



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Tecnologia e Ciências
Instituto de Química

Mariana Silva de Paula

Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em água do mar sintética na presença de bactérias redutoras de sulfato

Rio de Janeiro

2010

Mariana Silva de Paula

Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em água do mar sintética na presença de bactérias redutoras de sulfato



Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos e Meio Ambiente

Orientador: Lilian Ferreira de Senna

Dalva Cristina Baptista do Lago

Rio de Janeiro

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

P324 Paula, Mariana Silva de.
Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em
água do mar sintética na presença de bactérias redutoras de sulfato. /
Mariana Silva de Paula. - 2010.
105 f.

Orientador: Lilian Ferreira de Senna
Orientador: Dalva Cristina Baptista do Lago.
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de
Janeiro, Instituto de Química.

1. Corrosão - Teses. 2. Microbiologia – Teses. 3. Bactérias
anaeróbias – Teses. 4. Aço-carbono – Teses. I. Senna, Lilian Ferreira
de. II. Lago, Dalva Cristina Baptista. III. Universidade do Estado do
Rio de Janeiro. Instituto de Química. IV. Título.

CDU620.193

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
tese.

Assinatura

Data

Mariana Silva de Paula

Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em água do mar sintética na presença de bactérias redutoras de sulfato

Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos Químicos e Meio Ambiente

Aprovado em 02 de setembro de 2010.

Banca examinadora:

Prof^a. Dra. Lilian Ferreira de Senna (orientadora)
Instituto de Química - UERJ

Prof^a. Dra. Dalva Cristina Baptista do Lago (orientadora)
Instituto de Química - UERJ

Prof^a. Dra. Márcia Monteiro Machado Gonçalves
Instituto de Química - UERJ

Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa
Instituto de Química - UERJ

Prof^a. Dra. Simone Louise Delarue Cezar Brasil
Escola de Química - UFRJ

Rio de Janeiro

2010

A minha mãe Bia, meu pai João (*in memória*),
minha irmã Viviane e a meu primo Roberto.

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras Prof^a. Dra. Lilian de Ferreira Senna e Prof^a. Dra. Dalva Cristina Baptista do Lago pelo carinho e dedicação ao longo da dissertação de mestrado, pelo incentivo e sugestões dadas, pela paciência e pela presença.

À Prof^a. Dra. Márcia Monteiro Machado Gonçalves pela contribuição no trabalho, pelo carinho, pelos bons momentos de descontração e atenção.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa por ceder seu laboratório para os ensaios microbiológicos, pelo carinho e atenção.

À Prof^a. Dra. Simone Louise Delarue Cezar Brasil pelos ensinamentos passados nas aulas de corrosão e por fazer parte da banca.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Aos colegas de laboratório – LEC – pela ajuda, pelos momentos de descontração e companheirismo. Agradeço em especial aos técnicos Antonio de Castro e Camilla Vianna.

Ao amigo da pós-graduação Márcio Franklin pela ajuda nos ensaios de corrosão, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura, pelo carinho e dedicação.

Aos colegas da pós-graduação 2008/2009, Arnaldo, Adriana, Igor, Ingrid, Graciane e Pablo. Em especial as biólogas Andréia, Antônia e Denise. Agradeço pela união e amizade, pelas horas de descontração, pelo incentivo e por compartilharem todos os momentos de dificuldades.

À técnica Márcia Carreira do laboratório de bioprocessos e a técnica Flávia do departamento de tecnologia de processos bioquímicos.

Ao laboratório de química analítica pelas análises de difração de raios-X.

À estagiária Monick Cruz pela amizade, entusiasmo, dedicação e ajuda na reta final do trabalho.

Às alunas de graduação Rachel Luiza e Ana Cristina pela inestimável ajuda na confecção dos corpos de prova.

Ao colegiado do PPGEQ pelos ensinamentos transmitidos.

Às minhas amigas, Laisa, Janaína e Juçara por sempre acreditarem em mim e por entenderem a minha ausência ao longo do mestrado.

Aos meus amigos da graduação, Alíria, Consuelo, Fabiano, Fábio, Sheila e Sueli por sempre me incentivarem.

À minha família pelo apoio, ensinamentos e sabedoria.

À minha madrinha Kátia por todo o amor.

Ao meu namorado Marcelo por acreditar em mim, pelo seu apoio, amor e compreensão.

E a todos aqueles que de alguma forma passaram pela minha vida, sempre me incentivando e apoiando neste trabalho.

RESUMO

PAULA, Mariana Silva. *Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em água do mar sintética na presença de bactérias redutoras de sulfato*. 2010. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

Bactérias redutoras de sulfato (BRS) possuem um papel importante na corrosão de ligas metálicas expostas em habitats marinhos, óleos e solos úmidos. A redução do sulfato por estas bactérias resulta na produção de H_2S , podendo influenciar os processos anódico e catódico na corrosão de materiais. Neste trabalho, o comportamento da corrosão microbiológica no aço carbono AISI 1020 foi avaliada em meio Postgate C, na presença e na ausência de BRS, as quais foram isoladas da camada de ferrugem presente numa tubulação submersa da Baía de Guanabara – RJ. A taxa de corrosão e o comportamento eletroquímico do aço nas duas condições foram investigados através dos métodos de perda de massa e de polarização potenciodinâmica. A formação do biofilme e dos produtos de corrosão na superfície do aço foram observados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Em complementação, foi realizada a quantificação das BRS (planctônicas e sésseis) pelo método do número mais provável (NMP). A presença de BRS no meio ocasionou o deslocamento do potencial de corrosão para valores mais negativos em todos os tempos de ensaio estudados, indicando um aumento no processo corrosivo. Nos ensaios de perda de massa, a taxa de corrosão do aço carbono foi maior na ausência de BRS, provavelmente devido à formação de um biofilme na superfície do metal nos ensaios com inóculo, e a uma menor tendência de haver corrosão generalizada neste tipo de meio. As micrografias de MEV revelaram a presença de agregado celular na superfície do aço carbono durante o experimento, e a presença de pites profundos após remoção do biofilme, mostrando prevalência deste tipo de corrosão. Com 35 dias de ensaio, a densidade de corrente de corrosão aumentou na presença de BRS.

Palavras-chave: corrosão microbiologicamente induzida; bactérias redutoras de sulfato; polarização

ABSTRACT

Sulfate-reducing bacteria (SRB) play an important role in the corrosion of alloys exposed in marine habitats, wet soils and oils. The sulfate reduction by these bacteria results in production of H_2S , which may influence processes in the anodic and cathodic corrosion of materials. In this work, the behavior of microbial corrosion in carbon steel AISI 1020 was evaluated in Postgate C medium, in the presence and absence of SRB, which were isolated from a layer of rust on a pipeline submerged in Guanabara Bay - Rio de Janeiro. The corrosion rate and the electrochemical behavior of steel in the two conditions were investigated by weight loss and potentiodynamic polarization methods. Biofilm formation and corrosion products on the steel surface were observed by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectroscopy (EDS). In addition, the quantification of BRS (planktonic and sessile) was carried out by the most probable number method (MPN). The presence of SRB in the medium caused the shift of corrosion potential to more negative values in all experimental times studied, indicating an increase in corrosion. In the weight loss tests, the corrosion rate was higher in the absence of BRS, probably due to the formation of a biofilm on the metal surface in the tests with inoculum, and to a smaller trend of general corrosion with this kind of medium. SEM micrographies revealed the presence of cellular aggregates on the surface of mild steel during the experiment and the presence of deep pittings after the biofilm removal, showing that this kind of corrosion was prevalent. With 35 days of assays, the corrosion current density increased in the presence of BRS.

