação de célula galvânica no aço, sendo a massa depositada sobre o metal diretamente proporcional à taxa de corrosão (JACK, WORTHINGHAM & FERRIS, 1992).

Neste grupo microbiano encontram-se as espécies dos gêneros *Desulfovibrio* e *Desulfomaculum* (RABUS *et al.*, 2006), as mais estudadas, e outros vários gêneros (*Desulfobacter*, *Desulfonema*, *Desufobulbus*, *Desulfuromonas*, *Desulfosarcina*, *Desulfomicrobium*, *Thermodesulfobacterium*), que foram isolados de ambientes terrestres e aquáticos, naturais e industriais (MATIAS *et al.*, 2005). Particularmente estas bactérias estão presentes em ambientes marinhos devido à presença de sulfato na água do mar, em concentração de cerca 3.000 ppm (RAJASEKAR *et al.*, 2005).

Até o momento, foram distinguidos quatro subgrupos através da análise das seqüências de 16S rRNA: BRS mesofílicas Gram-negativas; BRS Gram-positivas formadoras de esporos; BRS termofílicas ; e BRS arqueas termofílicas (CASTRO *et al.*, 2000).

A morfologia das diferentes espécies de BRS é bastante diversificada, encontrando-se formas esféricas, ovais, espirais, de bastonetes, de víbrios e filamentosas, com diâmetro variando de 0,4 a 3,0  $\mu$ m. Os membros deste grupo se caracterizam por serem anaeróbios estritos, embora algumas possam sobreviver na presença de O<sub>2</sub> por dias (BARTON, 1995). Algumas espécies são halofílicas, com tolerância a salinidade superior a 18% (FAUQUE, 2005; DUNSMORE & EVANS, 2005), sendo outras barofílicas, crescendo sob pressões elevadas, de até 1.000 atm (BARTON, 1995).

A maioria das BRS é classificada como mesófila, com ótimo crescimento entre 25 e 40°C (MUYZER & STAMS, 2008; TANG, BASKARAN & NEMATI, 2009), embora já tenham sido isoladas algumas espécies capazes de crescer à -5°C (psicrofílicas) e outras em temperaturas superiores a 75°C (hipertermofílicas). Com relação aos valores de pH, geralmente crescem em faixa de 7,2 a 7,8 (BARTON, 1995; HAMILTON, 1995; VIDELA, 1996), entretanto, encontramse espécies que toleram ambientes altamente ácidos (pH 4,0) e alcalinos (pH 9,5). Na literatura, já foram relatadas espécies capazes de se desenvolver em valores de pH na faixa de 2,9 a 10,0), embora com baixa atividade metabólica (TANG, BASKARAN & NEMATI, 2009).

Os membros deste grupo são heterotróficos, capazes de metabolizar uma diversidade de fontes de carbono, tais como açúcares (mono e dissacarídeos), aminoácidos, compostos de um único átomo de carbono (metanol, formiato, monóxido de carbono, metanotiol), alcoóis (propanol, butanol, glicerol, furfural), aldeídos (acetaldeído), ácidos graxos de cadeia curta

(acetato) e cadeia longa, hidrocarbonetos alifáticos (alcanos e alcenos de cadeia curta e longa) e hidrocarbonetos aromáticos, inclusive alguns reconhecidamente recalcitrantes (benzoato, fenol, tolueno, etilbenzeno) (MUYZER & STAMS, 2008; TANG, BASKARAN & NEMATI, 2009). Inclusive, na ausência da fonte de carbono, algumas espécies são capazes de utilizar H<sub>2</sub> pela ação da enzima hidrogenase (POSTGATE, 1984; BARTON & TOMEI, 1995; KERESZTES, FELHOSI & KÁLMÁN, 2001; LIAMLEAM & ANNACHHATRE, 2007; KNIEMEYER *et al.*, 2007).

Todas essas características demonstram a habilidade desse grupo de micro-organismos de se adaptar aos mais variados tipos de ambientes, inclusive sendo capaz de crescer em condições extremas (POSTGATE, 1984; BARTON & TOMEI 1995).

#### 2.4.2 – Bactérias precipitantes de ferro

Esse grupo, também conhecido como ferrobactérias, compreende as bactérias redutoras e oxidantes do ferro, micro-organismos aeróbicos que obtêm a energia necessária ao seu metabolismo a partir da oxidação ou redução do ferro (VIDELA, 2003).

As bactérias oxidantes de ferro, normalmente associadas ao processo de corrosão, são as espécies *Acidithiobacillus ferrooxidans, Gallionella ferruginea e Leptospirillum ferrooxidans,* e os gêneros *Crenothrix, Leptothrix, Sideromonas* e *Siderocaspa* (EDWARDS *et al.*, 2001; GENTIL, 2007; MADIGAN *et al.*, 2010). Exceto pelas espécies dos gêneros *Leptothrix* e *Sphaerotillus* que são capazes de crescer em ambientes com baixa concentração de oxigênio (HOLT, 1994), estas bactérias são aeróbias e crescem autotroficamente obtendo energia a partir da oxidação do íon ferroso a férrico, o que resulta na formação de Fe(OH)<sub>3</sub> ou Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> .H<sub>2</sub>O, compostos insolúveis, que ao depositar sobre as superfícies metálicas, podem levar a ocorrência de corrosão por aeração diferencial (STAROSVETSKY *et al.*, 2001; GENTIL, 2007). As espécies do gênero *Crenothrix* também promovem a oxidação do íon manganoso a mangânico, cujos hidróxidos são insolúveis e, portanto, favorecem o processo corrosivo. Por isso, o envolvimento das ferrobactérias na CIM.

Estas bactérias se desenvolvem em temperaturas na faixa de 0 a 40°C e em valores de pH entre 5,5 e 8,2. Para *A. ferrooxidans e Leptospirillum ferrooxidans*, o valor ótimo de pH para

crescimento se situa entre 2 e 3, sendo que algumas estirpes apresentam crescimento mesmo em valores de pH abaixo de 1.

Existe também uma variedade de micro-organismos que utilizam o íon férrico como aceptor final de elétrons para a geração de energia a partir da oxidação de distintos compostos químicos, inclusive compostos aromáticos, compreendendo fungos (OTTOW e VON KLOPOTEK, 1969) e bactérias, como as do gênero *Pseudomonas, Bacillus, Bacteróides, Geobacter, Serratia, Clostridium, Rhodoferax, Desulffitobacterium, Sulfolobus, Acicithiobacillus, Acidiphilium, Sulfobacillus, Trichoccoccus, Fulvimonas, Shewanella putrefasciens e Desulfovibrio (NEALSON, 1983; JONES, DAVISON & GARDENER, 1984). Normalmente, a redução dos íons férricos se dá na ausência de oxigênio, embora também tenha sido constatada em condição de aerobiose.* 

#### 2.4.3 - Bactérias oxidantes de enxofre

Este grupo compreende vários gêneros de metabolismo quimiolitotrófico, que em comum obtêm energia a partir da oxidação de compostos reduzidos de enxofre, e, em alguns casos enxofre elementar, com geração de sulfato (TANG, BASKARAN & NEMATI, 2009). O metabolismo litotrófico é mais amplamente distribuído entre os grupos filogenéticos dos domínios Eubacteria e Archaeabacteria que as formas de metabolismo fototrófico e organotrófico (MADIGAN *et al*, 2010).

As bactérias oxidantes de enxofre, com base no metabolismo, podem ser divididas em: (i) quimiolitotróficas obrigatórias (*Acidithiobacillus* spp., *Sulfolobus* sp. e *Thiomicrospira*); (ii) quimiolitotróficas facultativas (podem crescer quimiolitotroficamente, heterotroficamente ou mixotroficamente) compreendendo algumas espécies de *Acidithiobacillus* e de *Beggiatoa*, e as espécies *Thiosphaera pantotropha* e *Paracoccus denitrficans;* (iii) quimiolitoheterotróficas (algumas poucas espécies de *Acidithiobacillus* e de *Beggiatoa*); (iv) quimioorganoheterotróficos (*Thiobacterium, Thiothrix*, e algumas espécies de *Beggiatoa;* (iv) fototróficas (*Chlorobium* e *Pelodityon*) (TANG, BASKARAN e NEMATI, 2009).

As bactérias oxidantes de enxofre compreendem espécies que vivem em valores de pH neutro ou ácido (acidófilas) (MADIGAN *et al*, 2010). Dentre as bactérias acidófilas oxidantes de

enxofre, se destaca o gênero *Acidithiobacillus*, antigamente denominado de *Thiobacillus* (KELLY & WOOD, 2000). As espécies deste gênero se apresentam como bastonetes Gramnegativos, sendo a maioria aeróbia (VIDELA & HERRERA, 2005). Em comum, as espécies de *Acidithiobacillus* desenvolvem metabolismo quimioautotrófico, utilizando o dióxido de carbono como única fonte de carbono, e obtendo a energia a partir da oxidação de sulfeto (S<sup>2-</sup>), sulfito (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), tiossulfato ( $S_2O_3^{2-}$ ) e diversos politionatos, como tetrationato ( $S_4O_6^{2-}$ ). Em geral, a metabolização de sulfetos solúveis ocorre somente para concentrações de H<sub>2</sub>S livre abaixo de 200 ppm (GENTIL, 2007). Em decorrência da atividade metabólica há geração de sulfato, que em meio aquoso, resulta na formação de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), um agente corrosivo. Por isso, a atividade destas bactérias no ambiente pode ser muito prejudicial para estruturas metálicas, e inclusive concreto e mármore (WARSCHEID & BRAAMS, 2000).

A oxidação de enxofre envolve outros gêneros, a maioria aeróbia, morfologicamente e fisiologicamente diferenciados. Distintamente, *Thiomicrospira denitrificans* pode crescer em anaerobiose e em baixas concentrações de O<sub>2</sub>; *Acidithiobacillus denitrificans, Thiosphaera pantotropha, A. versutus* e *Paracoccus* são facultativas, porém as duas últimas podem perder a capacidade de oxidar sulfeto quando cultivadas em anaerobiose. Algumas espécies (*Thioploca spp., Acidithiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospora denitrificans*) realizam a oxidação anóxica do sulfeto em associação à redução de nitrato, e algumas, como por exemplo, *Acidithiobacillus thioparus*, a partir da redução do nitrato a nitrito.

#### 2.4.4 - Micro-organismos produtores de ácidos

Além do ácido sulfúrico produzido pelas bactérias oxidantes de enxofre, pode haver geração de outros ácidos, inorgânicos e orgânicos, por via microbiana. Exemplos de ácidos inorgânicos são o ácido nítrico (*Nitrobacter, Pseudomonas*), ácido nitroso (*Nitrosomonas*) e ácido sulfídrico (BRS, *Clostridium*).

A geração de ácidos orgânicos como produtos finais do metabolismo se deve a atividade de algumas bactérias quimioheterotróficas e fungos. Em geral, estes micro-organismos apresentam um sistema enzimático complexo, o que permite que utilizem os mais diversos tipos de substâncias químicas, desde moléculas simples até poliméricas. Como resultado do metabolismo microbiano, podem ser produzidos diferentes ácidos de cadeias curtas, como ácido fórmico, acético, lático, propiônico e butírico.

Os fungos também são reconhecidamente produtores de ácidos orgânicos, particularmente as espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Em trabalho realizado por Little e colaboradores (2001) foi comprovada a efetiva participação destes fungos filamentosos na biocorrosão de aço carbono pela ação dos ácidos e dióxido de carbono por eles gerados. Tem-se ainda o relato de Palermo e colaboradores (1997) sobre a desmineralização de rochas e concretos pela atividade metabólica de *Aspergillus glaucus*.

As algas, que compreendem um grupo de organismos eucariontes unicelulares ou pluricelulares que contêm clorofila e realizam fotossíntese (MADIGAN, MARTINKO & PARKER, 2006), similarmente aos outros grupos microbianos acima mencionados, apresentam a capacidade de produzir ácidos orgânicos com ação corrosiva. Além disso, excretam compostos que podem servir de nutrientes para outros micro-organismos presentes nos biofilmes, favorecendo seu crescimento e, por conseguinte, intensificando a CIM. Sodré (1996) cita as espécies *Nostoc parmeloides* e Anabaena *sphaerica* como causadoras da corrosão de aço carbono e de aço inoxidável. No entanto, pouca atenção é dada aos fungos e algas uma vez que as bactérias são predominantes nos biofilmes, devido ao crescimento mais rápido.

Os ácidos podem causar a dissolução dos óxidos metálicos depositados sobre a superfície metálica, que em alguns casos pode favorecer a sua passivação, acelerando a reação na área anódica. Além disso, os ácidos podem atacar revestimentos, utilizados para proteção das superfícies, concorrendo para a instalação do processo corrosivo.

No caso dos compostos orgânicos, além da ação corrosiva, podem servir de fonte de carbono para as BRS, potencializando a CIM (BOGAN *et al.*, 2004). Little e colaboradores (1995) mostraram que a atividade de bactérias produtoras de ácido acético acelerou a corrosão de aço inoxidável catodicamente protegido.
#### 2.4.5 – Bactérias produtoras de EPS

Diferentes espécies de bactérias apresentam a capacidade de sintetizar e excretar material polimérico, o que lhes permitir colonizar as superfícies. Dentre os micro-organismos já mencionados, pode-se citar, como exemplo as espécies de BRS e de *Acidithiobacillus* (BEECH *et al.*, 2004; KINZLER *et al.*, 2003; BOGAN *et al.*, 2004).

A formação de biofilmes e, consequentemente, a CIM são mais rápidas e mais intensas, quando há envolvimento de micro-organismos que sejam efetivamente produtores de EPS. Isto porque, quanto maior a quantidade de material polimérico no biofilme, maior será a probabilidade da adesão de novas células microbianas, maior será a proteção das células aderidas contra os efeitos tóxicos dos íons metálicos e de agentes antimicrobianos, e principalmente, mais rapidamente ocorrerá à atividade das BRS, reconhecidamente os micro-organismos principais responsáveis pela CIM (TREVORS & COTTER, 1990).

As espécies do gênero *Pseudomonas* são descritas como colonizadores primários, posto que em comparação com outras bactérias, são potencialmente produtoras de EPS. Vários trabalhos já comprovaram que a colonização de materiais por *Pseudomonas* spp, bactérias quimioheterotróficas aeróbias ou facultativas, cria as condições nutricionais (produção de ácidos e  $H_2$ ) e físico-químicas (redução do potencial redox) para a atividade metabólica das BRS no interior do biofilme (BEECH & GAYLARDE, 1999; BAUMGARTNER *et al.*, 2006).

Na base de um biofilme maduro, devido à intensa atividade das células aeróbias na parte superior do biofilme e à presença da matriz polimérica (EPS), a qual atua como uma barreira à difusão de oxigênio, se estabelece uma zona de anaerobiose. A concentração de oxigênio dissolvido na base de um biofilme de apenas 180 µm de espessura pode ser zero (VIDELA & HERRERA, 2005). Portanto, como enfatizado por Videla (2003), as bactérias produtoras de EPS podem ser consideradas precursoras da CIM.

#### 2.5 – MECANISMOS DA CIM

Vários fatores contribuem para o desenvolvimento da corrosão, sendo as características do ambiente consideradas as mais importantes, principalmente se nele houver a presença de microorganismos (GENTIL, 2007). Outros fatores que afetam a corrosão de metais em água são: concentrações de gases dissolvidos e de sais minerais em solução, tipo de material e as condições operacionais do sistema (pH, temperatura e velocidade da água) (FONTANA, 1978; BOFFARDI, 1992; HAMILTON, 1995; VIDELA & HERRERA, 2005; GENTIL, 2007).

Como anteriormente mencionado, a atividade dos micro-organismos intervém tanto no início como na velocidade do processo corrosivo (BATISTA, 2001). Assim sendo, quanto maior for a densidade da população microbiana na fase planctônica, maior será a probabilidade de haver contato dos micro-organismos com a superfície do material e, portanto, mais rápida e intensa será a sua colonização e, consequentemente, mais severa a CIM (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 1990). No entanto, alguns autores evidenciaram a colonização de superfícies de aço inoxidável, mesmo quando imerso em água contendo baixa concentração de micro-organismos planctônicos (10<sup>2</sup> células viáveis /mL) (JAIN, 1995; PERCIVAL, 1998;).