Keywords: microbiologically induced corrosion, sulfate-reducing bacteria; polarization

SUMÁRIO DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representativo da corrosão uniforme e por pites	11
Figura 2: Representação das etapas de formação de biofilme	13
Figura 3: Representação do metabolismo das BRS	20
Figura 4: Ciclo redox do enxofre	21
Figura 5: Bioquímica da redução de sulfato	22
Figura 6: Transporte de elétrons e conservação de energia nas BRS	23
Figura 7: Diagrama esquemático de uma superfície catódica em um processo de corrosão anaeróbica	25
Figura 8: Biocorrosão por aeração diferencial	27
Figura 9: Curvas de polarização catódica e anódica	33
Figura 10: Corpos de prova utilizados nos ensaios de imersão total e quantificação celular	39
Figura 11: Tubulação com produtos de corrosão	39
Figura 12: Reatores utilizados nos ensaios de perda de massa	43
Figura 13: Reatores representativos do ensaio de polarização	43
Figura 14: Exemplificação do método de quantificação por NMP	46
Figura 15: Célula de ensaio contendo os três eletrodos	48
Figura 16: Colonização de BRS planctônicas ao longo de 35 dias de ensaio	50
Figura 17: Colonização de BRS sésseis ao longo de 35 dias de ensaio	52
Figura 18: Variação do pH do meio de acordo com o tempo de imersão	53
Figura 19: Variação da média da taxa de corrosão ao longo de 35 dias	55
Figura 20: Superfície dos corpos de prova de aço carbono 1020	57
Figura 21: Variação média do potencial de corrosão no aço carbono 1020 com e sem BRS em função do tempo de imersão	59
Figura 22: Curvas de polarização do aço carbono 1020 no meio Postgate C na ausência e presença de BRS	61
Figura 23 – Variação média da densidade de corrente de corrosão com o tempo (dias)	63
Figura 24: Difratoograma do aço carbono 1020	65

- Figura 25: Microscopia do biofilme formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 153X
67
- Figura 26: Microscopia do biofilme formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 993X
68
- Figura 27: Microscopia do biofilme formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 5.030X
68
- Figura 28: Espectro de EDS formado na superfície do aço carbono 1020 com 35 dias de
exposição na presença de BRS 69
- Figura 29: Microscopia do biofilme (verso do corpo de prova) formado com 35 dias de
ensaio. Aumento de 5.000X 70
- Figura 30: Microscopia do aço carbono após a remoção do biofilme. Aumento de 310X
70
- Figura 31: Microscopia do aço carbono após a remoção do biofilme. Aumento de 1000X
71
- Figura 32: Microscopia do aço carbono após a remoção do biofilme. Aumento de 4000X
71

SUMÁRIO DE TABELAS

Tabela 1: Composição do meio Postgate C para crescimento microbiano	40
Tabela 2: Composição da água do mar sintética	41
Tabela 3: Composição da solução de diluição	44
Tabela 4: Composição do meio Postgate E para quantificação microbiana	45
Tabela 5: Classificação da corrosividade em função da taxa de corrosão.	47
Tabela 6: Parâmetros eletroquímicos do aço carbono 1020 na presença e ausência de BRS	64

LISTA DE SÍMBOLOS

AFS	Adenosina fosfosulfato
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
BRS	Bactéria redutora de sulfato
CMI	Corrosão microbiologicamente induzida
DRX	Difração de raios X
E_{corr}	Potencial de corrosão
ECS	Eletrodo de calomelando saturado
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva de raios X
E_{H}	Potencial redox
EPH	Eletrodo de Hidrogênio
Fe^{2+}	Íon ferroso
Fe^{3+}	Íon férrico
$\text{Fe}(\text{OH})_3$	Hidróxido férrico
FeS	Sulfeto de ferro II (Troilita)
FeS_2	Sulfeto de ferro (Pirita)
$\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de ferro hexa-hidratado
H_2S	Ácido sulfídrico
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
MCVL	Microscopia confocal por varredura a <i>laser</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MEV PV	Microscopia eletrônica de varredura de pressão variável
MFA	Microscopia de força atômica
NMP	Número mais provável
PC	Proteção catódica
SO_3^{2-}	Íon sulfito
SPE	Substância polimérica extracelular

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	3
Objetivos	4
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
1.1 Aspectos gerais da corrosão	6
1.2 Casos de corrosão em materiais não-metálicos	8
1.3 Corrosão microbiológica	9
1.3.1 Formas de corrosão microbiológica	10
1.4 Biofilmes	12
1.5 Micro-organismos envolvidos na CMI	14
1.5.1 Algas	15
1.5.2 Fungos	15
1.5.3 Bactérias	16
1.5.3.1 <i>Pseudomonas</i>	16
1.5.3.2 Bactérias oxidantes de ferro	16
1.5.3.3 Bactérias oxidantes de enxofre	17
1.5.3.4 Bactérias redutoras de sulfato	18
1.6 Mecanismos envolvidos na biocorrosão	24
1.6.1 Despolarização Catódica.....	24
1.6.2 Criação de células de aeração diferencial.....	26
1.6.3 Produção de substâncias corrosivas	27
1.8 Métodos de monitoramento da biocorrosão	28
1.8.1 Métodos microbiológicos	28
1.8.2 Métodos de avaliação qualitativa e semi-quantitativa da CMI	29
1.8.3 Métodos físico-químicos	30
1.8.4 Métodos de engenharia de corrosão	30
1.8.4.1 Métodos eletroquímicos	30
1.8.4.2 Métodos dos cupons de perda de massa.....	33
1.9 Métodos de prevenção e mitigação da biocorrosão	34
1.9.1 Limpeza mecânica	35

1.9.2 Seleção de materiais.....	35
1.9.3 Revestimentos.....	36
1.9.4 Limpeza química.	36
1.9.5 Proteção catódica.....	36
1.9.6 Biocidas.....	37
2. MATERIAIS E MÉTODOS	38
2.1 Preparação dos eletrodos de trabalho (corpos-de-prova).....	38
2.2 Meio de cultura e fluido do processo	39
2.3 Sistema reator para os ensaios de CMI.....	42
2.4 Quantificação das células	44
2.5 Ensaios de imersão total (perda de massa) e taxa de corrosão.....	45
2.5.1 - Avaliação do aspecto dos corpos de prova.....	47
2.6 Ensaios de polarização.....	47
2.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS).....	48
2.8 Análise de difração de raios X	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.1 Avaliação do Crescimento Microbiano.....	50
3.2 Ensaios de Imersão Total dos Cupons Metálicos	54
3.3 Análises eletroquímicas	59
3.3.1 Potencial de corrosão.....	59
3.3.2 Curvas de polarização anódica e catódica com parâmetros eletroquímicos	61
3.4 Análises de difração de raios X (DRX).....	64
3.5 Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e micro-análise por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS)	66
4. CONCLUSÕES	73
4.1 Sugestões para trabalhos futuros	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXO.....	82

INTRODUÇÃO

As bactérias estão distribuídas na natureza de forma ampla e apresentam tendência em aderir a superfícies que ofereçam condições favoráveis ao seu desenvolvimento. A interação de bactérias com superfícies metálicas resulta na formação de biofilmes, que podem afetar severamente a cinética de reações catódicas e/ou anódicas de um processo corrosivo (XU *et al.*, 2007).

A corrosão microbiologicamente induzida (CMI), também chamada biocorrosão, é um processo eletroquímico de dissolução metálica iniciada ou acelerada por micro-organismos e por suas atividades metabólicas (VIDELA, 2003). Uma parte significativa deste processo deve-se à corrosão influenciada por bactérias redutoras de sulfato (BRS).

As BRS são o principal grupo de micro-organismos envolvido nos casos de biocorrosão, seja pela produção de metabólitos corrosivos ou pelo mecanismo de despolarização catódica, acelerando a reação anódica no substrato (VIDELA, 2003). Estas bactérias causam corrosão em estruturas metálicas, revestimentos de poços petrolíferos, partes externas de tubulações enterradas, poços de água profundos, sistemas de resfriamento, dentre outros (GENTIL, 2007).

A presença de BRS em ambientes marinhos, contendo derivados de petróleo, detectada em 1926, foi rapidamente reconhecida como responsável pela produção do gás sulfeto de hidrogênio (H_2S), que é tóxico e corrosivo ao ambiente (MIRANDA *et al.* 2006). A formação intensiva de H_2S em reservatórios de petróleo tem se tornado um dos maiores problemas na indústria petrolífera devido ao aumento do uso da água do mar como meio de recuperação secundária de petróleo (PENNA *et al.*, 2003). Geralmente nestes casos, nota-se o odor característico do gás sulfídrico na água do mar, observando-se também a corrosão de equipamentos. Além disso, este gás pode agir diretamente como agente corrosivo ou reagir com os componentes do petróleo formando sulfetos orgânicos altamente corrosivos (GENTIL, 2007).

Em ambiente marinho de águas profundas, a CMI ocorre em condições muito específicas, sendo caracterizada, principalmente, pela ausência de O_2 , pela presença de gases como CO_2 e H_2S e grande quantidade de cloretos dissolvidos na água

(MARIANO *et al.*, 2006). A forma de corrosão gerada é, na maioria das vezes, do tipo localizada, altamente perigosa, já que sua detecção é difícil (MARANGONI, 2010).

Vários mecanismos foram descritos para explicar a contribuição das BRS nos processos de corrosão, tais como: despolarização catódica, formação de células de aeração diferencial, produção de sulfeto e substâncias poliméricas extracelulares (SPE). Uma grande variedade de técnicas microscópicas e eletroquímicas foram revistas por diversos autores em relação a sua utilização na avaliação da biocorrosão (BEECH e GAYLARDE, 1999). Além disso, o isolamento e a identificação de micro-organismos envolvidos na CMI de metais constituem importantes ferramentas para o entendimento do processo.

Entretanto, é necessário ter atenção com a interpretação dos dados fornecidos pelos métodos eletroquímicos, porque a CMI raramente é interpretada por um único mecanismo, ou raramente é causada por uma única espécie de micro-organismos (MIRANDA *et al.*, 2006). Graças à interação de áreas tão díspares como a microbiologia, a eletroquímica e a ciência dos materiais é que os processos de CMI vêm sendo melhor compreendidos.

Dessa forma, faz-se necessário, cada vez mais, estudar o comportamento das BRS na corrosão de aços a fim de evitar os danos causados por este tipo de corrosão ou buscar alternativas para diminuir o custo com a manutenção de equipamentos em ambientes tão agressivos.

Objetivos

O objetivo geral do trabalho foi avaliar o processo de corrosão microbiológica do aço carbono 1020, em água do mar sintética, em condições de anaerobiose, na presença e na ausência de BRS, apresentando como objetivos específicos:

- Avaliar a ação de uma população de BRS, isoladas de uma tubulação submersa na Baía de Guanabara, na corrosão do aço carbono em água do mar sintética através de curvas de polarização e perda de massa;

- Correlacionar parâmetros como pH e crescimento microbiano com a taxa de corrosão do material metálico;
- Qualificar os produtos de corrosão através de análises de difração de raios X (DRX) e espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS);
- Examinar a formação do biofilme aderido à superfície do metal e, posteriormente, a presença de pites após a remoção destes biofilmes, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

O presente trabalho visa contribuir para um maior entendimento do processo de corrosão microbiológica do aço no meio em questão. Assim, no Capítulo 2 deste trabalho será apresentado o levantamento bibliográfico a respeito da atuação das BRS na corrosão microbiológica do aço carbono 1020, das técnicas utilizadas para monitorar a corrosão, além das técnicas de mitigação utilizadas no combate a CMI. No Capítulo 3 serão apresentadas as metodologias experimentais utilizadas nas análises microbiológicas e físico-químicas, nos ensaios de corrosão e nos ensaios de caracterização da superfície corroída. No Capítulo 4 serão apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o trabalho experimental. No Capítulo 5 serão apresentadas as conclusões obtidas a partir deste trabalho, seguidas das sugestões para futuros estudos. Por fim, no Capítulo 6 serão apresentadas as bibliografias utilizadas para o desenvolvimento do presente trabalho.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Aspectos gerais da corrosão

A corrosão é definida como o resultado de modificações ocorridas em materiais, na maioria das vezes metálicos, devido à ação química e/ou eletroquímica do meio ambiente, associada ou não a esforços mecânicos (GENTIL, 2007). A corrosão química, também conhecida como corrosão seca, por não necessitar de água, corresponde ao ataque de um agente químico diretamente sobre o material, sem transferência de elétrons de uma área para outra (DUTRA e NUNES, 2006). Já o processo eletroquímico consiste numa reação anódica que implica na oxidação do metal, onde ocorre a reação de corrosão, e numa reação catódica baseada na redução de uma espécie química.

O produto de corrosão formado na superfície do metal exposta ao meio pode gerar uma película que, dependendo do metal, do meio e das condições em que se processa a reação, pode apresentar diferentes propriedades. Em alguns casos, esta película pode bloquear as reações subseqüentes no meio em questão. Em outros, porém, pode auxiliar e acelerar este processo.

A corrosão pode causar danos em infra-estrutura de aço expostas a ambientes diversos, em especial o ambiente marinho, objeto do presente estudo, como ocorre nos casos de pontes, embarcações, plataformas e sistemas de oleoduto (DUAN, 2008). Vários são os fatores ambientais que afetam o processo corrosivo e entre eles destacam-se: a temperatura, a umidade, as substâncias químicas, bem como os micro-organismos presentes no meio, sejam estes, bactérias, fungos e/ou vírus (SILVA, 2008).