A seguir segue uma abordagem sucinta dos diferentes mecanismos de CIM decorrentes da ativa participação de micro-organismos sésseis.

#### 2.5.1 - Formação de células de aeração diferencial

A adesão dos micro-organismos à superfície dos materiais ocorre de forma aleatória, o que resulta em uma colonização heterogênea. A distribuição não uniforme do biofilme sobre as superfícies permite a formação de regiões menos oxigenadas (abaixo do depósito biótico) e mais oxigenadas (na área descoberta), levando ao desenvolvimento de áreas anódicas e catódicas separadas (GENTIL, 2007). Deste modo tem origem uma célula de aeração diferencial ou de concentração de oxigênio, que resulta em dissolução generalizada do material metálico (CHARACKLIS & MARSHALL, 1990; CHEN *et al.*, 1994).

Em uma célula de aeração diferencial, a corrosão por pite é bastante comum nos setores industriais com envolvimento de micro-organismos, o que merece especial atenção (VIDELA,

2003). Isto se explica pela dificuldade de se detectar a presença da corrosão por pites sobre uma superfície metálica.

#### 2.5.2 - Produção de metabólitos corrosivos

Os ácidos orgânicos e inorgânicos, gerados pelo metabolismo microbiano, ao entrarem em contato com superfícies metálicas, podem causar a sua corrosão quer diretamente ou quer pela destruição da película de proteção (revestimento) (ANGELL, 1999). Além disso, como já salientado, a presença de ácidos orgânicos em biofilme favorece a atividade das BRS, que ao gerar ácido sulfídrico resulta na corrosão por pites (VIDELA, 2002).

#### 2.5.3 - Consumo de inibidores de corrosão

Algumas espécies de bactérias e de fungos filamentosos apresentam a capacidade de consumir as substâncias empregadas como agentes inibidores de corrosão. Logo, os materiais metálicos não são mais protegidos e ainda há aumento da densidade microbiana. Chen e colaboradores (1994) determinaram a corrosão com a presença de pites do alumínio, quando nitrato de amônio foi empregado como inibidor de corrosão. Neste caso, os pites foram originados pela ação do nitrito resultante do consumo microbiano de nitrato como aceptor de elétrons em condição anaeróbica.

#### 2.5.4 - Despolarização catódica

Alguns micro-organismos, dentre eles as BRS hidrogenase positiva, ao consumir o hidrogênio molecular adsorvido à superfície do metal na região catódica, concorrem para o avanço do ataque do metal (VON WOLZOGEN KÜHR & VAN DER VLUGT, 1961; CHEN *et al.*, 1994). Na Figura 2 está representada a polarização de um metal, pelo hidrogênio gerado através da redução da água. O recobrimento total da região catódica pelo hidrogênio impede que haja consumo de elétrons e, conseqüentemente, a continuidade do processo corrosivo. Entretanto,

o consumo microbiano do hidrogênio, fenômeno denominado por "Despolarização Catódica", expõe novamente o metal a ação dos agentes corrosivos.



Figura 2: Representação da polarização e despolarização na região catódica

#### 2.5.5 – Destruição/remoção de revestimentos protetores

O aço carbono, conforme citado no item 2.1.2, é um material de baixa resistência à corrosão. Por isso, para que possa ser utilizado, muitas vezes é necessária a adoção de alguma técnica de proteção. Uma alternativa considerada em várias aplicações, por exemplo, na proteção de dutos, é o recobrimento externo do material metálico com revestimentos.

Porém, algumas espécies de bactérias e fungos filamentosos apresentam a capacidade de degradar os compostos constituintes do revestimento através da excreção de enzimas hidrolíticas (CHEN *et al.*, 1994). A área descoberta pode então vir a sofrer o ataque de agentes corrosivos. Os revestimentos também podem ser atacados por ácidos, orgânicos ou inorgânicos, formados pelo metabolismo microbiano. Outra possibilidade ainda é a ruptura do revestimento pela difusão de gases gerados por células presentes nos biofilmes a eles aderidos.

## 2.6 - TÉCNICAS EMPREGADAS PARA PREVENÇÃO/CONTROLE DA CIM

Existem várias técnicas que podem ser empregadas na prevenção ou no controle da CIM. A aplicação de qualquer delas, mesmo que em combinação, não garante a proteção segura de materiais por tempo indeterminado. Portanto, a escolha da técnica deve considerar a eficiência pretendida e os gastos correspondentes.

Dentre as técnicas usualmente mais adotadas, têm-se a aplicação de revestimentos, proteção catódica, biocidas, limpeza mecânica e limpeza química (VIDELA, 2002; GENTIL, 2007; NUNES, 2007; GALVÃO, 2008; RODRIGUES, 2010).

#### 2.6.1 - Revestimentos

As camadas protetoras constituem uma importante forma de prevenção contra a corrosão de superfícies metálicas (NUNES & LOBO, 1998; SANTANA, PRASAD & SANTANA, 2003). A aplicação de revestimentos sobre superfícies tem como finalidade criar uma barreira entre o metal e o meio corrosivo.

Existem diferentes materiais que devem ser escolhidos de acordo com critérios que devem levar em consideração fundamentalmente custo, natureza do material a ser recoberto e durabilidade. O tempo de proteção de um dado revestimento depende da sua natureza química, das forças de coesão e adesão, da sua espessura e da sua permeabilidade à passagem do eletrólito. A durabilidade do revestimento também vai depender do tipo de mecanismo de proteção que ele exerce. Assim, se a proteção é somente por barreira, em caso da ocorrência de falhas, quer por recobrimento não uniformemente de toda a superfície, quer originadas por procedimentos operacionais durante a instalação, por menor que sejam, podem levar as partes então expostas ao eletrólito a sofrer com a CIM. Por isso, normalmente, os revestimentos são utilizados em conjunto com outras técnicas de prevenção e controle (SILVA, 2009).

Os principais tipos de revestimentos empregados para prevenção e/ou controle da corrosão são:

- Revestimentos metálicos;
- Revestimentos não-metálicos inorgânicos;
- Revestimentos não-metálicos orgânicos.

#### 2.6.1.1 - Revestimentos metálicos

Os revestimentos metálicos têm grande importância no setor industrial, pelo eficiente potencial de proteção à corrosão que possuem. Conforme Gentil (2007), os metais empregados em revestimentos anticorrosivos podem ter ação protetora em função de:

- Formação de películas protetoras de óxido, hidróxido ou outros compostos, pela reação com os oxidantes do meio corrosivo (caso do alumínio, cromo, níquel e zinco);
- Os metais usados nos revestimentos apresentarem valores elevados de sobretensão ou sobrevoltagem, sendo assim, mais resistentes ao ataque ácido em meios não-aerados (caso do estanho, chumbo, zinco, e cádmio).

#### 2.6.1.2 - Revestimentos não-metálicos inorgânicos

Neste caso é feita a aplicação de uma película não-metálica inorgânica entre o meio corrosivo e o metal que se quer proteger. Como exemplos têm-se os vidros em tubulações (devido à reconhecida resistência à ambientes corrosivos); porcelanas e cimentos em tanques e tubulações para transportes de água salgada; e óxidos (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, BeO, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, etc), carbetos (TiC, B<sub>4</sub>C, WC, e outros), nitretos (ZrB<sub>2</sub> e TiB<sub>2</sub>), e silicietos (NbSi<sub>2</sub>, WSi<sub>2</sub> e MoSi<sub>2</sub>) usados como revestimentos resistentes a altas temperaturas (GENTIL, 2007).

Os processos mais usados para aplicação de revestimentos não-metálicos inorgânicos obtidos por reação entre o substrato e o meio são a anodização, a cromatização e a fosfatização (MAINIER, 2005).

#### 2.6.1.3 - Revestimentos não-metálicos orgânicos

O emprego de revestimentos orgânicos consiste em um dos principais métodos de proteção anticorrosiva. Como exemplos têm –se as tintas e plásticos (SANTANA, PRASAD & SANTANA, 2003). A pintura pode ser definida como toda composição aplicada em forma líquida ou pastosa que seja capaz de formar um filme em superfícies metálicas ou não-metálicas

que, ao sofrer um posterior endurecimento, forma um revestimento sólido capaz de proteger os materiais contra os diversos meios corrosivos (NUNES, 1990).

As tintas podem ter composição diversa. Por exemplo, pode-se adicionar à sua formulação óxidos metálicos para aumentar a estabilidade mecânica.

## 2.7 - ÓXIDO DE NIÓBIO

O óxido de nióbio (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) é um composto químico insolúvel em água, com massa molar 265,81 g/mol. Além de fortemente aderente, o óxido de nióbio tem característica protetora.

Na natureza, o nióbio ocorre sob a forma de colombita-tantalita, ou associado à carbonatitas de maciços alcalinos, constituindo o mineral pirocloro tantalita, o mais disponível. Sua ocorrência natural e sua abundância relativamente elevada na crosta terrestre (aproximadamente 20 g/t) propiciam seu uso como um material de baixo custo (MIRAMDA *et al.*, 2006). O preço do minério variou de US\$ 12.750,00/t (1988 a 2000) a US\$ 17.290,00/t (2001 a 2003) (QUELHAS, 2007).

O Brasil detém as maiores reservas de nióbio atualmente conhecidas sob a forma do minério pirocloro, estimadas em 212.487.575 t de minério, contendo 4.302.248 t do elemento. As reservas nacionais estão localizadas em Minas Gerais (73,11%), Amazonas (25,42%) e Goiás (1,47%) (QUELHAS, 2007). A produção nacional anual é de cerca 86 mil toneladas, que corresponde a 96% da produção mundial. Estas reservas são consideradas suficientes para 1000 anos de produção de óxido de nióbio.

A Figura 3 mostra as condições de estabilidade termodinâmica do nióbio e seus derivados (NbO, NbO<sub>2</sub> e Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), em sistema aquoso a 25°C. Pode-se observar que em toda faixa de pH, o metal tende a se passivar, tanto em meios redutores quanto em oxidantes, apresentando o domínio de Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.



Figura 3: Diagrama de equilíbrio potencial-pH para o sistema Nb-H<sub>2</sub>O, a 25°C (POURBAIX, 1974).

Os óxidos NbO e o NbO<sub>2</sub> são instáveis em água e em soluções aquosas, já o Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> apresenta estabilidade termodinâmica em água, ácidos não complexantes, soluções neutras e alcalinas (QUELHAS, 2007).

#### 2.8 – PRINCIPAIS MÉTODOS ELETROQUIMICOS UTILIZADOS NA CIM

#### 2.8.1 – Potencial de corrosão

Quando um metal é imerso em uma solução aquosa se inicia imediatamente uma reação com formação de íons. A permanência de elétrons no metal gera corrente elétrica, criando um campo eletroquímico no meio reacional. Desta forma, os íons carregados positivamente tendem a ficar retidos na vizinhança da interface metal-solução. Após um tempo relativamente curto (fração de segundos), estabelece-se uma situação de equilíbrio ou estado estacionário, caracterizado pela formação da chamada dupla camada (WOLYNEC, 2003). A dupla camada elétrica é formada pela presença da camada de Helmholtz (interna e externa), que por sua vez se assemelha a um condensador elétrico (capacitor), bem como de uma camada difusa (camada de Gouy-Chapman), onde os íons se espalham por uma distância de aproximadamente um micrômetro. A Figura 4 apresenta a estrutura da dupla camada elétrica:



Figura 4: Estrutura da dupla camada elétrica (BARD & FAULKNER, 1980).

Um metal que sofre corrosão numa solução de baixa resistividade elétrica assume um potencial característico, designado como potencial de corrosão. Esse potencial é dado pela intersecção da curva de polarização anódica com a de polarização catódica (Figura 5). O potencial de corrosão ( $E_{corr}$ ) é um dos parâmetros eletroquímicos de mais fácil determinação experimental. Como se trata de um potencial assumido pelo metal, é suficiente obter a medida direta desse potencial com relação a um eletrodo de referência. Essa medida é conhecida como medida de potencial de circuito aberto (WOLYNEC, 2003).



Figura 5: Curva de polarização catódica e anódica (NUNES, 2007).

#### 2.8.1 - Curvas de polarização

O conhecimento do comportamento eletroquímico de um metal num potencial diferente do potencial de corrosão (ou de equilíbrio) apresenta interesse prático e teórico. Através da técnica de polarização é possível impor ao eletrodo de trabalho o potencial desejado em relação ao eletrodo de referência, em meios com condutividade moderada a alta e medir a corrente de polarização, além de registrá-la em função do potencial. Para impor experimentalmente a um eletrodo um potencial diferente do de corrosão é preciso utilizar fontes externas de potencial, como um potenciostato. O método de polarização consiste em partir de um potencial inicial (Ei), variar o potencial do eletrodo com velocidade de varredura (v) constante até um potencial final (Ef) e então retornar, à mesma velocidade, ao valor inicial. Na prática, utilizam-se velocidades de varredura que variam desde 10 mV/s até 1 kV/s, sendo mais comum trabalhar entre 20 e 200 mV/s (WOLYNEC, 2003; TICIANELLI & GONZALEZ, 2005).

## 2.9 - IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DA CORROSÃO

Com os avanços tecnológicos, os custos da corrosão evidentemente se elevam, tornandose um fator de grande importância a ser considerado já na fase de projeto de grandes instalações industriais para evitar ou minimizar futuros processos corrosivos. Essa importância pode ser considerada sob alguns aspectos básicos, destacando-se como o primeiro deles o econômico, traduzido pelo custo da corrosão que envolve cifras astronômicas e pelos custos que envolvem a conservação das reservas minerais e consumo energético. Segundo Silva (2009), a importância do estudo da corrosão se deve à: (i) viabilizar economicamente as instalações industriais construídas com materiais metálicos; (ii) manter a integridade física dos equipamentos e instalações industriais; (iii) garantir a máxima segurança operacional, evitando-se paradas não-programadas e lucros cessantes; (iv) garantir a máxima segurança industrial, evitando-se acidentes e problemas de poluição ambiental.

# **CAPÍTULO 3**

## Materiais e Métodos

## 3. MATÉRIAIS E MÉTODOS

Este capítulo tem como principal objetivo apresentar os materiais, equipamentos, meios/soluções utilizados nos experimentos, bem como as metodologias experimentais adotadas.

#### 3.1 – CORPOS-DE-PROVA

Para a realização deste trabalho, foram utilizados corpos-de-prova (CPS) de aço carbono AISI 1020. Estes CPS apresentaram formatos e dimensões diferenciados dependendo da finalidade do ensaio, conforme descrito a seguir:

- Perda de massa e monitoramento microbiológico: foram usados corpos-de-prova retangulares de dimensões 4,0 cm x 1 cm x 0,3 cm e furo de 0,2 cm de diâmetro, perfazendo uma área total de aproximadamente 8 cm<sup>2</sup>, considerando as duas faces do CP (Figura 6a). Estes cupons foram lixados com lixa 600, desengordurados por imersão em acetona e, em seguida, secos com jatos de ar quente. Os CPS foram mantidos em dessecador até o momento de uso, quando foram pesados ao décimo de miligrama. Também foram utilizados CPS, com as mesmas especificações, previamente revestidos com tinta a base de nióbio (item 3.2).
- *Ensaios eletroquímicos* foram usados CPS com área média de 1,5 cm<sup>2</sup>, soldados a um fio de cobre de modo a efetuar as conexões elétricas (Figura 6b). Para a realização destes ensaios, os CPS foram previamente embutidos em resina epóxi para que apenas uma de suas faces ficasse exposta. Antes do uso, os cupons foram lixados com lixas 100 e 600, desengordurados por imersão em acetona e secos com jatos de ar quente.



Figura 6: Corpos-de-prova usados nos ensaios: (a) perda de massa e monitoramento microbiológico:  $(a_1)$  sem revestimento e  $(a_2)$  com revestimento; (b) eletroquímicos, apresentando o CP em detalhe  $(b_1)$ .