Segundo Gentil (2007), há várias formas de corrosão: corrosão generalizada ou uniforme, por pites, por placas, alveolar, intergranular, transgranular e filiforme.

Corrosão generalizada ou uniforme → Processa-se de modo uniforme em toda superfície atacada. Esta forma é comum em metais que não formam películas protetoras como resultado do ataque.

Por pites → Ocorre quando o desgaste provocado pela corrosão se dá sob forma bastante localizada e de alta intensidade.

Por placas → Ocorre em áreas localizadas da superfície metálica, formando placas com escavações.

Alveolar → Presença de sulcos, apresentando fundo arredondado e profundidade geralmente menor que o seu diâmetro.

Intergranular → Se processa entre os grãos da rede cristalina do material metálico, o qual perde suas propriedades mecânicas e pode fraturar quando solicitado por esforços mecânicos, tendo-se então a corrosão sob tensão fraturante.

Transgranular → É similar a corrosão intergranular, porém a corrosão ocorre nos grãos da rede cristalina, podendo ocorrer fraturas no menor esforço mecânico.

Filiforme → Processa-se sob a forma de finos filamentos, sem profundidade, que se propagam em diferentes direções. Ocorre geralmente em superfícies metálicas revestidas com tintas.

Além das variadas formas de corrosão, há também os tipos de corrosão de natureza eletroquímica que se processam de acordo com o meio corrosivo, o tipo de metal e com o aspecto da corrosão (DUTRA e NUNES, 2006). Na literatura são listados diversos tipos de corrosão:

Galvânica → Caracterizada pela presença de dois metais com diferentes potenciais, em contato com um eletrólito.

Em frestas → Ocorre quando os metais estão sujeitos à corrosão por aeração diferencial, normalmente em juntas soldadas com chapas sobrepostas.

Atmosférica → Relaciona-se aos processos corrosivos em estruturas aéreas, dependendo da umidade relativa do ar, do teor de sais em suspensão e do teor de gases.

Pelo solo → Ocorre em estruturas enterradas, sendo geralmente tubulações, cabos de transmissão de energia, dentre outros.

Pela água → Ocorre em estruturas em contato com meio aquoso, tais como: estação de piers, tubulações enterradas, embarcações, instalações de água de refrigeração.

Microbiológica → Ocorre sob a influência mais frequentemente de bactérias.

Conhecer a caracterização química e estrutural de superfícies e interfaces suscetíveis à corrosão, além do comportamento eletroquímico em certo ambiente são aspectos importantes do estudo da corrosão, pois uma liga metálica pode corroer em certo ambiente e apresentar-se estável em outro (PAGNIN, 2008).

Neste trabalho será abordada a corrosão microbiológica do aço carbono em ambientes marinhos. Desse modo, os aspectos da corrosão a serem estudados estarão restritos a estas condições e serão apresentados a seguir.

1.2 Casos de corrosão em materiais não-metálicos

A biodeterioração é uma mudança indesejável que ocorre em vários tipos de materiais causada por micro-organismos. Essa definição é mais ampla do que a biocorrosão porque além de causar danos em superfícies metálicas, a biodeterioração causa danos em rocha, madeira, materiais processados e refinados (combustíveis, lubrificantes, pinturas, plásticos), sistemas de transporte de veículos, dentre outros (VIDELA, 2003).

Saiz (2000) relata a biodeterioração em monumentos de pedra, uma vez que este material é considerado predisposto à colonização por micro-organismos. Fatores

como umidade, luz e a natureza química do substrato influenciam o crescimento microbiano. Os organismos envolvidos neste processo geralmente são fungos, cianobactérias e líquens (VIDELA, 2003).

A biodeterioração de combustíveis já causou muito prejuízo para o setor aéreo devido ao metabolismo das BRS. A produção de sulfeto de hidrogênio induzia a corrosão localizada em tanques, em sistemas de injeção e tubulações de distribuição de combustível, além de sua contaminação.

Um substrato com potencial para a biodegradação é o material polimérico. Esta classe de material sofre ação por micro-organismos heterotróficos, como bactérias e fungos. A biodegradabilidade de um polímero depende da massa molar, da cristalinidade e das formas físicas. Um polímero de alta massa molar resulta na diminuição acentuada da solubilidade, o que os torna desfavorável para um ataque microbiano, (GU *et al.*, 2000).

As rochas sedimentares, principalmente o calcário, utilizadas na construção de monumentos e edifícios históricos tem sido bastantes investigadas devido à biodeterioração causados por diversas comunidades de micro-organismos, sendo extremamente suscetível à cianobactérias e algas (MILLER *et al.*, 2009).

1.3 Corrosão microbiológica

A corrosão microbiológica, também chamada biocorrosão, é um processo eletroquímico de dissolução metálica iniciado ou acelerado por micro-organismos e por suas atividades metabólicas. A partir da década de 80, passou-se a adotar a palavra “influenciada ou induzida” nos casos de corrosão microbiológica. Na literatura encontramos duas formas usuais de denominação: corrosão microbiologicamente induzida (CMI) ou corrosão induzida microbiologicamente (CIM) (VIDELA, 2003). Para efeito de padronização será adotada neste trabalho ora o termo biocorrosão, ora a sigla CMI.

O crescimento microbiano em ligas metálicas de uso industrial afeta o desempenho de estruturas ou componentes de uma planta de diversas maneiras: (a) diminui a transferência de calor em sistemas de trocadores de calor; (b) induz à

corrosão de material estrutural; (c) aumenta os custos de bombeamento; (d) causa corrosão sob tensão; (e) bloqueia sistemas de filtragem; e (f) deteriora o produto final (VIDELA e HERRERA, 2005).

Há mais de meio século, as indústrias petrolíferas dos Estados Unidos e da Europa já registravam a ocorrência de vários tipos de corrosão em tubulações e equipamentos utilizados na extração de petróleo e gás, quando expostos a meio contendo íons de cloreto. Portanto, a partir de 1990, com o avanço mundial da produção de petróleo e gás em reservas marítimas e as pesquisas para o conhecimento de novos materiais, o estudo sobre os mecanismos de corrosão e técnicas de mitigação, têm sido cada vez mais reconhecidos como ponto crucial para o desenvolvimento de novas tecnologias (GARVERICK, 1994; IKEDA e UEDA, 1994).

1.3.1 Formas de corrosão microbiológica

As formas de corrosão promovidas pela interação dos micro-organismos com a superfície dos metais são numerosas. Podemos citar a corrosão por pite, o ataque por frestas, a corrosão sob tensão, e corrosão intergranular. Embora a corrosão generalizada também ocorra, a maioria dos casos relatados de biocorrosão é associada ao ataque localizado (BEECH e GAYLARDE, 1999).

A corrosão por pites, também chamada corrosão puntiforme, é a principal forma de corrosão microbiológica. Caracteriza-se por apresentar cavidades localizadas na superfície do metal que apresentam o fundo em forma angulosa e a profundidade geralmente maior do que o seu diâmetro, ocorrendo em pontos ou em pequenas áreas localizadas (GENTIL, 2007). Na Figura 1 é possível verificar e comparar a corrosão uniforme e a corrosão localizada por pite, normalmente gerada em ligas passivadas, como aços inoxidáveis e alumínio.

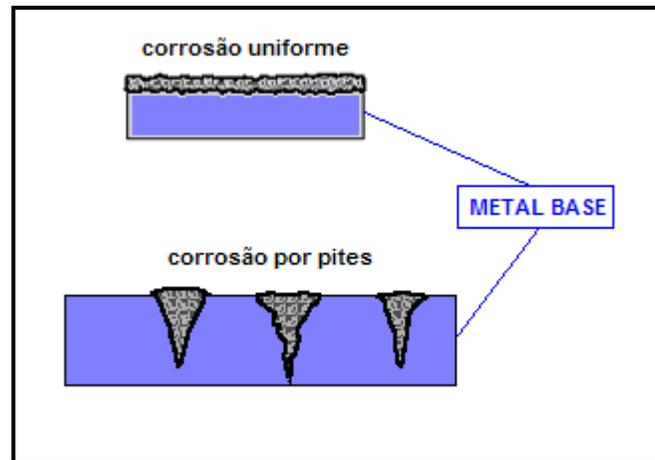


Figura 1: Esquema representativo da corrosão uniforme e por pites. Fonte: Anunziato, 2008.

Vários são os fatores que influenciam a formação de pites. Entre eles destacam-se os elementos químicos da liga metálica, a espessura e as propriedades eletrônicas do filme passivo de óxido, assim como a composição do eletrólito, pH e temperatura (GAYLARDE e VIDELA, 1995).

As perdas econômicas geradas pela biocorrosão nos revestimentos metálicos de tubulações não são oficialmente dimensionadas. Porém, estima-se que cerca de 20% do custo de corrosão é devido à corrosão microbiológica, dos quais uma parte significativa é devido à corrosão influenciada por bactérias redutoras de sulfato (BRS) (HEITZ, 1996). Estes micro-organismos foram relatados por causar pites em materiais inertes como titânio, mesmo na ausência de íons cloreto (ISMAIL et al. 1999; RAO *et al.*, 2005). As BRS também causam corrosão por pites principalmente sobre ligas de ferro, caracterizando-se por apresentar produtos de corrosão pouco aderentes, de cor escura e geralmente com odor característico de sulfeto de hidrogênio. Este tipo de corrosão é gravíssimo, pois em muitos casos pode perfurar as paredes de tubulações ou de tanques de armazenamento em um curto espaço de tempo (VIDELA, 2003). A presença de um filme e ou de um produto de corrosão pouco aderente também é característica da CMI, como será visto a seguir.

Pesquisas recentes têm demonstrado que os aços inoxidáveis (316L e duplex 2205) são suscetíveis à biocorrosão e à corrosão localizada por íons cloreto e compostos reduzidos de enxofre, este último caso em decorrência da ação microbiana.

Apesar de possuírem boa resistência contra a corrosão, vários casos de biocorrosão vêm sendo relatados na literatura. A preocupação é iminente, pois os aços inoxidáveis têm sido usados cada vez mais em sistemas de resfriamento de água, nas indústrias químicas e petroquímicas, e no setor de energia (XU *et al.*, 2007).

1.4 Biofilmes

Em ambientes aquáticos, os micro-organismos têm uma tendência em aderir e colonizar superfícies metálicas. O crescimento microbiano acarreta na formação de biofilmes que acabam influenciando física e quimicamente na deterioração do metal. Assim, a interação da bactéria com a superfície do metal resulta na formação de biofilmes, num processo conhecido como *biofouling* (VIDELA, 2003).

Biofilme é um agregado celular disforme que começa a ser formado imediatamente após a imersão de metais em solução aquosa e seu efeito geral é tornar o ambiente químico na superfície metálica diferente da solução criando, concentrações de células que facilitem e estabilizem a corrosão localizada (GEORGE, 2003).

Os biofilmes são formados por células microbianas, substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e substâncias orgânicas adsorvidas (BEECH, 2003). Cerca de 80% a 90% da massa total dos biofilmes são constituídos de água (PENNA, 2004).

As SPE são uma mistura complexa de macromoléculas, tais como proteínas, polissacarídeos, lipídios e ácidos nucleicos. Sua composição varia de acordo com as espécies microbianas, estado fisiológico das células e fatores ambientais. A presença de SPE no biofilme além de facilitar a aderência bacteriana ao substrato, pode ter uma ação protetora a diferentes produtos químicos usados como inibidores de corrosão. (BEECH *et al.*, 2005).

De acordo com Videla e Herera (2005), as etapas de formação de biofilmes se iniciam com uma fina película (cerca de 20-80 nm de espessura) de íons inorgânicos e compostos orgânicos de massa molecular relativamente elevada. Este filme inicial pode alterar as cargas eletrostáticas e a molhabilidade da superfície do metal, facilitando ainda mais a sua colonização por bactérias. Em geral, primeiro inicia-se a adesão e colonização por micro-organismos aeróbios. Em um curto espaço de tempo (minutos ou

horas dependendo do meio aquoso em que o metal foi imerso), ocorre o crescimento microbiano e a produção de SPE, resultando assim no desenvolvimento do biofilme. Posteriormente acontece o crescimento de micro-organismos anaeróbios internamente ao biofilme, como mostra a Figura 2.

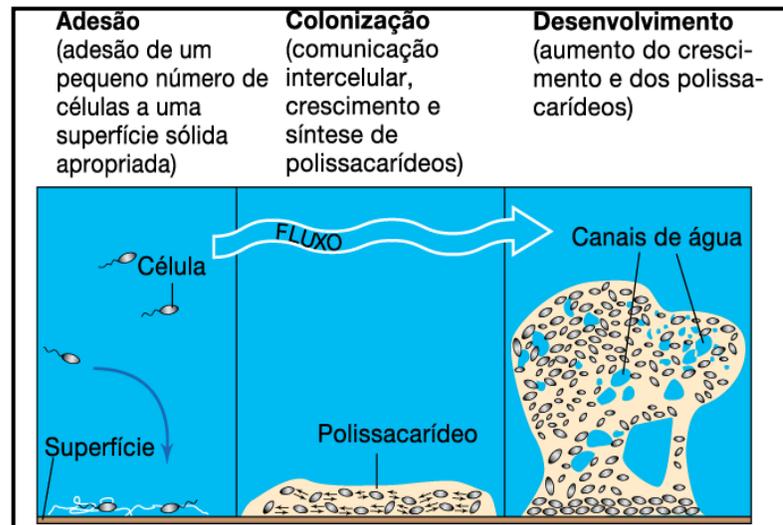


Figura 2: Representação das etapas de formação de biofilme. Fonte: Madigan et al. 2010.

Em ambientes marinhos a presença de biofilmes em aços carbono pode acelerar a taxa de corrosão, tornando-a bastante severa (BEECH, 2003). Além disso, acarreta em problemas como a perda de eficiência de equipamentos, redução da capacidade de troca térmica e contaminação de águas (LUTTERBACH e FRANÇA, 1997).