### **3.2 REVESTIMENTO**

Neste trabalho foi avaliado o emprego de revestimento epóxi à base de óxido de nióbio para proteção de aço carbono contra a CIM. Para tanto, foi preparado um revestimento bi-componente constituído de:

- Componente A: Tinta com pigmento de óxido de nióbio (produto fluido de cor branca de densidade 1,57 g/cm<sup>3</sup>);
- Componente B: Resina epóxi (produto fluído de cor marrom com 0,97 g/cm<sup>3</sup> de densidade).

A mistura dos componentes, conforme especificação do fabricante, foi feita com 78,84 g do componente A e 24,92 g do componente B. A aplicação do revestimento foi feita por imersão do corpo-de-prova no revestimento em laboratório.

#### **3.3 - FLUIDO DE PROCESSO**

Para a realização dos ensaios foi coletada água do mar, da Baía de Guanabara. A água foi utilizada tanto *in natura* como previamente esterilizada. Para esterilização, a água foi primeiramente filtrada em papel de filtro Whatman, de forma a remover as partículas em suspensão e, a seguir, foi autoclavada à temperatura de 121°C (1 atm) por 20 minutos. Antes do seu uso, foram feitos testes de esterilidade através da inoculação de alíquotas em caldo nutriente, Postgate E modificado, meio fluido ao tioglicolato (Difco 256) e citrato férrico amoniacal verde, para a detecção de bactérias aeróbicas, redutoras de sulfato e anaeróbicas, bactérias precipitantes de ferro respectivamente. As formulações dos meios são apresentadas no item 3.5.1.

Para os ensaios de perda de massa e monitoramento microbiológico, a água foi coletada a cada experimento, enquanto que para os ensaios eletroquímicos, a água foi proveniente de uma única coleta, que foi armazenada em geladeira  $(4 - 5^{\circ}C)$ .

#### **3.4 – DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL**

#### 3.4.1 - Ensaio preliminar

#### 3.4.1.1 - Avaliação da toxicidade dos componentes do revestimento

Este teste foi feito no intuito de avaliar a toxicidade dos componentes do revestimento (tinta, resina e óxido de nióbio) sobre populações de bactérias planctônicas consideradas importantes na CIM. Os ensaios foram realizados tanto para micro-organismos aeróbios quanto anaeróbios. Para tanto, os cultivos foram incubados em frascos tipo de penicilina de 10 mL de

capacidade e em tubo de ensaios, de modo a estabelecer condição de anaerobiose e aerobiose, respectivamente.

Para o teste, em cada frasco/tubo estéril primeiramente foi adicionado o produto – tinta (1 mL), resina (1 mL) – seguida da adição de 1mL de uma das suspensões celulares (BRS, bactérias anaeróbias, bactérias aeróbias e ferrobactérias), contendo 10<sup>6</sup> NMP/mL, obtidas a partir de cultivos sucessivos em meios específicos descritos no item 3.5.1. Após 15, 30 e 60 minutos de contato, foram adicionados 9 mL do meio de cultura específico para a população de bactéria em teste. Os frascos/tubos foram incubados de acordo com as exigências de cada população, quando foram observados para avaliação do crescimento. Nos casos em que não foi detectado crescimento, alíquotas foram semeadas em novos meio de cultura de mesma composição, sem adição de tinta, resina ou óxido de nióbio, a fim de determinar o efeito bacteriostático. A Tabela 1 apresenta as condições experimentais dos três testes realizados para cada um dos grupos microbianos avaliados, para os três tempos de contato.

Ensaio	Tinta (mL)	Resina (mL)	$Nb_2O_5(g)$	Meio de Cultura* (mL)
1	1	-	-	9
2	-	1	-	9
3	-	-	1	9

Tabela 1: Condições dos testes de toxicidade

\* Meios de cultura: meio Postgate E; meio fluido ao tioglicolato; meio líquido citrato férrico amoniacal verde; caldo nutriente; Volume do inóculo: 1 mL (10<sup>6</sup> NMP/mL)

Para o óxido de nióbio, em face da insolubilidade em água, o teste foi feito com o produto (1 g) previamente homogeneizado no meio de cultura (9 mL), sendo somente após adicionado o inóculo. Portanto, para este produto, não foi possível analisar diferentes tempos de contato.

#### 3.4.2 – Efeito do revestimento na formação de biofilme e na CIM

Nesta etapa foi monitorada a formação de biofilmes em corpos-de-prova de aço carbono AISI 1020, sem e com proteção (revestimento à base de óxido de nióbio), imersos em água do mar (estéril e *in natura*) por período total de 35 dias. Com este fim, semanalmente, foi feita a quantificação de diferentes grupos microbianos, normalmente descritos na literatura como principais responsáveis pela corrosão dos materiais metálicos (bactérias heterotróficas aeróbias e anaeróbias, bactérias precipitantes de ferro, e BRS) pelas técnicas de contagem de micro-organismos viáveis cultiváveis em meios específicos na fase séssil. Simultaneamente foi feita a quantificação celular dos mesmos grupos microbianos na fase planctônica para acompanhar a sua viabilidade e o possível aumento em função do arraste dos biofilmes maduros pelo fluxo aquoso. Também, ao final dos ensaios (35° dia), a superfície dos corpos-de-prova, de cada condição, foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para visualização das superfícies colonizadas.

A avaliação da CIM sobre a superfície dos corpos-de-prova foi realizada através de experimentos de perda de massa, com conseqüente calculo das respectivas taxas de corrosão, além da determinação da densidade de pites por microscopia eletrônica de varredura. Para tanto, os corpos-de-prova foram raspados, com auxílio de uma espátula, para a retirada das células aderidas e submetidos a um tratamento de decapagem (item 3.5.4). Assim como feito para o monitoramento microbiológico, a avaliação da CIM foi realizada em intervalos de 7 dias por 35 dias.

No eletrólito, além da quantificação celular, também foi pesquisada a presença de sulfetos, particularmente gerado como produto final pelo metabolismo das BRS. Portanto, a sua presença é um indício da atividade destes micro-organismos em maior ou menor grau.

Estes ensaios foram conduzidos em cubas de vidro de 1 L de capacidade, com 800 mL de água do mar (Figura 7), constantemente e suavemente agitada através de bastão magnético, com o intuito de manter as células planctônicas em suspensão e assim favorecer a colonização dos corpos-de-prova. Antes e após cada experimento, a cuba foi desinfetada por imersão em solução de 5 g/L de metabissulfito de sódio por 24 horas, sendo a seguir lavada por cinco vezes com água destilada estéril, para total remoção do desinfetante.

Para montagem do sistema, os corpos-de-prova foram inseridos no interior da cuba e fixados à tampa com fios de nylon. A figura 7 apresenta o sistema montado em diferentes ângulos. Como pode ser visualizado na figura 7a, algumas aberturas foram vedadas com algodão cardado (hidrófobo) a fim de permitir a entrada de ar no sistema e, ao mesmo tempo, evitar contaminação durante o período total de ensaio. A cuba foi mantida à temperatura de 25°C, em sala refrigerada.

Decorridos 14 dias do ensaio foi acrescida um caldo de nutrientes à água no sistema com o propósito de manter as condições nutricionais mínimas, garantindo a viabilidade das células planctônicas e sésseis. Para tanto, foram retirados 70 mL de água da cuba que foi então substituída por igual volume de caldo nutriente (item 3.5.1.1).

Todos os procedimentos foram realizados em duplicata, em câmara de fluxo laminar de forma a evitar contaminação.



Figura 7: Sistema utilizado no monitoramento da formação de biofilme e CIM [vista superior (a); e vista frontal, apresentando CPS sem revestimento (b) e com revestimento (c)].

#### 3.4.3 – Análises eletroquímicas

Para impor experimentalmente a um material metálico um potencial diferente de seu potencial de corrosão é preciso lançar mão de fontes externas de polarização como, por exemplo, um potenciostato. Através do potenciostato é possível impor ao metal sobretensões anódicas ou catódicas como também medir a corrente de polarização através da montagem de uma célula de três eletrodos onde o metal estudado é o eletrodo de trabalho, sendo a medição do potencial feita em relação a um eletrodo de referência e um eletrodo auxiliar (contra-eletrodo). Assim, são obtidas as curvas de polarização que representam a relação entre o potencial do eletrodo aplicado e a correspondente corrente medida no potenciostato. Estas curvas não são representativas de uma única reação, mas sim do efeito global de todas as reações anódicas e catódicas que ocorrem simultaneamente sobre o eletrodo.

No presente estudo, o comportamento do aço carbono em água do mar, estéril e *in natura*, foi analisado através de medidas de potencial de eletrodo a circuito aberto e levantamento de curvas de polarização anódica e catódica. Os ensaios foram realizados para corpos-de-prova com e sem proteção (revestimento à base de óxido de nióbio).

A célula eletroquímica utilizada para execução deste experimento foi a convencional de três eletrodos. A Figura 8 apresenta o sistema usado, constituído por uma cuba de vidro contendo aproximadamente 800 mL da água do mar (eletrólito) coberta com tampa de acrílico com furos por onde os eletrodos foram encaixados. Foram utilizados um contra-eletrodo de platina e um eletrodo de calomelano saturado (ECS) como referência em todos os ensaios realizados.



Figura 8: Sistema utilizado nos ensaios eletroquímicos [célula do ensaio (a); disposição dos eletrodos na célula do ensaio (b): fixação dos corpos-de-prova (1, 2, 3); eletrodo de referência (4); e contra-eletrodo (5)].

#### 3.4.3.1 - Medidas de potencial a circuito aberto

O potencial a circuito aberto dos corpos-de-prova foi medido com o auxílio de um multímetro portátil (Minipa Et 20 33), sendo as medidas feitas em intervalos de 24 horas durante 35 dias, para que fosse possível notar variações pertinentes à formação dos biofilmes e de depósitos abióticos (óxidos metálicos). Para cada tempo, o comportamento do potencial medido representa à média das determinações feitas com 3 corpos-de-prova.

#### 3.4.3.2 - Ensaios de polarização anódica e catódica

Para cada um dos sistemas estudados foram levantadas curvas de polarização anódicas e catódicas. Os ensaios foram realizados com o auxílio do equipamento AUTOLAB PGSTAT 30, em seu módulo GPES (General Purpose System Software) versão 4.9, com velocidade de varredura de 20 mV/min, em meio ligeiramente agitado com auxílio de bastão magnético.

As curvas foram levantadas para corpos-de-prova imersos em água do mar (com adição de caldo nutriente ao 14º dia), tanto para meio estéril quanto *in natura*, nos tempos 0, 15 e 28 dias.

As medições foram feitas para aço carbono sem revestimento, sendo usado um corpo-de-prova para cada uma das medidas.

### 3.5 – METODOLOGIA ANALÍTICA

#### 3.5.1.- Quantificação das populações de bactérias

Foram feitas determinações quantitativas de diferentes grupos de bactérias através da técnica convencional de Microbiologia, isto é, do cultivo em meios apropriados. As análises microbiológicas foram realizadas para micro-organismos sésseis e planctônicos, pela técnica do Número Mais Provável (NMP) (HARRISON, 1982).

Para quantificação celular na fase planctônica, alíquotas da água contida no sistema (Figura 7) foram inicialmente diluídas (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-8</sup>) em solução salina (3,5% m/v de NaCl) e em solução redutora (Tabela 2), para análise das populações aeróbias (bactérias heterotróficas aeróbias e bactérias precipitantes de ferro) além de bactéria heterotróficas anaeróbias e BRS, respectivamente. No caso da determinação quantitativa das populações sésseis os corpos-deprova logo após terem sido assepticamente retirados do sistema, foram raspados com o auxílio de uma espátula estéril em solução redutora a fim de se obter uma suspensão celular. A partir dessa suspensão foram realizadas diluições decimais sucessivas conforme acima descrito. Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram semeadas em 9 mL de meio de cultura, de acordo com o grupo bacteriano a ser quantificado. Todos os meios foram adicionados de 3,5% (m/v) de NaCl para manter as condições de salinidade dos micro-organismos presentes na água do mar.

Componentes	Concentração(g/L)
Tioglicolato de sódio	0,124
Ácido ascóbico	0,1
Rezasurina (0,025%)	4 mL
Cloreto de sódio (NaCl)	35,0

Tabela 2: Composição da Solução Redutora

A condição de anaerobiose da solução salina redutora foi garantida através do preparo e sua distribuição em frascos do tipo penicilina sob purga de nitrogênio com vedação imediata com rolhas de borrachas e lacres metálicos.

#### 3.5.1.1 - Bactérias heterotróficas aeróbias

A quantificação deste grupo bacteriano foi realizada em caldo nutriente (Tabela 3), em tubos de ensaio (9 mL).

Componentes	Concentração(g/L)
Peptona de carne	5,0
Extrato de levedura	3,0
Dextrose	9,0
Cloreto de sódio (NaCl)	35,0

Tabela 3: Composição do Caldo Nutriente

O crescimento foi evidenciado pela turvação dos cultivos após incubação a  $30 \pm 1^{\circ}$ C por 48 h (Figura 9).



Figura 9: Aspecto visual do caldo nutriente antes (a) e após (b) do crescimento microbiano.

#### 3.5.1.2 - Bactérias precipitantes do ferro

Estas bactérias foram cultivadas em meio de cultura líquido de citrato férrico amoniacal verde (Tabela 4), distribuído em tubos de ensaio (9 mL/tubo) à  $30 \pm 1^{\circ}$ C por 14 dias.

Componentes	Concentração(g/L)
Sufato de amônio ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0,5
Nitrato de sódio (NaNO <sub>3</sub> )	0,5
Fosfato dibásico de potássio (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0,5
Sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	0,5
Cloreto de cálcio hexahidratado (CaCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	0,13
Citrato férrico amoniacal	10
Cloreto de sódio (NaCl)	35,0

Tabela 4: Composição do Meio Citrato Férrico Amoniacal Verde

O crescimento é positivo quando a coloração do cultivo (amarelo claro) se tornou marrom-avermelhado que indica ter ocorrido a oxidação do íon ferroso constituinte do meio (Figura 10). A incubação deve ser feita ao abrigo da luz para evitar resultados falso-positivos.



Figura 10: Aspecto visual do meio citrato férrico amoniacal verde após (a) e antes (b) do crescimento das bactérias precipitantes do ferro.

#### 3.5.1.3 - Bactérias heterotróficas anaeróbias

Este grupo bacteriano foi quantificado através do cultivo em meio fluido ao tioglicolato preparado conforme especificações do fabricante (Micro MED), com adição de cloreto de sódio de modo a estabelecer a salinidade em 3,5% (m/v). A condição de anaerobiose foi garantida através da distribuição do meio em frascos tipo penicilina sob purga de N<sub>2</sub> e vedação dos frascos com rolhas de borrachas e lacres metálicos. A quantificação celular foi determinada pela análise do turvamento dos cultivos após um período de incubação de 72 h à  $30 \pm 1^{\circ}$  C (Figura 11).



Figura 11: Aspecto visual do meio fluido ao tioglicolato após (a) e antes (b) do crescimento microbiano.

#### 3.5.1.4 - Bactérias redutoras de sulfato (BRS)

A quantificação destas bactérias foi feita no meio Postgate E (POSTGATE, 1984), modificado, cuja composição é mostrada na tabela 5.

Componente	Concentração (g/L)
Fosfato monobásico de potássio (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,5
Cloreto de amônio (NH <sub>4</sub> Cl)	1,0
Cloreto de cálcio hexahidratado (CaCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	1,0
Cloreto de magnésio heptahidratado (MgCl <sub>2</sub> .7H <sub>2</sub> O)	2,0
Sulfato ferroso heptahidratado (FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	1,0
Extrato de lêvedo	0,1
Ácido ascórbico	0,5
Lactato de sódio	7 mL
Resazurina (0,025%)	4 mL
Agar-agar	5,0
Cloreto de sódio (NaCl)	35,0

Tabela 5: Composição do Meio Postgate E (POSTGATE, 1984) Modificado

O pH do meio foi ajustado em 7,6 com NaOH 0,1M e a condição de anaerobiose foi garantida através da distribuição do meio em frascos tipo penicilina sob purga com  $N_2$  e vedação com rolhas de borrachas e lacres metálicos. Após um período de incubação de 28 dias a temperatura de  $30 \pm 1^{\circ}$ C, a determinação do crescimento celular foi feita pela mudança de cor do meio, de incolor ou ligeiramente rosa para preto, devido à formação de precipitado de sulfeto de ferro (FeS), resultado da reação do ferro constituinte do meio com H<sub>2</sub>S gerado pela atividade metabólica das BRS (Figura 12).



Figura 12: Aspecto visual do meio Postgate após (a) e antes (b) do crescimento de BRS.

#### 3.5.3 - Dosagem de Sulfeto Total

A concentração de sulfetos totais foi determinada por meio da adaptação do método colorimétrico para dosagem de gás sulfídrico (JACOBS *et al.*,1957), que consiste na precipitação do sulfeto em suspensão alcalina de sulfato de cádmio pelo arraste com gás inerte, por exemplo, nitrogênio. Através deste método, para a determinação do teor de sulfeto total é necessário dissolver os sulfetos metálicos que estejam presentes na fase líquida através da adição de ácido clorídrico concentrado.

O teste consiste em transferir 1 mL da suspensão obtida através da raspagem do biofilme em solução redutora, com auxílio de uma seringa, para frasco de penicilina vedado com tampa de borracha e lacrado com selo de alumínio. O frasco é conectado a dois coletores de gás tipo *midget impingers* em série, contendo cada um 10 mL de solução absorvedora de CdSO<sub>4</sub> (4,3g CdSO<sub>4</sub>. 8 H2O; 0,3g de NaOH). Em seguida, adiciona-se à amostra 1 mL de HCl concentrado, por meio de seringa, sendo o frasco disposto em banho termostatizado a 70°C, onde é mantido por 10 min, e concomitantemente, purgado com nitrogênio, permitindo o arraste do H<sub>2</sub>S formado.

À medida que há arraste do  $H_2S$  para a solução de CdSO<sub>4</sub> (coloração branca), se observa alteração da cor para amarela, característica da formação de CdS. Quanto maior o teor de CdS maior a intensidade da coloração amarela.

Findo o tempo de aquecimento, desconecta-se o frasco tipo penicilina do frasco coletor, e adiciona-se 0,6 mL de solução ácido aminosulfúrico (12 g de N,N-dimetil-p-fenilenodiaminadiclorídrica em 50 mL de  $H_2SO_4$  1:1) às soluções contidas em cada um dos frascos coletores. Logo a seguir, as soluções são transferidas para balões volumétricos de 25 mL de capacidade e, em cada um, adiciona-se 2 gotas do indicador (solução de FeCl<sub>3</sub>), completando-se o volume com água destilada. Após 30 minutos de repouso, ao abrigo da luz, lê-se a absorbância a 670 nm. Neste estudo, as medidas foram feitas em e espectrofotômetro (marca HEXIS, modelo DR-2000).

A concentração de sulfeto total é determinada a partir de curva de calibração preparada com diferentes concentrações de  $Na_2S.9H_2O$  P.A., de 0 a 30 mg/L de sulfeto. O branco para a leitura é preparado com 20 mL da solução de CdSO<sub>4</sub> e os demais reagentes, na ausência do precipitado de CdS.

#### 3.5.4 - Perda de Massa/Taxa de Corrosão

A determinação da perda de massa (diferença entre a massa inicial e a final do corpo-deprova) permite calcular a taxa de corrosão e, por conseguinte, avaliar a intensidade do processo corrosivo e estimar o desgaste do material metálico em um dado ambiente.

Para os ensaios de perda de massa, os corpos-de-prova devem ser convenientemente tratados e pesados ao décimo de miligrama, imediatamente antes do início dos experimentos. O tratamento consiste em imergir os corpos-de-prova em acetona em banho de ultra-som por 15 minutos.

Após os ensaios, os corpos-de-prova devem ser cuidadosamente raspados com o auxílio de uma espátula, para remover os depósitos bióticos e abióticos neles presentes. Em seguida, os corpos-de-prova sofrem decapagem que consiste em imergi-los em solução de Clark (preparada com 1 L de HCl concentrado, 20 g de  $Sb_2O_3$  e 50 g de  $SnCl_2$ ).

A perda de massa de cada corpo-de-prova deve ser determinada através da construção de curva de decapagem, que consiste em pesar o corpo-de-prova após seguidos passos: (i) imersão na solução de Clark por 5 s; (ii) lavagens com água e a seguir álcool etílico anidro; (iii) secagem com jatos de ar quente. Neste trabalho, cada corpo-de-prova foi pesado por 13 vezes, sem contato manual, em balança analítica digital GEHAKA AG-200, sendo determinado o seu valor médio.

O valor correspondente à diferença das massas para cada corpo-de-prova, antes e após os ensaios, dividido pelo valor referente à área total do corpo-de-prova representa a massa perdida num dado intervalo de tempo.

A taxa de corrosão foi calculada a partir dos resultados de perda de massa, de acordo com a equação 7.

$$Taxa de corrosão (mm/ano) = \frac{perda de massa (g) x 365 (dias/ano) x 10 (mm/cm)}{densidade do metal (g/cm3) x área(cm2) x tempo (dias)} Eq. (7)$$

Com o intuito de avaliar a taxa de corrosão do aço carbono durante o ensaio de perda de massa, foi adotada a Norma NACE RP-07-75 que define a intensidade do processo corrosivo, conforme a Tabela 6:

Taxa de corrosão uniforme (mm/ano)	Corrosividade
< 0,025	Baixa
0,025 a 0,120	Moderada
0,130 a 0,250	Alta
> 0,250	Severa

Tabela 6: Classificação da taxa de corrosão do aço carbono (Norma NACE RP-07-75)

#### 3.5.5 – Densidade de pites

As análises de densidade e profundidade de pites foram feitas conforme indicado pela Norma ASTM G 46/94 (2005) nos corpos-de-prova, após raspagem para remoção dos biofilmes. Para tanto foi utilizado um microscópio digital, ALICONA, InfiniteFocus, em aumento de 100X, sob condições adequadas de iluminação incidente. A densidade de pites foi calculada a partir da relação número total de pites, visualizados em ambas as faces do corpo-de-prova, pela área total expressa em metros quadrados. A profundidade dos pites foi determinada também com o auxílio do estereoscópio, em aumento de 100x, utilizando programa que correlaciona a diferença entre as leituras de foco do ajuste fino da superfície do metal e da base do pite.

A visualização de pites na superfície dos corpos-de-prova foi também feita através de análises de MEV.

## 3.5.6 – Preparo dos corpos-de-prova para análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os corpos-de-prova foram colocados dentro de um tubo (tipo Eppendorff de 15mL) e adicionado uma solução de glutaraldeído 1% (v/v) até cobri-los completamente e deixados em repouso nesta solução por 4 horas. Em seguida, os corpos-de-prova foram mergulhados em soluções de álcool etílico em concentrações crescentes de 50%, 60%, 70%, 80% e 90% deixando-os em repouso por 20 minutos em cada concentração da solução do álcool. A seguir foram

mergulhados em álcool etílico concentrado e deixados em repouso por mais 20 minutos. Após este procedimento foram retirados e deixados de molho em acetona concentrada durante 10 min. Passado este intervalo de tempo, foram retirados e colocado dentro de outro tubo Eppendorf seco e deixados em repouso dentro de um dessecador por 24 horas antes da realização das análise de MEV.

## 3.5.7 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

Os corpos-de-prova, sem e com revestimento, foram examinados quanto à presença de biofilmes através de MEV (marca FEI Company, modelo Quanta 200) e caracterização dos produtos de corrosão por EDS (OXFORD Instruments, modelo INCA Penta FET x 3).

# **CAPÍTULO 4**

## **Resultados e Discussões**

## 4.1 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS COMPONENTES DO REVESTIMENTO SOBRE BACTÉRIAS PLANCTÔNICAS

Preliminarmente, foi avaliado o efeito tóxico dos principais componentes do revestimento – óxido de nióbio, tinta (óxido de nióbio + veículo suspensor) e resina epóxi - sobre as populações de bactérias consideradas de maior relevância para a CIM. Os testes foram feitos apenas com micro-organismos na fase planctônica visto que a intenção era estabelecer a atividade antimicrobiana dos produtos em condição de maior eficácia, pois conforme anteriormente abordado, a ação dos produtos sobre micro-organismos na fase planctônica seja mais efetiva do que na fase séssil (STEWART & COSTERTON, 2001; CAPELLETI, 2004)

A Tabela 7 apresenta os resultados dos testes de toxicidade para bactérias heterotróficas, cultivadas em condição de aerobiose (BHA) e anaerobiose (BHAn), bactérias precipitantes do ferro (BPF) e bactérias redutoras de sulfato (BRS), para os principais constituintes do revestimento em três tempos de contato. Os componentes do revestimento apresentaram efeitos antimicrobianos diferenciados conforme a população microbiana e o tempo de contato.

Componentes	Tempo de contato (min.)	вна	BHAn	BRS	BPF
	15	+ + +	+++	+ + +	* * *
Tinta	30		+++		* * *
	60		+++		* * *
	15		+++		
Resina	30		+++		
	60		+++		
Óxido de Nióbio	-		+++	+	* * *

Tabela 7: Efeito tóxico dos componentes do revestimento sobre diferentes grupos bacterianos

BHA – Bactérias heterotróficas aeróbias; BHAn – Bactérias heterotróficas anaeróbias; BRS – Bactérias redutoras de sulfato; BPF – bactérias precipitantes de ferro; (+)- crescimento positivo e (-) não houve crescimento; \* - dados não confiáveis.

As bactérias heterotróficas anaeróbias foram às únicas a apresentar resistência para todos os produtos testados em diferentes tempos de contato. Por outro lado as BRS, também

anaeróbias, foram inativadas quer pela resina, quer pela tinta, embora neste último caso tenham apresentado crescimento quando expostas ao produto por menos tempo. Comportamento similar às BRS foi constatado para as bactérias heterotróficas cultivadas em condição de aerobiose.

A resina também teve efeito tóxico sobre as ferrobactérias, ainda que, *a priori*, tenha sido observado o crescimento deste grupo microbiano na tinta, nos três tempos de contato. No entanto, estes resultados não foram considerados, uma vez que não houve miscibilidade da tinta no meio de cultura. Da mesma forma, os dados referentes à toxicidade do óxido de nióbio sobre as distintas populações microbianas não foram contabilizados, pois, como no caso da tinta, a insolubilidade do óxido de nióbio em água não permitiu que as células presentes no meio ficassem igualmente expostas ao produto.

Ciuffi e colaboradores (2011) evidenciaram atividade antimicrobiana do óxido de nióbio em matrizes de alumina sobre vários micro-organismos normalmente residentes da cavidade bucal (*Streptococcus sanguinis, Lactobacillus casei, S. mutans, Enterococcus faecalis, S. salivarius, S. mitis, S. sobrinus*). Segundo os autores, a inativação das espécies testadas se deveu a ação dos íons nióbio, já que não houve inibição microbiana pela matriz de alumina em ausência do óxido de nióbio.

## 4.2 – EFEITO DO REVESTIMENTO NA FORMAÇÃO DE BIOFILME E NA CIM

#### 4.2.1 - Monitoramento Microbiológico na Fase Planctônica

Na Figura 13 são apresentadas as concentrações das células planctônicas expressas em NMP/mL, nos sistemas contendo os corpos-de-prova (sem e com revestimento) imersos em água do mar *in natura* ao longo do tempo por 35 dias. Os valores plotados correspondem aos valores médios das análises microbiológicas realizadas em duplicata, para todos os ensaios executados.

Na água do mar proveniente da Baía de Guanabara, foi detectado elevado número de células microbianas cultiváveis, evidenciando-se a presença de bactérias heterotróficas aeróbias (BHA), bactérias heterotróficas anaeróbias (BHAn), bactérias precipitantes de ferro (BPF) e bactérias redutoras de sulfato (BRS), com predominância das primeiras.



Figura 13: Monitoramento de diferentes populações de bactérias na fase planctônica de sistema experimental contendo água do mar, onde foram inseridos cupons de aço carbono.

O elevado número de bactérias era previsível visto o grande volume de despejos domésticos e industriais, lançados com freqüência em diferentes pontos da baía. Trabalhos realizados com água do mar de mesma procedência, em diferentes estações ao longo dos anos, apresentaram concentrações celulares de semelhantes ordens de grandeza para os grupos bacterianos relacionados (GONÇALVES, 2002; GALVÃO, 2008).

O número elevado de bactérias heterotróficas aeróbias permite prever a rápida colonização de materiais ao serem imersos nesta água (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 1990). Em geral, quanto maior a concentração celular, maior a probabilidade de haver aderência irreversível dos micro-organismos às superfícies expostas. Além disso, a elevada concentração de bactérias heterotróficas aeróbias é um indício da presença de *Pseudomonas* spp. e outras espécies potencialmente produtoras de material polimérico extracelular (EPS), de suma importância para a formação de um biofilme e seu espessamento. Em conseqüência, se estabelecem as condições ideais para o desenvolvimento das BRS. Por outro lado, o EPS também pode atuar como barreira à difusão de substâncias tóxicas e assim proteger os micro-organismos sésseis (COSTERTON *et al.*, 1995).

O fato do número de BHA ter se mantido elevado por 35 dias, permite aferir que tanto a disponibilidade de nutrientes quanto a de oxigênio foram suficientes para garantir a atividade metabólica do grupo.

Na população planctônica também foi detectada a presença de BRS, o que representa uma séria preocupação quanto à ocorrência de CIM. Nota-se que a concentração de BRS é similar a de bactérias heterotróficas cultivadas em anaerobiose, o que sugere elevada atividade metabólica das BRS na água do mar empregada nos ensaios.

Os perfis de evolução dos grupos bacterianos ao longo dos 35 dias, embora distintos, demonstram que as condições ambientais foram suficientes para garantir seu metabolismo (Figura 13). As bactérias heterotróficas aeróbias apresentaram o maior crescimento, atingido 10<sup>11</sup> NMP/mL já no sétimo dia, ou seja, antes da única adição de nutrientes (Figura 13 A). Esta ordem de grandeza se manteve praticamente constante durante todo o período monitorado. No caso das bactérias precipitantes de ferro é evidenciado um perfil bem diferente, com oscilações durante todo o período (Figura 13 C). Este comportamento pode ser explicado pela necessidade de ferro, fonte de energia para BPF, que vai sendo disponibilizado aos poucos à medida que o processo corrosivo avança. Além disso, a deposição dos produtos de corrosão, ao recobrir a superfície dos metais, diminui a disponibilidade de oxigênio e do íon ferroso para as células microbianas, limitando sua atividade metabólica. Por outro lado, o arraste de depósitos bióticos e abióticos pelo fluxo aquoso expõe novamente a superfície do metal ao ataque corrosivo.

Para as bactérias anaeróbias - BHAn e BRS - pode-se evidenciar um aumento gradativo no decorrer do tempo, atingindo valores máximos de  $10^7$  NMP/mL ao 28° dia e  $10^6$  NMP/mL em 35 dias, respectivamente (Figuras 13 B e D).

Destaca-se que as concentrações celulares para as diferentes populações a cada intervalo de tempo foram semelhantes para os sistemas monitorados, independentemente se neles estavam inseridos corpos-de-prova com ou sem revestimento à base de óxido de nióbio.

#### 4.2.2 – Formação de biofilme sobre corpos-de-prova de aço carbono

A Figura 14 (A-D) foram plotados os resultados referentes ao monitoramento de microorganismos sésseis (BHA, BHAn, BPF e BRS) em corpos-de-prova de aço carbono sem revestimentos expostos à água da Baía de Guanabara, por um período de 35 dias. Analisando a figura, é possível evidenciar ao sétimo dia, a presença de todas as espécies monitoradas na fase séssil. Este resultado confirma que o sistema apresentava as condições nutricionais e físicas favoráveis à atividade das bactérias produtoras de EPS e que, uma vez formado o biofilme, foram estabelecidas as condições necessárias para o desenvolvimento das espécies anaeróbias.

A concentração celular séssil foi dependente da densidade de cada população microbiana na fase planctônica (Figuras 13 e 14). Outros autores também evidenciaram que o número de micro-organismos presentes em biofilmes recém-formados está correlacionado à concentração dos respectivos micro-organismos na fase planctônica (SOUZA, SÉRVULO & de FRANÇA, 2005; FASSARELA *et al.*, 2007).