A biodeterioração que ocorre em metais e suas ligas, devido à formação de biofilmes, tem tido grandes implicações econômicas e ambientais. Muitos setores industriais como óleo e gás, energia nuclear, de transportes e engenharia civil sofrem problemas severos de poluição, saúde e segurança se arriscando a ter perdas financeiras significativas como resultado do desenvolvimento de biofilme (HAMILTON, 1985; FLEMMING, 1996).

1.5 Micro-organismos envolvidos na CMI

Numerosos micro-organismos são conhecidos por promover a corrosão em ligas de ferro. Os principais tipos de bactérias associados à corrosão são as bactérias redutoras de sulfato (BRS), bactérias oxidantes de enxofre, bactérias oxi-redutoras de ferro, bactérias produtoras de ácido e bactérias produtoras de exopolímeros. Na natureza, estes micro-organismos podem coexistir em biofilmes formando consórcios (sinergismos) que podem intensificar os processos eletroquímicos (BEECH e GAYLARDE, 1999). Segundo Mansfeld (2007), as bactérias produtoras de ácido são a principal causa da CMI em aços carbono.

Devido à grande variedade de atividades fisiológicas realizada por diferentes grupos de micro-organismos, tem sido identificado na literatura vários mecanismos de biocorrosão. Vale ressaltar que na natureza estes micro-organismos não agem isoladamente e sim em consórcio, em diversos ambientes (BEECH e GAYLARDE, 1999).

Embora a participação dos micro-organismos no processo corrosivo tenha sido comprovada no início do século passado, apenas nas últimas duas décadas foi dada a devida importância aos problemas causados pela biocorrosão. Este fato ocorreu devido ao uso de técnicas mais avançadas de avaliação da corrosão como microscopia eletrônica, microeletrodos específicos (capazes de explorar a interface metal/solução), análises microbiológicas e metodologias específicas para detecção de corrosão localizada. Isso torna possível entender melhor a participação dos micro-organismos na deterioração de materiais, o que por sua vez contribuirá para o controle da corrosão (VIDELA, 2003).

Como pode ser observado, vários micro-organismos estão envolvidos no processo de biocorrosão. Raramente, a participação dos micro-organismos na corrosão é realizada através de um mecanismo simples ou por uma única espécie microbiana (VIDELA e SALVAREZZA, 1994).

A seguir, serão descritos os principais organismos reconhecidamente envolvidos nos casos de biocorrosão.

1.5.1 Algas

As algas são eucariotos microbianos, autotróficos fotossintetizantes originados a partir de endossimbiose primária (englobamento e a retenção de uma cianobactéria por uma célula eucariótica heterotrófica). Podem ser encontradas tanto no solo como em habitats aquáticos, sendo os principais produtores da cadeia alimentar (MADIGAN, 2010).

Segundo Galvão (2008), o processo de biocorrosão provocado por algas está relacionado ao favorecimento do crescimento de outros micro-organismos presentes no biofilme. A atividade das algas nos biofilmes gera oxigênio, que favorece a produção de SPE pelas bactérias, criando condição de anaerobiose, a qual propicia atividade das BRS, conseqüentemente promovendo a corrosão das superfícies abaixo dos biofilmes.

O crescimento das algas em simbiose com outros micro-organismos também modifica o pH e forma pilhas de aeração artificial (GONÇALVES, 2002).

1.5.2 Fungos

Os fungos são seres eucariotos, heterotróficos, sendo a maioria pluricelular. Apresentam parede celular espessa, rica em polissacarídeos. Muitos fungos podem crescer em ambientes extremos de baixo pH ou temperatura elevada. Os fungos são quimiorganotróficos (utilizam compostos orgânicos para obtenção de energia), geralmente apresentando exigências nutricionais simples, sendo a maioria aeróbia (MADIGAN et al. 2010).

Os fungos são conhecidos por produzirem ácidos orgânicos, contribuindo assim para a CMI (BEECH e GAYLARDE, 1999). Alguns podem ocasionar corrosão de materiais metálicos como o cobre, ferro e alumínio, como também causar a biodeterioração de madeira usada como enchimento de torre de resfriamento (GENTIL, 2007). Uma das espécies mais citadas na literatura é o fungo *Hormoconis resiniae*, que está presente em combustíveis de aviação do tipo JP. O fungo utiliza os hidrocarbonetos do combustível como fonte de carbono e obtenção de energia, gerando

ácidos orgânicos. Esses ácidos diminuem o pH do meio, favorecendo a corrosão (VIDELA, 2003).

1.5.3 Bactérias

1.5.3.1 *Pseudomonas*

Dentre as bactérias causadoras da biocorrosão vale ressaltar as do gênero *Pseudomonas* que são Gram negativas, aeróbias e móveis. As bactérias com metabolismo aeróbio são consideradas as primeiras a formarem o biofilme propriamente dito, como mencionado anteriormente no seu processo de formação (Figura 2). Podem ser aeróbias totais ou apenas tolerantes ao oxigênio, e são as responsáveis pelo fornecimento de condições ideais para bactérias anaeróbias, por consumir todo o oxigênio ao longo do tempo (BEECH, 2004).

Pseudomonas sp são conhecidas pela produção de polímeros extracelulares que protegem as células contra íons metálicos e ajudam a aprisionar outras espécies de micro-organismos – na maioria anaeróbios -, contribuindo para o aumento da espessura do biofilme (GONÇALVEZ, 2002).

Segundo Videla (2003), a associação de *Pseudomonas aeruginosa* ao fungo filamentoso do gênero *Hormoconis* e às BRS em biofilmes formados nas paredes internas de tanques de combustível de aviões a jato, aparentemente, foram responsáveis por graves casos de corrosão do alumínio e suas ligas.

1.5.3.2 Bactérias oxidantes de ferro

As bactérias oxidantes de ferro são pertencentes a um grupo amplo e diversificado de micro-organismos que possuem como metabolismo basal a oxidação do íon ferroso (Fe^{2+}) a íon férrico (Fe^{3+}), constituindo-se assim um conjunto de micro-organismos potencialmente capazes de provocar e/ou acelerar a corrosão.

As bactérias ferro-oxidantes são capazes de crescer quimiolitotroficamente em valores de pH abaixo de 1, exibindo ótimo crescimento em pH 2-3. As espécies mais

conhecidas são *Acithiobacillus ferrooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans*. Em pH ácido, apenas uma pequena quantidade de energia é liberada por tal oxidação e, por essa razão, estas bactérias precisam oxidar grandes quantidades de ferro, para que possam crescer (MADIGAN *et al.*, 2010).

Outros gêneros bastante citados nos casos de biocorrosão são *Gallionella*, *Crenothrix* e *Clonothrix* que também oxidam Fe^{2+} a Fe^{3+} . O produto dessa oxidação é geralmente o hidróxido férrico $Fe(OH)_3$, que por ser insolúvel, precipita sobre as superfícies, formando células de aeração superficial, favorecendo a corrosão (VIDELA, 2003).