No sétimo dia, observa-se predominância de bactérias heterotróficas aeróbias nos biofilmes formados sobre as superfícies do aço carbono. Neste tempo, as BRS estavam em menor número o que corrobora com a capacidade dessas espécies de sobreviver na presença de oxigênio, mas depender de ser estabelecida uma condição de anaerobiose para seu desenvolvimento, além do seu crescimento ser mais lento.

Na literatura existem vários estudos realizados para definir os parâmetros cinéticos com diferentes espécies de BRS cultivadas *in vitro*. Em relação ao tempo de geração e velocidade específica de crescimento tem-se: *Desulfoharbdus amnigenus* - 1,5 d e 0,5 d<sup>-1</sup> (OUDE ELFERINK *et al.*, 1995); *Desulfobacter postgatei* - 5,3 h e 0,13 h<sup>-1</sup>; *Desulfobulbus propionicus*-

8,6 h e 0,08 h<sup>-1</sup>, e *Desulfovibrio bacuolatus* - 6,9 h e 0,10 h<sup>-1</sup>, LAAMBROEK *et al.*, 1984); BRS degradadora de naftaleno, linhagem HaphS1- 7 d e 0,096 dias<sup>-1</sup> (GALUSHKO *et al.*, 1999); *Desulfovibrio* sp. - 5,33 d e 0,13 d<sup>-1</sup>, e 2,47 d e 0,28 d<sup>-1</sup> para cultivo em lactato, sem agitação e com agitação, respectivamente (SILVA, 1999).

Segundo Videla (2003), as BRS são comumente encontradas em biofilmes, onde o consumo de oxigênio pelas bactérias aeróbias presentes estabelece a condição redutora necessária para sua atividade metabólica. Por isso, a corrosão de superfícies metálicas mediada pela ação de BRS, ocorre abaixo de tubérculos (camadas de produtos de corrosão), sob os quais se pode encontrar pites profundos, em função do ataque ao metal pelos sulfetos produzidos durante seu metabolismo (GENTIL, 2007).


Figura 14: Variação das populações de bactérias em biofilmes formados sobre superfícies de aço carbono em água do mar.

No presente estudo, as BRS foram beneficiadas com o aumento da espessura do biofilme atingindo seu valor máximo ao final do experimento. Note-se que aos 35 dias, as BRS estavam em maior número no biofilme, seguidas das bactérias heterotróficas aeróbias, cuja concentração foi uma ordem de grandeza inferior. A concentração máxima de BRS sésseis de 7,04 x  $10^8$  NMP/cm<sup>2</sup> está em consonância com os valores referendados na literatura para biofilmes maduros ( $10^3$  a  $10^5$  NMP/cm<sup>2</sup>) formados sobre cupons de aço carbono expostos à água do mar, contendo altos teores de matéria orgânica e células microbianas (TORRES, 2001; GONÇALVES, SÉRVULO & FRANÇA, 2003; GALVÃO, 2008). Nestes trabalhos, a quantidade de BRS na fase planctônica também era baixa, variando entre $10^2$  e  $10^3$  NMP/mL.

Nos biofilmes, após o décimo quarto dia, observa-se o decaimento do número de bactérias heterotróficas cultivadas em aerobiose, embora, ao final do experimento, sua concentração fosse ainda superior, em duas ordens de grandeza, ao determinado no sétimo dia. Já as bactérias precipitantes de ferro apresentaram um perfil diferenciado, mas similar ao observado para as células na fase planctônica. Conforme justificativa já apresentada, os decréscimos de concentração das células sésseis podem ser conseqüência da remoção parcial do biofilme pelo fluido em circulação, em função do espessamento do biofilme. O mesmo comentário pode ser usado para explicar o comportamento das bactérias heterotróficas cultivadas em anaerobiose.

O biofilme é um sistema dinâmico, podendo ocorrer variações qualitativas e quantitativas das populações microbianas com o tempo. Tal fato é decorrente da interação entre crescimento e morte celular, bem como desprendimento parcial do biofilme devido a forças hidrodinâmicas (COSTERTON, 1995; ALMEIDA & de FRANÇA, 1998). Por sua vez, o crescimento celular no biofilme envolve adesão de novas células e atividade metabólica dos micro-organismos já nele presentes e/ou daqueles recentemente aderidos, o que está diretamente relacionado com a disponibilidade de nutrientes e condições físicas que podem variar nas diferentes regiões de um biofilme.

# 4.2.3 – Formação de biofilme sobre corpos-de-prova de aço carbono com revestimento à base de óxido de nióbio

Comparativamente ao evidenciado para o aço carbono nos experimentos sem revestimento, a colonização do aço carbono revestido com tinta a base de óxido de nióbio foi mais rápida (Figura15, A a D). Analisando as figuras 14 e 15, observa-se que os perfis de evolução das bactérias estudadas, com algumas exceções, são parecidos. Porém, houve uma





Figura 15: Variação das populações de bactérias em biofilmes formados sobre superfícies de aço carbono com revestimento à base de óxido nióbio, em água do mar.

A exceção das BRS, que apresentaram as mesmas concentrações celulares na fase séssil, independentemente do metal estar ou não protegido, os números correspondentes aos demais grupos de bactérias foram superiores de 1, 2 e 5 ordens de grandeza para BHAn, BPF e BHA, respectivamente, no aço revestido com tinta à base de óxido de nióbio. Isto pode estar relacionado ao aumento da produção de EPS. Segundo alguns autores a produção de EPS é mais intensa quando os micro-organismos estão em contato com substâncias agressivas, por exemplo, ao aderir a superfícies de ligas metálicas que apresentem metais tóxicos. O EPS por ser negativamente carregado se complexa a íons metálicos, tais como Pb, Ni, Cd, mitigando a ação tóxicas destes elementos (HARRISON JR, 1982; MA, 2000; ). Fang, Xu e Chan (2002) determinaram um acréscimo superior a 100% na produção de EPS, em biofilmes formados em ambiente marinho, quando a água continha metais ou substâncias tóxicos, como Cd(II), Cu(II), Pb(II), Zn(II), Al(III), Cr(III), glutaraldeído e fenol.

Analogamente ao observado para os corpos-de-prova não revestidos (Figura 14), os perfis microbiológicos dos corpos-de-prova revestidos foram distintos entre si (Figura 15). No caso das BHA, a concentração se manteve constante por 21 dias, quando decaiu em 4 ordens de grandeza, seu número se mantendo inalterado em 3,23 x  $10^6$  NMP/cm<sup>2</sup> (Figura 15A). Valor semelhante foi detectado ao final do período para BHA sésseis em aço carbono sem revestimento (Figura 14A).

No decorrer do tempo, houve variação das concentrações de BPF e BHAn sésseis (Figuras 15 B e C), conforme também observado para o aço carbono sem proteção (Figuras 14 B e C). A queda do número de micro-organismos sésseis pode estar relacionada ao desprendimento celular e/ou a remoção do biofilme pelo fluido. Esta hipótese é endossada pelos dados levantados durante o monitoramento microbiológico na fase planctônica. Note-se que, em geral, quando há aumento das populações na fase aquosa observa um decréscimo no biofilme.

No caso das BRS, a concentração inicial muito baixa  $(5,9 \times 10^1 \text{ NMP/cm}^2)$  apresentou aumento atingindo o valor máximo de  $10^5 \text{ NMP/cm}^2$  no  $14^\circ$  dia, e entre  $10^2 \text{ e } 10^4 \text{ NMP/cm}^2$  no restante do tempo. Logo, em comparação com o biofilme formado diretamente sobre o aço carbono, o desenvolvimento das BRS no biofilme formado sobre o revestimento foi menor.

# 4.2.4 – Análise comparativa da formação de biofilme em função da presença de óxido de nióbio

A Figura 16 apresenta a variação de cada população microbiana na fase séssil em função do tempo, para os cupons metálicos sem (A) e com o revestimento (B), em conjunto, para uma análise global. Note-se que o valor máximo de BHA foi o mesmo para ambos os cupons, embora tenha sido atingido mais rapidamente para o cupom revestido. Da mesma forma, os crescimentos das BPF e BHAn no biofilme não foram comprometidos pela presença do óxido de nióbio. Ao final do monitoramento, os valores referentes às concentrações destes grupos de bactérias foram semelhantes, tanto na presença quanto na ausência do revestimento. Por outro lado, houve redução na concentração celular das BRS quando o aço carbono foi recoberto com a tinta à base de óxido de nióbio.



Figura 16: Comportamento das populações sésseis ao longo do tempo em função da presença de nióbio [biofilmes formados sobre corpos-de-prova de aço carbono (A) e de aço carbono/revestimento à base de óxido de nióbio (B)].

Logo, o presente trabalho demonstra a capacidade das espécies bacterianas em aderir ao revestimento (óxido de nióbio) e colonizá-lo. Também comprova o efeito inibitório do óxido de nióbio para BRS sésseis, conforme constatado para este grupo microbiano na fase planctônica (item 4.2.1). Além disso, ratifica a resistência das bactérias heterotróficas anaeróbias ao óxido de nióbio. Por fim, pôde-se evidenciar que apesar da susceptibilidade das BHA planctônicas ao óxido de nióbio, a presença deste elemento não foi impeditiva para colonização do aço carbono revestido, ao contrário, favoreceu o seu desenvolvimento no biofilme.

Ressalta-se que apenas para os experimentos realizados com os corpos-de-prova não revestidos houve enegrecimento da água do mar, conforme ilustrado na figura 17. A figura mostra o aspecto visual dos sistemas realizados com aço carbono e aço carbono com revestimento, figuras 17A e 17B respectivamente, decorridos 15 dias de operação, que foi quando se evidenciou alteração da cor no primeiro caso. No restante do período experimental, os aspectos de ambos os sistemas se mantiveram inalterados.

Galvão (2008), estudando a CIM de aço carbono em água do mar estéril adicionada de elevada concentração de BRS (10<sup>8</sup> NMP/mL), também relata o enegrecimento intenso do fluido no 14° dia de ensaio. O enegrecimento é devido à formação de FeS em função da reação do ferro com ácido sulfídrico, produto resultante do metabolismo das BRS. Destaca-se que a concentração de BRS sésseis foi maior no sistema onde os cupons metálicos não estavam revestidos, embora a quantidade destes grupos microbianos tenham sido similar nas fases planctônicas de ambos os experimentos. Logo, pode-se aferir que a formação de FeS foi devida à atividade metabólica das BRS no biofilme aderido à superfície dos corpos-de-prova.



Figura 17: Aspecto visual dos sistemas experimentais após 15 dias para aço carbono (A) e aço carbono/revestimento a base de óxido de nióbio (B) em água do mar *in natura*.

Devido à produção do gás sulfídrico, a maioria dos metais é susceptível à ação pelas BRS cujos biofilmes já foram relatados como causadores de corrosão por pites em ligas metálicas (DUNSMORE & EVANS, 2005). Javaherdashti e colaboradores(2006) demonstraram que as BRS participam efetivamente da transformação de metais em ambientes aquáticos, ocasionando grande perda de ductibilidade. As alterações foram muito maiores em condição biótica do que

abiótica. Comportamento semelhante foi relatado por Liu e colaboradores (2008), para corrosão de ligas de magnésio, onde houve formação de biofilmes com BRS.

Na determinação da produção sulfeto na fase planctônica pelos micro-organismos, foi utilizada curva padrão de sulfeto (item 7.1 do anexo). Levando em consideração a produção de sulfeto como uma característica importante para que as BRS participem de processos de imobilização de metais, os resultados demonstraram que houve maior produção de sulfeto no meio onde os cupons metálicos não estavam revestidos (Tabela 8):

 Dias
 C.P. Não-Revestido (mg/L)
 C.P. Revestivo (mg/L)

 14
 0,3
 0,5

 28
 2,2
 0,3

Tabela 8: Valores da concentração de sulfeto na fase planctônica

Como se sabe, a produção de sulfeto é associada ao crescimento das BRS em decorrência do metabolismo desassimilativo do sulfato. Por um outro lado, analisando o pH inicial da água, a média foi de 8,14. Verificou-se que durante a realização dos ensaios não foi detectada variação do pH na água, apesar da produção do sulfeto, pois com a grande disponibilidade de sais presentes no meio, estes funcionaram como tamponantes, evitando a variação do pH.

A geração de sulfeto pode ter concorrido para a inibição das BRS. A toxicidade do sulfeto decorre da sua difusão passiva pela membrana celular, desnaturação de proteínas e, conseqüentemente, enzimas por ligação cruzada e pela alteração do pH intracelular. Contudo, a toxicidade do sulfeto depende do seu estado de dissociação do íon sulfeto, o que por sua vez está relacionado ao valor de pH. Segundo Lens e colaboradores (1998), em valores de pH acima de 6,0, o sulfeto de hidrogênio existe principalmente na forma dissociada (HS<sup>-</sup>), enquanto, em valores de pH na faixa entre 6,0 a 9,0 se determina uma mistura de H<sub>2</sub>S e HS<sup>-</sup> em solução, decaindo o nível de H<sub>2</sub>S à medida que ocorre o aumento do pH. Para valores de pH acima de 8,5 ocorre a dissociação de HS<sup>-</sup> em S<sup>2-</sup>, sendo essa espécie predominante em valores de pH acima de 10.

O efeito tóxico ou inibitório do sulfeto sobre a própria atividade das BRS, parece estar diretamente relacionado à forma não dissociada. O sulfeto de hidrogênio, como molécula neutra, pode atravessar a membrana celular e, desta forma, reagir com constituintes celulares. Segundo Barton e Tomei (1995), concentrações de cerca 550 mg/L de sulfeto de hidrogênio podem inibir o crescimento e a cinética de BRS. Já para Dunsmore e Evans (2005), o sulfeto (H<sub>2</sub>S) pode ser tóxico na faixa de 150 – 300 mg/L, dependendo do gênero e do estado em que se encontra a bactéria (planctônica ou séssil). Ademais, a concentração mínima inibitória/tóxica de sulfeto para as BRS também pode ser afetada pela temperatura, pH, pressão e concentração de íons fósforo. Foi observado que um aumento de pH, de 6,8 para 8,5, resultou em aumento de tolerância por uma espécie de BRS ao sulfeto (TANG; BASKARAN & NEMATI, 2009). A inibição das BRS por sulfeto também foi atribuída à sua reação com metais como ferro, que ao diminuir a disponibilidade do ferro, co-fator de ferrodoxinas e citocromos, impede o transporte de elétrons no processo de redução do sulfato (MADIGAN, MARTINKO & PARKER, 2010). Adicionalmente, o sulfeto de ferro pode depositar sobre as superfícies sólidas, resultando na formação de incrustações, o que intensifica o surgimento de biofilme.

Em relação à ação corrosiva do  $H_2S$  existem controvérsias. No trabalho de Sahrani e colaboradores (2008), houve a indicação que uma camada densa e aderente de sulfeto de ferro foi formada na superfície do aço quando as concentrações de  $H_2S$  no ambiente ficaram acima de cerca 500 ppm; abaixo deste valor, há formação de, camada de sulfeto de ferro volumoso e pouco aderente. No entanto, Videla (2003; 2005) aponta que a ação protetora ou não da camada de sulfeto de ferro que se deposita sobre a superfície do aço está relacionada ao pH e em relação à temperatura. Segundo ele, em pH neutro, os íons sulfeto levam a formação de filme de FeS fracamente protetor. Por outro lado, Ma (2000) indica a importância do tempo de exposição e da concentração de sulfeto no ambiente, além do pH, para estabelecer a ação protetora ou agressiva do sulfeto.

#### 4.2.5 - Análise por MEV dos biofilmes formados sobre os corpos-de-prova

A Figura 18 apresenta imagens que revelam os aspectos das superfícies dos corpos-deprova, não-revestidos (figuras 18 A e C) e revestidos (figuras 18 B e D), visualizados a olho nu e por microscopia eletrônica de varredura (MEV), respectivamente. As imagens revelam diferenças acentuadas nas morfologias macro e microscópicas dos biofilmes.



Figura 18: Imagens das superfícies de cupons de aço carbono (A e C) e aço carbono com revestimento à base de óxido de nióbio (B e D) após 21 dias em água do mar (aspecto visual – A e B; MEV (120x) – C e D).

A olho nu identifica-se um ataque uniforme, com presença acentuada de tubérculos, no cupom metálico não revestido (Figura 18A), enquanto que no cupom com revestimento, a área recoberta com produtos de corrosão é menor (Figura 18B). Por MEV, revela-se presença intensa e generalizada de tubérculos/biofilme sobre o cupom de aço carbono sem revestimento (Figuras 18 A e C), enquanto que o cupom com revestimento à base de óxido de nióbio apresenta depósitos de forma dispersa (Figura 18 B e D).

As células microbianas aderidas à superfície do biofilme são geralmente constituídas por uma película gelatinosa de fácil remoção. No entanto, pode ocorrer mineralização das camadas externas, formando tubérculos duros, de difícil remoção (HASSELMANN & LETICHEVSKY, 1988). Esses tubérculos formam um ecossistema localizado, permitindo o desenvolvimento de outros micro-organismos, cujas atividades são essenciais para a manutenção das atividades metabólicas dentro do biofilme.

A seguir, são mostradas imagens feitas por MEV/EDS (Figuras 19 a 23) a fim de documentar a presença de depósitos bióticos e abióticos nos cupons de aço carbono em função da presença ou não de revestimento, ao final dos ensaios (35 dias). Na Figura 19, as imagens A e B, do aço carbono com revestimento, revelam a ocorrência de bactérias na forma de bastonetes, bem como de material polimérico (EPS).

A análise do material acumulado sobre a superfície do metal por EDS (Figura 19C) identifica apenas a presença de oxigênio e carbono, constituintes da matéria orgânica de origem celular (micro-organismos e EPS). A ausência de elementos mineralógicos indica que não houve deposição de produtos de corrosão.



Figura 19: Imagens (MEV) do biofilme formado sobre aço carbono revestido com óxido de nióbio (A – 7000x; B – 17.000x) e gráfico de EDS (C).

As Figuras 20 a 22 apresentam as análises de MEV/EDS reveladas para os depósitos na forma de cristais formados sobre aço carbono sem revestimento ao final de 35 dias de exposição em água do mar *in natura*. Não foi possível visualizar a presença de micro-organismos no corpode-prova sem revestimento, embora através das análises microbiológicas tenham sido determinadas quantidades variáveis de diferentes grupos de bactérias. Tal fato provavelmente seja devido à alta quantidade de produtos de corrosão.

Meneses (2011) também detectou cristais no filme microbiano formado sobre aço carbono em água do mar. Segundo este autor, a adesão de micro-organismos e a concomitante oxidação da superfície metálica na formação do biofilme promovem a síntese de produtos microbiológicos sob a camada dos óxidos de ferro levando ao desenvolvimento de um depósito diversificado.

Portanto, para o aço carbono não revestido foi apenas feita a caracterização química por EDS dos diferentes cristais identificados (Figuras 20 A' e B'; 21 C' e D'; 22 E' e F'). Evidenciam-se ferro, enxofre, cálcio, e oxigênio, característicos de produtos de corrosão tais como óxidos e sulfetos de ferro, confirmando a geração de sulfeto por via biótica.

As BRS por redução dissimilatória do sulfato geram sulfeto que reagem com o excesso de ferro disponível (CANFIELD, 1989) formando sulfeto de ferro que se deposita sobre o material metálico. Durante este processo pode ocorrer a co-precipitação de outros metais presentes no meio (LARKIN & STROHL, 1983).



Figura 20: Imagens (MEV) dos cristais formados sobre superfícies de aço carbono sem revestimento após 35 dias de exposição em água do mar *in natura* (A – 7000x; B – 10.000x) e gráfico de EDS (A' e B').



Figura 21: Imagens (MEV) dos cristais formados sobre superfícies de aço carbono sem revestimento após 35 dias de exposição em água do mar *in natura* (A – 7000x; B – 10.000x) e gráfico de EDS (C' e D').



Figura 22: Imagens (MEV) dos cristais formados sobre superfícies de aço carbono sem revestimento após 35 dias de exposição em água do mar *in natura* (E - 7000x; F - 10.000x) e gráfico de EDS (E' e F').

#### 4.2.6 - Avaliação da Perda de Massa e Taxa de Corrosão

A seguir são apresentados os resultados correspondentes às perdas de massa, expressos em valores médios, para corpos-de-prova de aço carbono AISI 1020, sem e com revestimento à base de óxido de nióbio, durante exposição em água do mar (*in natura* e estéril), ao longo de 28 dias (Figura 23). Segundo Gentil (2007), a determinação da perda de massa de corpos-de-prova metálicos permite avaliar a extensão da deterioração.



Figura 23: Variação da perda de massa para cupons de aço carbono, sem (A) e com revestimento (B), durante exposição em água do mar *in natura* e estéril.

Observando a figura 23, verifica-se maior perda de massa quando os cupons de aço carbono (revestido e não revestido) foram imersos em água do mar *in natura*. Sabe-se que a água do mar é um meio altamente corrosivo, particularmente devido à presença do cloreto de sódio, principal responsável pela dissolução da liga de ferro.

Como as perdas de massa foram diferenciadas para água do mar quer estéril quer *in natura*, a corrosão pode ser atribuída especificamente à formação de biofilmes e à atividade dos micro-organismos neles presentes, por vários mecanismos como, por exemplo, pela geração de agentes corrosivos (ácidos orgânicos e inorgânicos) e por mecanismos de aeração diferencial.

Em todas as condições testadas, há uma tendência crescente e linear de perda de massa, ou seja, quanto maior o tempo de exposição, maior a degradação do material metálico. Contudo, o recobrimento da superfície metálica com a tinta contendo o pigmento de óxido de nióbio reduziu o processo corrosivo, mesmo quando houve a formação de biofilme (água do mar *in natura*).

A partir dos dados de perda de massa dos corpos-de-provas não-revestidos foram calculadas as respectivas taxas de corrosão (Tabela 9). Verifica-se que em todos os intervalos de tempos analisados temos baixas e moderadas taxa de corrosão. A água do mar foi agressiva ao metal em estudo, provocando corrosão uniforme. No caso da água do mar não-estéril, obteve-se uma taxa de corrosão maior do que o observado na água do mar estéril.

Ao final de 28 dias, têm-se menores taxa de corrosão. O metal quando começa a sofrer corrosão, tende a formar uma camada de óxido que pode agir como uma barreira entre a superfície metálica e o meio corrosivo, o que poderá dificultar o processo de corrosão. No caso da água do mar com a presença dos grupos bacterianos, além do produto de corrosão tem-se a formação de um biofilme, o que ajudará a formar uma barreira entre a superfície do metal e a água do mar. No entanto, mediante os metabólicos originados da atividade bacteriana, isto pode gerar um outro tipo de corrosão (localizada), que embora não haja grande perda de massa, compromete ainda mais as funções a que o metal se destina. Mediante a isto, podemos afirmar que a presença de várias espécies bacterianas sobre o aço ao carbono intensifica o processo corrosivo, colocando em risco a vida útil do metal.

Água do mar estéril			Água do mar não-estéril	
	Taxa	Classificação da	Taxa	Classificação da
	(mm/ano)	corrosão de acordo	(mm/ano)	corrosão de acordo
Tempo	(média de 2	com a Norma NACE	(média de 2	com a Norma NACE
(dias)	amostras)	RP-07-75	amostras)	RP-07-75
7	0,019	baixa	0,057	moderada
15	0,027	moderada	0,037	moderada
21	0,022	baixa	0,038	moderada
28	0,025	moderada	0,029	moderada

Tabela 9: Taxas de corrosão e classificação do processo corrosivo correspondente para os diferentes ensaios realizados

#### 4.2.7 – Análise do ataque à superfície metálica

Neste estudo fez-se também uma avaliação da ação do biofilme na corrosão de corpos-deprova, sem e com revestimento. O aço carbono, quando imerso em águas naturais, pode sofrer vários tipos de corrosão, dentre elas a corrosão uniforme, corrosão em frestas, corrosão localizada, além de corrosão associada a fatores mecânicos. É importante ressaltar que a corrosão é um processo contínuo, cuja intensidade depende da presença de sulfeto de hidrogênio, íon cloreto, e micro-organismos, entre outros. Por isso, o processo corrosivo é ainda mais intenso em um ambiente extremamente hostil, como é o caso dos ambientes marinhos.

A Figura 24 mostra as imagens das superfícies dos corpos-de-prova metálicos, sem e com revestimento, antes do início dos ensaios. Ambos os corpos-de-prova apresentam imperfeições na superfície que favorecem a adesão de micro-organismos.



Figura 24: Imagens (MEV) das superfícies dos cupons de aço carbono (A) e aço carbono com revestimento (B), antes de serem usados nos ensaios (aumento de 300x).

Na figura 25 são apresentadas às imagens feitas por MEV das superfícies de corpos-deprova de aço carbono sem revestimento exposto à água do mar, *in natura* e estéril. Pela análise das imagens se observa que o metal, quando exposto à água do mar *in natura*, sofreu maior corrosão localizada (formação de pites) do que o corpo-de-prova que foi imerso em água estéril sendo tanto maior quanto o tempo de exposição no meio corrosivo. Portanto, apesar dos pites não representarem perda de massa significativa, a densidade de pites, evidenciada nas imagens, tem correlação com a presença de micro-organismos.

Lutterbach & de França (1997) também observaram sinais de CIM, a partir de análises de MEV de cupons metálicos, quando em presença de biofilmes contendo micro-organismos aeróbios e anaeróbios, incluindo bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Entretanto, mesmo os corpos-de-prova do sistema com água do mar estéril, isto é, na ausência de micro-organismos, apresentaram pites, embora em área e em densidade bem menor do que os corpos-de-prova imersos em água do mar *in natura*.



Figura 25: Imagens (MEV) das superfícies dos cupons metálicos imersos em água do mar *in natura* (A e B) e água do mar estéril (C e D) por 7 e 28 dias, respectivamente (aumento de 300x).

Os pites são difíceis de serem previstos, mesmo em ensaios de laboratórios pois precisam de um longo período de iniciação, que pode levar meses e até anos antes de se tornarem visíveis. A seguir, os pites se propagam a uma taxa elevada devido às reações autocatalíticas que se processam no seu interior, pois o eletrólito do interior tende a ser mais concentrado que o eletrólito que circunda o metal. A formação de pites se caracteriza por corrosão localizada do material em áreas limitadas, mas, em geral, de considerável profundidade (GENTIL, 2007).

A corrosão por pites depende de vários fatores, tais como potencial eletroquímico, quantidade de cloreto, temperatura, inclusões não-metálicas, oxigênio dissolvido, transporte de massa, rugosidade superficial, dentre outros (VIDELA, 2003; SCHMUKI *et al.*, 2005).

As imagens (MEV) dos cupons metálicos revestidos com a tinta a base de óxido de nióbio (Figura 26) também mostram ter havido algum tipo de ataque na superfície, o que corrobora os resultados de perda de massa (Figura 23). Tal comportamento pode ser explicado, pela presença de defeitos oriundos do processo de aplicação e secagem da tinta sobre a superfície metálica (imersão do corpo-de-prova em um recipiente contendo a tinta).



Figura 26: Imagens (MEV) das superfícies dos cupons metálicos revestidos com tinta à base de óxido de nióbio após 28 dias de exposição em água do mar estéril (A) e *in natura* (B)(aumento de 2000x).

Nota-se que o número de áreas de corrosão localizada foi mais intenso na presença das comunidades bacterianas. Pode-se então concluir que maiores áreas de ataque e maiores densidades de pites estão relacionadas à presença de micro-organismos, mesmo quando o aço carbono, revestido com tinta à base de óxido de nióbio é exposto à água do mar.

#### 4.2.8 - Determinação da densidade de pites

As Figuras 27 e 28 mostram o ataque generalizado da superfície do aço carbono em água do mar *in natura* para tempos de 21 e 35 dias, respectivamente. O ataque é tão intenso que fica difícil observar a presença de pites. Só é possível avaliar a presença de pites e dimensionar a sua intensidade através da análise da imagem do corte transversal dos pites (Figuras 27C e 28C).

Segundo Videla (1993), a heterogeneidade da superfície abaixo do biofilme e o resultante aumento da variabilidade da composição química do ambiente ponto a ponto ao longo da superfície do material propiciam a corrosão localizada.

Em ambos os sistemas, se evidencia corrosão uniforme sendo a formação de pites apenas observada decorridos 28 dias de imersão (Figura 25). Em menos tempo, foi somente detectada corrosão uniforme intensa, o que pode ser comprovado pela analise das perdas de massa (item 4.2.6).

Ácidos produzidos por micro-organismos aceleram a corrosão dissolvendo óxidos (filme passivo) da superfície do metal e acelerando a velocidade de corrosão, inclusive, podendo induzir a formação de pites. Neste caso, a densidade de pites ao final do experimento foi de 8,90 x  $10^3$  pites/cm<sup>2</sup> (± 1,53).



Figura 27: Imagens da superfície do cupom de aço carbono em água do mar *in natura* no tempo de 21 dias (A - imagem localizada (100x), B - imagem colorida do ataque localizado, C - imagem representativa do corte transversal).



Figura 28 : Imagem mostrando corrosão localizada no cupom metálico em água do mar *in natura* no tempo de 35 dias (A - imagem localizada (100x), B – imagem colorida do ataque localizado, C – imagem representativa do corte transversal do pites).

### 4.3 - ANÁLISES ELETROQUÍMICAS

#### 4.3.1 - Curvas de Polarização

A Figura 29 mostra o comportamento de polarização do eletrodo de aço carbono imerso no sistema contendo água do mar *– in natura* e estéril – para tempos de 0, 14 e 28 dias. Quando a amostra foi colocada em condição estéril (Figura 29 A), observa-se que não houve modificação expressiva nas curvas de polarização em 14 e 28 dias , sendo pequenas as variações de densidade de corrente e potencial de corrosão.

Ao contrário, na presença de bactérias (água do mar *in natura*), houve mudanças significativas nos perfis das curvas de polarização, com mudanças no potencial de corrosão, para os corpos-de-prova em 0, 14 e 28 dias (Figura 29 B). Observa-se que, com o passar do tempo, ocorreu queda no potencial de corrosão do eletrodo e aumento das densidades de corrente. Isto também está relacionado com a presença de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) produzido pelas BRS, o qual pode estar promovendo o deslocamento do potencial a valores cada vez mais negativos. Ou seja, quanto maior a concentração do sulfeto (H<sub>2</sub>S), maior será a dissolução do metal. Com isto, pode-se aferir que a presença do sulfeto também influência na variação do potencial de corrosão.



Figura 29: Curva de polarização para os ensaios conduzidos com cupons de aço carbono sem revestimento em água do mar (A) – estéril, (B) – *in natura*, em função do tempo.

As curvas de polarização mostram potenciais de corrosão muito baixos e curvas anódicas que caracterizam dissolução ativa do metal. No caso das curvas anódicas *in natura* (Figura 29 B), verifica –se faixas onde não há crescimento de corrente – formando barreira mecânica forte de biofilme e produtos de corrosão.

Comparativamente, com o passar do tempo, o aço carbono na presença de bactérias apresentou um potencial de corrosão menor e uma maior densidade de corrente (Figura 29). Isto indica que, o biofilme microbiano é capaz de influenciar tanto o potencial quanto a corrente de corrosão. Mediante isto, pode-se concluir que a condição mais agressiva ao aço carbono foi em água do mar não-estéril, haja vista que os micro-organismos comprometem a estrutura do material metálico.

#### 4.3.2 - Potencial em circuito aberto

A variação do potencial de corrosão do aço carbono 1020 sem revestimento quando exposto a água do mar, com e sem micro-organismos, é mostrada na Figura 30.



Figura 30: Medida de potencial em circuito aberto do aço carbono AISI 1020 em água do mar.

O potencial de corrosão dos eletrodos de aço carbono quando em água do mar estéril sofreu um decréscimo em torno dos primeiros 5 dias, possivelmente devido à presença do íon cloreto que pode atacar superfícies metálicas. Quando uma liga como o aço carbono é imersa em água do mar, o processo de corrosão inicia instantaneamente, com um processo de liberação de íons. Com a formação do óxido metálico, e cria-se uma barreira entre o eletrodo e a água do mar, promovendo a estabilização do potencial. Neste caso, a estabilização ocorreu no 29° dia, mantendo-se constante até o final do experimento.