1.5.3.3 Bactérias oxidantes de enxofre

As bactérias oxidantes de enxofre são bactérias quimioautotróficas aeróbias que utilizam o dióxido de carbono como principal fonte de carbono e o enxofre como fonte de obtenção de energia (VIDELA, 2003). Os compostos sulfurados mais comumente utilizados como doadores de elétrons são o sulfeto de hidrogênio, enxofre elementar e o tiosulfato. O gênero *Acidithiobacillus* é o mais estudado deste grupo. Um dos produtos da reação de oxidação do enxofre em sua forma reduzida corresponde ao íon H^+ que promove a diminuição do pH do meio, tornando-o mais ácido. O ácido formado pelas bactérias sulfurosas é um ácido forte, o ácido sulfúrico (H_2SO_4), e funciona como agente corrosivo (GENTIL, 2007).

As reações causadas por bactérias do ciclo do enxofre têm importância significativa do ponto de vista industrial e ambiental. A acidificação, um fenômeno que vem ocorrendo com frequência nos reservatórios de petróleo *offshore* e *onshore* diminui a qualidade do petróleo e gás e vem causando severos riscos de corrosão na produção, transporte, processamento e instalações na indústria petrolífera (TANG *et al.*, 2009).

1.5.3.4 Bactérias redutoras de sulfato

As BRS são o principal grupo de micro-organismos envolvidos nos casos de biocorrosão, seja pela produção de metabólitos corrosivos ou pelo mecanismo de despolarização catódica, acelerando a reação anódica no substrato. Elas causam corrosão em estruturas metálicas, gerando um custo elevado na manutenção de equipamentos e materiais de sistemas de produção (VIDELA, 2003).

Morfologia e fisiologia das BRS

Morfologicamente, as BRS se apresentam como bacilos curvos (em forma de vírgula), às vezes espiralados, tendo de 0,5 a 1,0 μm de diâmetro e 3,0 a 5,0 μm de comprimento, podendo ocorrer como células isoladas, em pares ou agregadas. As BRS podem ser móveis ou não e a grande maioria dos gêneros é Gram-negativa. São micro-organismos anaeróbios, procariotos heterotróficos e crescem geralmente entre pH entre 5,5 e 9,0. Porém, tem sido observado que as BRS crescem melhor numa faixa estrita de pH, entre 7,0 e 7,8 (GONÇALVES, 2001). As BRS englobam espécies mesofílicas e termofílicas, sendo a temperatura ideal de crescimento entre 25°C e 44°C, estando relacionada ao ambiente de onde foram isoladas. De acordo com Weijma *et al.* (2000), este é um fator que pode alterar o crescimento e a cinética de redução do sulfato por essas bactérias.

As BRS sempre foram consideradas anaeróbias estritas e extremamente sensíveis às baixas temperaturas até recentemente, quando pesquisadores começaram a questionar esses paradigmas. Descobriu-se que algumas espécies são capazes de tolerar oxigênio ou até mesmo sobreviver por períodos prolongados de exposição ao oxigênio molecular (BRUNE *et al.*, 2000).

As BRS crescem bem em ambientes anóxicos como, sedimentos de terra, campos de óleo e em reatores anaeróbios empregados no tratamento de efluentes (CETIN e AKSU, 2009). Frequentemente estas bactérias são encontradas no ambiente em consórcios microbianos formando os biofilmes. Neste ambiente, o consumo de

oxigênio, por meio da respiração das bactérias aeróbias presentes, propicia condições redutoras necessárias para o crescimento das BRS.

Originalmente, este grupo de bactérias foi classificado em dois gêneros, o *Desulfovibrio* (cinco espécies) e o *Desulfotomaculum* (sete espécies) (VIDELA, 2003). Atualmente são conhecidas mais de 40 gêneros desses micro-organismos, coletivamente denominados bactérias redutoras de sulfato e bactérias redutoras de enxofre, todos pertencentes ao Domínio Bacteria, a exceção de uma espécie que pertence ao Domínio Archae (MADIGAN *et al.*, 2010).

O gênero *Desulfovibrio* é comumente o mais estudado por ser facilmente isolado. São caracterizados por realizarem oxidação incompleta de compostos orgânicos até acetato. São Gram-negativos, em forma de víbrios ou bacilos, podendo ser móveis (MADIGAN *et al.*, 2010). Quanto à temperatura, são classificados como mesófilos. Seu hábitat é bastante diversificado, sendo encontrado em ambientes terrestres e aquáticos. A espécie mais conhecida e relevante nos casos de biocorrosão é *Desulfovibrio desulfuricans* (PAGNIN, 2008).

Metabolismos das BRS

As BRS estão divididas em dois grupos metabólicos relacionados à oxidação do acetato. O grupo I inclui os gêneros *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* e *Desulfobulbus*, e utilizam hidrogênio, lactato, piruvato, malato, sulfonatos e certos alcoóis primários (etanol, propanol e butanol) como doadores de elétrons, reduzindo sulfato a sulfeto de hidrogênio, não sendo capazes de catabolizar o acetato. O grupo II inclui os gêneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina* e *Desulfonema*. Este grupo especializou-se em oxidar completamente ácidos graxos, como, lactato, succinato e principalmente o acetato, a CO₂. (Figura 3) (MADIGAN *et al.*, 2010; CROLET, 2005).

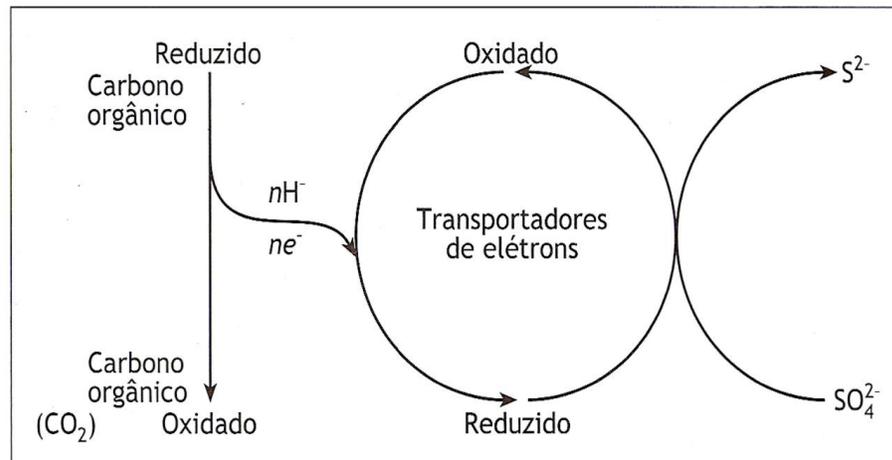


Figura 3: Representação do metabolismo das BRS. O carbono orgânico entra como doador de elétrons na redução dos íons sulfato. Fonte: Videla, 2003.

O íon sulfato, a forma mais oxidada do enxofre, é um dos principais ânions da água do mar utilizado por estas bactérias. O produto final da redução do sulfato é o gás sulfídrico (H₂S). (MADIGAN *et al.*, 2010).

O H₂S produzido é considerado um inibidor de crescimento quando presente em concentrações elevadas. De acordo com Barton e Tomei (1995) concentrações de H₂S em torno de 544 mg/L são consideradas tóxicas, sendo inibitório para o crescimento das BRS. Vale ressaltar que cada espécie tem sua tolerância própria ao sulfeto.