Podemos ainda observar que entre o 10° e 15° dia houve maior variação do potencial do experimento *in natura*, provavelmente devido ao desprendimento parcial do biofilme presente na superfície do corpo-de-prova, conforme pode ser visualizado na figura 31.



Figura 31: Sistema experimental empregado nos ensaios eletroquímicos. As setas indicam a ausência de biofilme sobre corpos-de-prova de aço carbono em função do seu desprendimento parcial.

Em seguida ocorreu a regeneração do biofilme, quando o potencial se voltou para o sentido positivo, mantendo-se constante do 29° ao 35° dia.

A Figura 32 mostra o comportamento do potencial do aço carbono, revestido com tinta a base de óxido de nióbio, quando imerso em água do mar, na presença e ausência de micro-

organismos. A variação do potencial foi similar independentemente do meio, haja visto que, a superfície metálica não estava em contato diretamente com a água do mar. A seguir, os potenciais dos corpos-de-prova, nas duas condições, se direcionam para o lado negativo do gráfico, mantendo poucas variações entre -600 e -700mV.



Figura 32: Medida de potencial em circuito aberto do aço carbono AISI 1020 com revestimento à base de óxido de nióbio em na água do mar.

É importante salientar também que os corpos-de-prova pintados expostos à água do mar não apresentaram nenhum tipo de empolamento ou enferrujamento visível, após o período de 35 dias de exposição, demonstrando a eficiência do revestimento sobre a superfície metálica, contribuindo deste modo para as poucas variações do potencial ao final do ensaio.

Também foi feito um ensaio eletroquímico com corpo-de-prova revestido e com defeito (risco), a fim de observar o seu comportamento em água do mar em condição biótica e abiótica (Figura 33). A falha no revestimento mostrou perfis dos potenciais diferentes daqueles vistos nos dos corpos-de-prova adequadamente revestidos (figura 32).

Para todos os corpos-de-prova observaram-se potenciais mais negativos, mostrando a evolução da interface metal/revestimento, e depois deslocando gradativamente para potenciais mais positivos. Verifica-se no gráfico que no decorrer do tempo, o potencial dos corpos-de-prova em condição biótica foi mais baixo (-774 mV) do que em condição abiótica (-634 mV). No

entanto os potenciais de corrosão apresentaram perfis semelhantes independentemente da condição em que os corpos-de-prova foram dispostos. Os perfis do potencial mostrado no gráfico mostram ainda que devido ao defeito superficial, o revestimento permitiu a passagem de íons, água e oxigênio (além de micro-organismos), que atingem a superfície do metal e são detectados pela variação do potencial ao longo do tempo.



Figura 33: Medida de potencial em circuito aberto do aço carbono AISI 1020 com revestimento à base de óxido de nióbio, com defeito (risco), em água do mar.

A Figura 34 mostra os corpos-de-prova imersos nos diferentes meios após 35 dias. Observou-se que nos corpos-de-prova, após este período de tempo, houve indícios de corrosão na região do corte em baixo do revestimento. Com isto, observando a figura 34 C e D, verifica-se que no meio com presença de micro-organismo obteve-se corrosão com maior intensidade.



Figura 34: Aspecto do cupom de aço carbono revestido com defeito ao final de 35 dias (A e C – meio estéril; B e D – meio não estéril).

# **CAPÍTULO 5**

# Conclusões

#### 5.1 – CONCLUSÕES

- O óxido de nióbio e a resina epoxi, constituintes do revestimento empregado na proteção do aço carbono, apresentaram efeito tóxico sobre as populações planctônicas de bactérias heterotróficas aeróbias (BHA), bactérias redutoras de sulfato (BRS) e bactérias precipitantes de ferro (BPF), enquanto as bactérias heterotróficas anaeróbias (BHAn) não foram susceptíveis;
- Houve colonização dos corpos-de-prova (CPs) de aço carbono, sem e com revestimento à base de óxido de nióbio;
- Decorridos sete dias de exposição, os números de BHA, BHAn, BPF nos biofilmes formados sobre os CPs de aço carbono com revestimento foi maior do que os determinados sobre os de aço carbono não- revestido;
- O óxido de nióbio e a resina epoxi, constituintes do revestimento empregado na proteção do aço carbono, apresentaram efeito tóxico sobre as populações planctônicas de bactérias heterotróficas aeróbias (BHA), bactérias redutoras de sulfato (BRS) e bactérias precipitantes de ferro (BPF), enquanto as bactérias heterotróficas anaeróbias (BHAn) não foram susceptíveis;
- Houve colonização dos corpos-de-prova (CPs) de aço carbono, sem e com revestimento à base de óxido de nióbio;
- Decorridos sete dias de exposição, os números de BHA, BHAn, BPF nos biofilmes formados sobre os CPs de aço carbono com revestimento foi maior do que os determinados sobre os de aço ao carbono não- revestido;
- Nos sistemas em que os CPs foram expostos à água do mar in natura e estéril se evidenciou corrosão uniforme das superfícies, sendo a formação de pites somente detectada após 28 dias;
- Os CPs apresentaram corrosão uniforme e localizada mais intensa quando imersos em água do mar in natura, demonstrando a efetiva participação dos micro-organismos na degradação do material;
- Nos ensaios eletroquímicos de polarização, as maiores densidades de corrente e os menores potenciais de corrosão na água do mar foram observados quando os CPs foram expostos à água do mar in natura, ou seja, na presença de micro-organismos;

- Poucas variações dos potenciais, medidos em circuito aberto, ocorreram ao longo do tempo, quando os CPs foram revestidos com tinta à base de óxido de nióbio e imersos em água do mar (estéril e não-estéril), com tendência para o lado negativo;
- Os CPs pintados e imersos em água do mar (estéril e não-estéril) não apresentaram nenhum tipo de empolamento ou enferrujamento visível após 35 dias de exposição;
- Os CPs revestidos com defeito (risco) apresentaram variações de potencial ao longo do tempo e indicações de corrosão embaixo do revestimento, com maior intensidade quando imersos em água do mar não estéril.

## 6 – SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a variação da comunidade microbiana na superfície do revestimento em solo;
- Determinar a ação conjunta do revestimento e proteção catódica na água do mar e no solo.
## 7 – REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. A. N.; DE FRANÇA, F. P. **Biofilm Formation on Brass Coupons Exposed to a Cooling System of an oil Refinery.** Journal of Industrial Microbiology. p. 20:39-44, 1998.

ANGELL, P. Understanding microbially influenced corrosion as biofilm-mediated changes in surface chemistry. Current Opinion in Biotechnology, v.10, p.269-272, 1999.

BARD, A.J., FAULKNER, L. R. Electrochemical Methods. John Woley, United States. 1980.

BARTON, L.L., e FAUQUE, G.D., **Biochemistry, Physiology and Biotechnology of Sulfate-Reducing Bacteria.** In: LASKIN, A.I., SARIASLANI, S., GADD G.M., (Editores). Advances in Applied Microbiology, San Diego: Academic Press; v. 68, p. 41-98, 2009.

BARTON, L. L. & TOMEI, F. A. Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria. In: BARTON, L. L.(Ed.). Sulfate-reducing bacteria. New York: Plenum Press, p. 1-32. 1995.

BATISTA, M. **Biocorrosão em umaete.** Recupera: revista do Instituto de Patologia da Construção, nov./dez. 2001.

BAUMGARTNER, R., FONTBOTÉ, L., OVTCHAROVA, M., SPIKINGS, R., and PAGE, L., 2006, 5 My of magmatic and hydrothermal activity at Cerro de Pasco, Central Peru: A 40Ar/39Ar and U/Pb geochronological study: SEG Student Conference, Keystone, 13 May 2006.

BEECH, I. B., GAYLARDE, C. C. Adhesion of Desulfovibrio desulfuricans and Pseudomonas fluorescens to mild steel surfaces. Journal of Applied Bacteriology. n. 67, p. 201-207, 1989.

BEECH, I. B. & GAYLARDE, C. C. Recent Advances in the Study of Biocorrosion, An Overview. Revista de Microbiologia, 2004.

BEECH, I. B. 2004. Corrosion of technical materials in the presence of biofilms-current understanding and state-of-the art methods of study. International Biodeterioration Biodegradation, p. 177-183.

BEER; D.; STOODLEY, P. Microbial Biofilms. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K-H.; STACKEBRANDT, E. (Ed.). The prokaryotes. 5.ed. Nova Iorque: Springer, v. 1 p. 904-937, 2006.

BOARI, C. A. Formação de biofilme em aço inoxidável por Aeromonas hydrophila e staphylococcus aureus sob diferentes condições de cultivo. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

BOFFARDI, B.P. Corrosion and Deposit Control in Mill Water Supply. Proceedings of the 1992 TAPPI Engineering Conference; TAPPI, Atlanta, Georgia, p 953, 1992

BOGAN, B.W.; LAMB, B.M.; HUSMILLO, G.; LOWE, K.; PATEREK, R.J; KILBANE II, J.J. **Development of an Environmentally Benign Microbial Inhibitor to Control Internal Pipeline Corrosion**. Gas Technology Institute, Final Report, 2004.

BUDIANSKI, N. D.; HUDSON, J. L.; SCULLY, J. R. Origens of persistent interaction among localized corrosion sites on stainless steel, Journal of the Electrochemical Society, Vol. 151, p.B223-B243, 2004

CABEÇA, T. K. Suscetibilidade de microrganismos relacionados com a contaminação de alimentos em biofilme artificial e em suspensão frente a desinfetantes. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2006. CANFIELD, D.E. Reactive iron in marine sediments. Geochimica Cosmochimica Acta, 53; p.619-632, 1989

CAPELLETI, R.V. Avaliação da atividade de biocidas em biofilmes formados a parti de fluídos de corte utilizados em usinagem de metais. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2004.

CAPRA, A.R. Desenvolvimento de intermetélicos Fe/Al através de Aspersão Térmica e tratamento posterior. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

CARDOSO, S.P. Avaliação Experimental e Teórica de Potenciais Inibidores de Corrosão para Aço em Meio Ácido. Tese de Doutorado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2005.

CARVALHO, L.J. de. Estudo do comportamento de revestimentos à base de Nióbio aplicados por Aspersão Térmica a Chama, na corrosão de aços ao carbono em presença de ácidos naftênicos e sulfetos em altas temperaturas. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2004.

CASTRO, H.F., WILLIAMS, N.H., OGRAM, A. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. Microbiology Ecology, p. 1-9, 2000.

CHAN, K.Y., XU, L.C., FANG, H.H.P. Anaerobic electrochemical corrosion of mild steel in the presence of extracellular polymeric substances produced by a culture enriched in sulfatereducing bacteria. Environmental Science Technology, v. 36, n.8, p.1720-1727, 2002.

CHARACKLIS, W. G., MARSHALL, K. C. Biofilms. John Wiley & Sons. New York. p. 796, 1990

CHEN, C. I.; MUELLER, R. GRIEBE, T. Kinetics analyses of microbial sulphate reduction by Desulfovibrio desulfuricans.in a anaerobic upflows porous media biofilm reactor, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 43, 1994.

CIUFFI, K. J.; ALFENAS, C. S.; RICCI, G. P.; FARIA, E. H.; SALTRELLI, M.; LIMA, O. J.; ROCHA, Z. N.; NASSAR, E. J.; CALEFI, P. S.; MONTANARI, L. B.; MATINS, C. H. G. **Antibacterial activity of Nb –aluminum oxide prepared by the non-hydrolytic sol-gel route**. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, p. 65-70, 2011.

COLPAERT, H., Metalografia dos produtos siderúrgicos comuns. 2a Ed. São Paulo, Engenheiro Edgard Blücher, 1965.

COSTA, A. K. S., Seleção de inibidores de corrosão para operações de acidificação. In: XXII Congresso Brasileiro de Corrosão, Salvador, 2006. COSTA, E.M. Classificação dos Aços. Disponivel em: <u>http://www.em.pucrs.br/~eleani/protegidos/classificacaoacos.ppt</u>. Acesso em: 12 jun. 2011.

COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAPPIN-SCOTT, H. M. **Microbial Biofilms**. Annual Review of Microbiology, v. 49, p.711-745, 1995.

COSTERTON, J. W. & WILSON, M. Introducing Biofilms. Biofilms, 1, p.1-4, 2004

DAVEY, M.E.; O'TOLLE, G.A. **Microbial Biofilms: from ecology to molecular genetics**. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v.64, n.4, p.847-867, 2000.

DE FRANÇA, F. P. & CRAVO Jr., W. B. 2000. Variation in sessile microflora as function of velocity on coupons exposed to seawater. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 16: 811-814. 2000.

DREESZEN, P.H. Biofilm: The Key to Understanding and Controlling Bacterial Growth in Automated Drinking Water Systems (2nd edition), Edstrom Industries Inc. (June 2003).

DUNSMORE, B; EVANS, P. Produced water re-injection and its impact on reservoir souring. 2005. Trabalho apresentado ao Produced Water Club/Nel Meeting, Aberdeen, Reino Unido, 2005. Disponivel em: <www. oilplus.co.uk/company/techpapers.htm>. Acesso em: 14 maio 2011.

EDWARDS, K. J., HU, B., HAMERS, R. J., BANFIELD, J. F. A new look at microbial leaching patterns on sulfide minerals. FEMS Microbiology Ecology. n. 34, p. 197-206, 2001.

FANG, H. H. P., XU L. C. & CHAN, K. Y. Effects of toxic metals and chemicals on biofilms and biocorrosion. Water Research, p.4709-4716, 2002.

FASSARELA, M.; SERVULO, E.F.C.; CAMMAROTA, M.C. Ação do Glutaraldeído em biofilmes marinhos. COTEQ, 2007.

FAUQUE, G. **Ecology of sulfate-reducing bacteria**. In: BARTON, L. L.(Ed.). Sulfatereducing bacteria. New York: Plenum Press, cap. 8, p. 217-242, 1995.

FERREIRA, C. A. M. Estudo da corrosão pelo solo – avaliação da corrosividade de amostras de solo do Continente Antártico e da Região Sudeste do Brasil. 2005. 124p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais COPPE/UFRJ) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

FLEMMING, H. C. Biofouling and microbiologically influenced corrosion (MIC) – an economical and technical overview. In: E. Heitz, W. Sand and H.-C. Flemming (eds.) Microbial Deterioration of Materials, Springer, Heidelberg, p. 5-14, 1996.

FONTANA, M. G., GREENE, N. D., Corrosion Engineering. New York, Mc Graw-Hill, 1978.

FREIRE, C. Corrosão metálica. UNICAMP, 1997.

GALUSHKO, A., MINZ, D., SCHINK, B., e WIDDEL, F., Anaerobic degradation of naphthalene by a pure culture of a novel type of marine sulphate-reducing bacterium. Environmental Microbiology. v. 1, n. 5, p. 415-420, 1999.

GALVÃO, M. M. Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

GENTIL, V. Corrosão. 5ªed. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 2007.

GEORGE, R. P., MARSHALL, D. & NEWMAN, R. C. Mechanism of a MIC probe. Corrosion Science, p. 2003-2015, 2003

GHIGO, J. M. Are there biofilm-specific physiological pathways beyond a reasonable doubt? Res Microbiol. 154(1):1-8, 2003.

GONÇALVES, N.J. Potencialidade do tratamento por choque com biocidas na remoção e/ou formação de biofilmes. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2002.

GONÇALVES, N.J.; FRANÇA, F.P.; SÉRVULO, E.F.C. Evaluation of commercial biocides efficacy on biofilm during shock treatment. In: **5° Congreso de Corrosión de la NACE región latinoamerica**, Santiago. LATINCORR 2003, p. 894-899, 2003.

GONZÁLEZ, J. E. G., SANTANA, F. J. H. & MIRZA-ROSCA, J. C. Effect of bacterial biofilm on 316 ss corrosion in natural seawater by eis. Corrosion Science, p.2141-2154, 1998.

HAMILTON, W.A. Role of Sulfate-reducing bacteria in corrosion of mild steel: A review. Biofouling, v.8, p.165-194, 1995.

HASSELMANN, L. B.; LETICHEVSKY, S. Corrosão Microbiológica em Adutora de Aço Carbono. Coletânea do I Encontro de Corrosão e Proteção Argentino Brasileiro, 1988.

HARRISON JR., A. P. Microbial sucession and mineral leaching in a artificial coal spoil. Applied and Environmental Microbiology, v.131, p.68-76, 1982.

HOLT, J. G et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Editor 9 th ed., John G. Holt, Editor – in- Chief. Williams & Wilkins Baltimore, London, 1994.

IST. Grupo de Ciências Biológicas do Instituto Superior Técnico. Universidade Técnica de Lisboa. **Crescimento microbiano em biofilmes.** Publicado em 18/11/2005, Revisto em 03/04/2008. Disponível em <a href="http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=354">http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=354</a>>. Acessado em 02 de março 2011.

JACK, T.R., WORTHINGHAM, R.G., FERRIS, F.G. - **External Corrosion of Line Pipe Under Disbonded Coatings**; Field Observations and Mechanistic Studies - Microbially Influencied Corrosion and Biodeterioration Editors: Dowling et al, USA, 1992.

JACOBS, M. B.; BRAVERMAN, M. M. ;HOCHEISER, S. Ultramicrodetermination of sulfides in air. Analytical Chemistry, v. 29, p. 1349-1351, 1957.

JAIN, D. K. Microbial colonization of the surface of stainless steel coupons in a deionized water system. Water Research. v. 29, n. 8, p. 1869-1876, 1995.

JANNING, K.F.; BAK, S.N.; ANDERSEN, M.; KRISTENSEN, G.H. **High biofilm activity under increased oxygen concentrations in a pressurized system**. Water Science & Technology, v.52, n.7, p.69-75, 2005. JAVAHERDASHTI, R., RAMAN, R.K.S., PANTER, C., e PARELOMA, E.V., Microbiologically assisted stress corrosion cracking of carbon steel in mixed and pure cultures of sulfate reducing bacteria. International Biodeterioration e Biodegradation. 2006.

JENNEMAN GE., MCINERNEY MJ. and KNAPP RM. Effect of nitrate on biogenic sulfite production. Appl. and Environ. Microbiol, p.1205-1211, 1986.

JONES, J. G., W. DAVISON, AND S. GARDENER. Iron reduction by bacteria: range of organisms involved and metals reduced. FEMS Microbiol. Lett, P.133-136, 1984.

JONES, D. A. **Principles and prevention of corrosion**, 2° edição, Prentice Hall do Brasil Ltda, Rio de Janeiro, 1996.

KELLY, D.P. and WOOD, A.P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus gen. nov.*, *Halothiobacillus gen. nov.* and *Thermithiobacillus gen. nov.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 50, p. 511-516, 2000.

KERESZTES, Z., FELHOSI, I. & KÁLMÁN E. Role of redox properties of biofilms in corrosion processes. Electrochimica Acta, v.46, p.3841-3849, 2001.

KINZLER, K., T. GEHRKET, J. TELEGDI and W. SAND. **Bioteleaching-a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS) hydrometallurgy**, 71, p.83-88, 2003.

KNIEMEYER, O.; MUSAT, F.; SIEVERT, S.M.; KNITTEL, K.; WILKES, H.; BLUMENBERG, M.; MICHAELIS, W.; CLASSEN, A.; BOLM, C.; JOYE, S.B.; WIDDEL, F. **Anaerobic oxidation of short-chain hydrocarbons by marine sulphate-reducing bacteria**. Nature, v.449, p.898-901, 2007.

KUANG, F., WANG, J., YAN, L., ZHANG, D. Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of cabon steel. Eletrochimica Acta. p. 6084-6088, 2007.

LAANBROEK, H.J., GEERLIGS, H.J., SIJTSMA, L., e VELDKAMP, H., Competition for Sulfate and Ethanol Among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, and *Desulfovibrio* Species Isolated from Intertidal Sediments. Applied And Environmental Microbiology. v. 47, N. 2, p. 329-334, 1984

LARKIN, J.M. & STROHL, W.R. Beggiatoa, Thiothrix, and Thioploca. Annual Review of Microbiology, v.37, p. 341-367, 1983.

LENS, P. N. L.; VISSER, A.; JANSEN, A. J. H.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. **Biotechnological treatment of organic sulphate-rich wastewaters**. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, v. 28, n. 1, p. 41-88, 1998.

LEWANDOWSKY, Z., STOODLEY, P. & ROE, F. Internal mass transport in heterogeneous biofilms: recent advances. Corrosion, paper 222, Texas (NACE), 1995

LIAMLEAM, W.; ANNACHHATRE, A. P. Electron donors for biological sulfate reduction. Biotechnology Advances, v. 25, n. 5, p. 452-463, 2007.

LITTLE, B. J., RAY, R., HART, K. & WAGNER, P. Fungal-induced corrosion of wire pipe. Materials Performance, p.55-58, october, 1995 LITTLE, B.; WAGNER, P. Myths Related to Microbiologically Influenced Corrosion. Material Performance. Vol. 36. p.40-44, 1997.

LITTLE, B.; STAEHLE, R.; DAVIS, R. **Fungal influenced corrosion of post-tensioned cables.** International Biodeterioration & Biodegradation, v.47, p.71-77, 2001.

LIU, Y., WANG, Q., SONG, Y., ZHANG, D., YU, S., e ZHU, X. A study on the corrosion behavior of Ce-modified cast AZ91 magnesium alloy in the presence of sulfatereducing bacteria. Journal Of Alloys And Compounds. 2008.

LUTTERBACH, M. T. S.; DE FRANÇA, F. P. **Biofilm Formation on Brass Coupons Exposed to Corrosion Water.** Brasilian Journal of Chemical Engineering, v. 14, p. 81-87, 1997.

MA, H. The influence of hydrogen sulfide on corrosion of iron under different conditions. Corrosion Science, v.42, n.10, p.1669-1683, 2000.

MACEDO, J. A. B. MILKNET. **Biofilmes Bacterianos**: Uma Preocupação Para a Indústria de Alimentos, 2006. Disponível em<www.milknet.com.br>. Acessado em 30 de março 2011.

MADIGAN TM, MARTINKO JM, PARKER JB. **Biología de los microorganismos**. 10.ª ed. Madrid: Perason-Prentice Hall; 2006.

MADIGAN T.M., MARTINKO JM, DUNLAP, P.V., CLARK D.P. Microbiologia de Brock. 12.ª ed. Porto Alegre: Artmed: 2010.

MAINIER, F.B. **Curso de Corrosão e Inibidores**. Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, ABRACO. Porto Alegre, 2005.

MAREK, M.I. Fundamentals of Corrosion: Introduction, ASM Handbook, 4<sup>a</sup> ed.: Corrosion, v. 13, 1992.

MATIAS, P.M.; PEREIRA, I.A.C.; SOARES, C.M.; CARRONDO, M.A. Sulphate respiration from hydrogen in Desulfovibrio bacteria: a structural biology overview. Progress in Biophysics and Molecular Biology, v.89, p. 292-329, 2005.

MENESES, D.L.F.; LEITE, S.G.F.; NEVES, M.H.B.; MIRANDA, L.R.M. Avaliação morfológica do efeito da ação de micro-organimos em superfícies em aço carbono. Revista Analytica, n.52, p.78 – 85 abril/maio, 2011

MERÇON, F.; GUIMARÃES, P. I. C.; MAINIER, F. B. Sistemas Experimentais para o Estudo da Corrosão em Metais. Química Nova na Escola, n.19, p. 11 – 14, 2004.

MIRANDA, L. R. M.; CARVALHO, L. J.; A.C.G. PEREIRA. Niobium Based Paints and Coatings, its Oxides and Anticorrosive Use. Uneted States Patent. Pat n. 6.992.126 B2, jan. 31, 2006.

MORTON, L. H. G., GREENWAY, D. L. A., GAYLARDE, C. C. & SURMAN, S. B.. Consideration of some implications of the resistance of biobilms to biocides. International Biodeterioration Biodegradation, p.247-259, 1998

MOSTELLER, T. M., BISHOP, J. R., Sanitizer efficacy against attached bacteria in a milk biofilm. Journal of Food Protection, Des Moines, v.56, n.1, p.34-41, 1993.

MUYER, G. & STAMS, A. J. M. The ecology and biotechnology of sulphatereducing bacteria. Nature, 2008.

Norma NACE RP-07-75. Standard recommended practice, preparation, installation, analysis and interpretation of corrosion coupons in oilfield operations. 1999.

NAGIUB, A. & MANSFELD, F.. Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition (MICI) with EIS and ENA. Electrochimica Acta, p. 2319-2333, 2002

NATISHAN, P. M., JONES-MEEHAN, J., LOEB, G. I., LITTLE, B. J., RAY, R. & BEARD, M. Corrosion behavior of some transition metals and 4340 steel metals exposed to sulphate-reducing bacteria. Corrosion, p.1062-1068, 1999.

NEALSON, K. H.. **Microbial oxidation and reduction of manganese an iron**, p. 459 – 479. In P, Westbroek and de Jong, E.W. [eds], Biomineralization and biological metal Acumulation, 1983.

NUNES, L.P. Fundamentos de Resistência à Corrosão. 1ª ed. Interciência, Rio de Janeiro. 2007

NUNES, L. P. ; LOBO, A. C. O. Pintura Industrial na proteção anticorrosiva – 2ed – interciencia, Rio de Janeiro, 1998.

NUNES, N. V., **Pintura industrial aplicada**, Maity Comunicação e Editora LTDA, São Paulo, 1990.

ORNEK, D., WOOD, T. K., HU, C. H. & MANSFELD, F. Corrosion control using regenerative biofilms (CCURB) on brass in different media. Corrosion Science, p.2291-2302, 2002.

OTTOW, J. C. G., AND A. VON KLOPOTEK. Enzymatic reduction of iron oxide by fungi. Appl. Microbiol. 18: 41-4J, 1969.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H., MAAS, R.N., HARMSEN, H.J.M., e STAMS, A.J.M., *Desulforhabdus amnigenus* gen. nov. sp. nov., a sulfate reducer isolated from anaerobic granular sludge. Archives In Microbiology. v. 164, p. 119-124, 1995.

PANOSSIAN, Z, Corrosão e proteção contra corrosão em equipamentos e estruturas metálicas. Vol. 2. 1a ed. São Paulo, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1993.

PARIZZI, S. Q. F., et al. Bacterial adherence to different inert surfaces evaluated by epifluorescence microscopy and plate count method. Brazilian Archives of Biology Technology. Mar. 2004, vol.47, no.1, p.77-83. ISSN 1516-8913. 2004.

PERCIVAL, S. L. **Review of potable water biofilms in engineered systems**. British Corrosion Journal. v. 33, n. 2, p. 130-137, 1998.

POSTGATE, J. R. The sulphate-reducing bacteria. 2. ed. Cambridge: University Press, p.209, 1984.

POURBAIX, M. Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions. Houston: NACE, 1974.

QUELHAS, K. A. S. **Estudo da Corrosão do Nióbio em Meio Metanólico**. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

RABUS, R., HANSEN, T.A., e WIDDEL, F., **Dissimilatory Sulfate- and Sulfur- Reducing Prokaryotes**. In: DWORKIN, M., FALKOW, S., ROSENBERG, E., SCHLEIFER, K., e STACKEBRANDT, E., (Editores). The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. 3a. ed. New York, NY: Springer Science+business Media, Llc; 2006, v. 2, p. 659-768, 2006 RAJASEKAR, A.; MARUTHAMUTHU, S.; MUTHUKUMAN, W.; MOHANAN, S.; SUBRAMANIAR, P.; PALANISWAMY, N. Bacterial degradation of naphtha and its influence on corrosion. Corrosion Science, v.47, p.257-271, 2005.

ROCHA, S. M. S. Avaliação da utilização de nitrato por cultura mista enriquecida com bactérias redutoras de sulfato (BRS) em efluente contendo sulfato. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.

RODRIGUES, T. C. Efeito do Potencial de Proteção Catódica Sobre a Biocorrosão de Aço-Carbono em Solo Contendo BRS. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) –Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SANTANA, R.A.C.; PRASAD, S.; SANTANA, F.S.M. Revestimento eletrolítico com uma liga amorfa de Ni-W-B, resistente à corrosão e ao desgaste. Eclética Química, p.69-76, 2003.

SCHMUKI, P.; HILDEBRAND, H.; FRIEDRICH, A; VIRTANEN, S. The composition of the boundary region of MnS inclusions in stainless steel and its relevance in triggering pitting corrosion, Corrosion Science, Vol.47, p.1239-1250, 2005

SCULLY, J.C. The Fundamentals of Corrosion. 3. ed. Pergamon Press, p.177-97,1990.

SILVA JR, C., SANCHES, P. S. B. & SASSON, S. 1997. A corrosão e como evitá-la. Tradução do livro Corrosion Chemistry Background Book, Longmans/Penguin Book, 1968. Disponível em <u>http://www.editorasaraiva.com.br/eddid/ciencias/biblioteca/artigos/corrosao.html</u>. Acesso em 2 de jun de 2011.

SILVA, R. P. C. Ação do Biocida THPS sobre micro-organismos associados à corrosão de aço carbono em água de produção. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos

Químicos e Bioquímicos) Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

SILVA, S.Q. Isolamento e Identificação de Bactérias Redutoras do Íon Sulfato (BRS) Oriundas de Campos de Exploração e Condução de Petróleo. Dissertação (Mestre) -Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

SODRÉ, C. J. S. Estudo do efeito microbiano sobre a corrosão do aço-carbono 1020 em meio marinho anaeróbio. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 1996.

SOUZA, M.O.; SÉRVULO, E.F.C.; FRANÇA, F.P. Evaluation of THPS Biocide efficacy on biofilm control at different exposure times. 16<sup>th</sup> International Corrosion congress, 2005.

STAROSVETSKY, D., ARMON, R., YAHALOM, J. & STAROSVETSKY, J. **Pitting corrision** of carbon steel caused by iron bacteria. International Biodeterioration Biodegradation, p.79-87, 2001.

STEWART P.S., COSTERTON J.W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet. V.358: p. 135-8, 2001.

TANG, K.; BASKARAN, V.; NEMATI, M. Bacteria of the sulphur: an overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. Biochemical Engineering Journal, v. 44, n. 1, p. 73-94, 2009.

TICIANELLI, E. A., GONZALEZ, E. R., **Eletroquímica**. 1a ed., São Paulo, Edusp – Editora da Universidade de São Paulo, 2005

TREVORS, J. T., COTTER, C. M. Copper toxicity and uptake in microorganisms. Review. Journal of Industrial Microbiology. n. 6, p. 77-84, 1990.

TORRES, E.S. **Cinética de parâmetros microbiológicos na formação de biofilmes**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímico, 2001.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; NORDE, W.; LYKLEMA, J.; ZEHNDER, A. J. B. Hydrophobic and electrostatic parameters in bacterial adhesion. Aquatic Science, p.103-114, 1990.

VON WOLZOGEN KÜHR, G.A.H.; VAN DER VLUGT, L.R. Corrosion, v.17, p.293, 1961.

VIDELA, H.A. **Fundamentals of Electrochemistry**. In: Manual of Biocorrosion. CRC Lewis Publishers, Boca Raton, FL. p.75, 1996

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 & HERRERA, L.K. J. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. International Microbiology. Vol. 8, p. 169-180, 2005.

WARSCHEID, T.H.; BRAAMS, J. **Biodeterioration of stone: a review.** International Biodeterioration & Biodegradation, v.46, p.343-368, 2000.

WOLYNEC, S. Técnicas Eletroquímicas em Corrosão. Editora USP, São Paulo, 2003.

www.cimm.com.br [Acesso em 20 de abril de 2011]

www.engesoftware.eng.br [Acesso em 20 de abril de 2011]

www.icz.org.br/latingalva [Acesso em 26 de abril de 2011]

ZOTTOLA, E.A.; SASAHARA, K.C. **Microbial biofilms in the food processing industryshould they be a concern?** International Journal of Food Microbiology, v. 23, n. 2, p. 125-148, 1994.

## 7 – ANEXOS

## 7.1 Curva – Padrão de Sulfeto





## 7.2 Curva de decapagem ao aço carbono na solução de Clark