O papel das BRS no ciclo biogeoquímico do enxofre é vital para muitos processos bióticos e abióticos devido ao fato do sulfeto de hidrogênio ser tóxico e poder reagir com vários metais.

O ciclo biogeoquímico que descreve estas transformações é composto de muitas reações de oxi-redução. A Figura 4 mostra as principais reações deste ciclo.

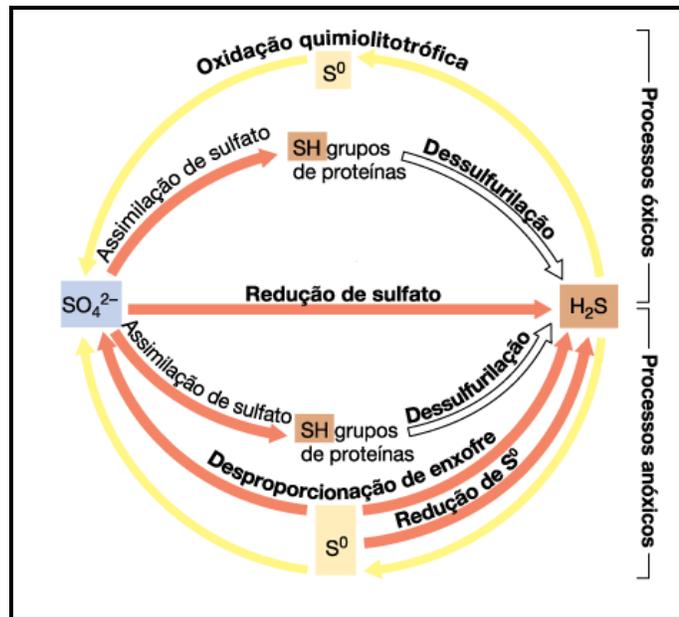


Figura 4: Ciclo redox do enxofre. As oxidações são indicadas pelas setas amarelas e as reduções, pelas setas vermelhas. As reações nas quais não ocorrem alterações redox estão em branco. Fonte: Adaptado Madigan *et al.*, 2010.

O H_2S , que apresenta enxofre em sua forma reduzida, é produzido pela redução bacteriana do sulfato ($\text{SO}_4^{2-} + 8\text{H} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{OH}$). Na presença de oxigênio, o sulfeto sofre oxidação espontânea em pH neutro. O enxofre elementar reduz-se a sulfeto pela respiração anaeróbia.

As reações bioquímicas que ocorrem durante o metabolismo das bactérias, necessitam de doadores (agentes redutores) e aceptores (agentes oxidantes) de elétrons.

A redução do sulfato pode ocorrer através das vias assimilativa ou dissimilativa. Na assimilação, o H_2S formado é imediatamente convertido a enxofre orgânico, sob a forma de aminoácidos e outros compostos sulfurados orgânicos. Na via dissimilativa o H_2S é excretado (MADIGAN *et al.*, 2010).

As BRS apresentam como principal característica a utilização do íon sulfato comoceptor final de elétrons para realização do seu processo bioenergético. O ambiente propício para o desenvolvimento desses micro-organismos requer valores de potencial redox (E_H) menor que -100 mV (EPH) (POSTGATE, 1985). Embora bons resultados de redução de sulfato já tenham sido obtidos em ambientes com maiores

valores de potencial (-75 mV), empregando acetato como substrato para as BRS (BHATTACHARYA *et al.*, 1996).

No processo de respiração anaeróbia, a redução do sulfato pelas BRS envolve a transferência de oito elétrons ($\text{SO}_4^{2-} + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow \text{S}^{2-} + 4\text{H}_2\text{O}$). Esta reação ocorre via muitos intermediários e requer uma variedade de enzimas (POSTGATE, 1984; MADIGAN *et al.*, 2010). O íon sulfato é quimicamente estável, não podendo ser reduzido antes da sua ativação inicial. A ativação do sulfato ocorre no interior da célula por intermédio de uma molécula de alta energia, chamada adenosina trifosfato – ATP. A enzima ATP sulfurilase catalisa a ligação de um íon sulfato a um fosfato do ATP, levando à formação de adenosina fosfosulfato – AFS. Na redução dissimilativa do sulfato, o sulfato presente na AFS é reduzido diretamente a sulfito (SO_3^{2-}) pela enzima AFS redutase, com a liberação de adenosina monofosfato (AMP). Na redução assimilativa, outro fosfato é adicionado à AFS, gerando a fosfoadenosina fosfossulfato – FAFS e somente o sulfato é reduzido. Em ambos os casos, o produto da redução do sulfato é o sulfeto. A partir da formação do sulfeto, a enzima sulfeto redutase catalisa sua conversão em sulfeto (Figura 5) (MADIGAN *et al.*, 2010).

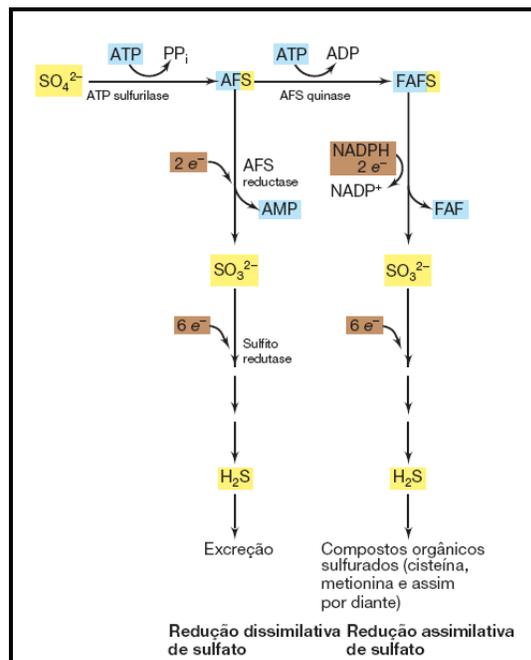


Figura 5: Bioquímica da redução de sulfato: Redução assimilativa e dissimilativa. Fonte: Madigan *et al.*, 2010.

O hidrogênio é um importante componente no metabolismo da maior parte das BRS. Ele pode ser usado como única fonte de energia, na presença de acetato ou CO_2 como fonte de carbono. Algumas BRS são capazes de reduzir o sulfato a sulfeto pela oxidação direta do hidrogênio atômico, através de enzimas denominadas hidrogenases (BRANDIS e THAUER, 1981). Este mecanismo de redução será melhor discutido no item 2.6.1.

No processo de redução dissimilativa do sulfato, as reações que ocorrem durante o transporte de elétrons estabelecem uma força próton motiva que conduz a síntese de ATP, catalisada por uma ATPase. Um dos principais carreadores de elétrons envolvidos é o citocromo c_3 , que recebe os elétrons de uma hidrogenase periplasmática, transferindo-os a um complexo protéico associado à membrana. Esse complexo carrega os elétrons através da membrana citoplasmática tornando-os disponíveis às AFS redutase e sulfito redutase (Figura 6) (MADIGAN *et al.*, 2010; GONÇALVES, 2001).

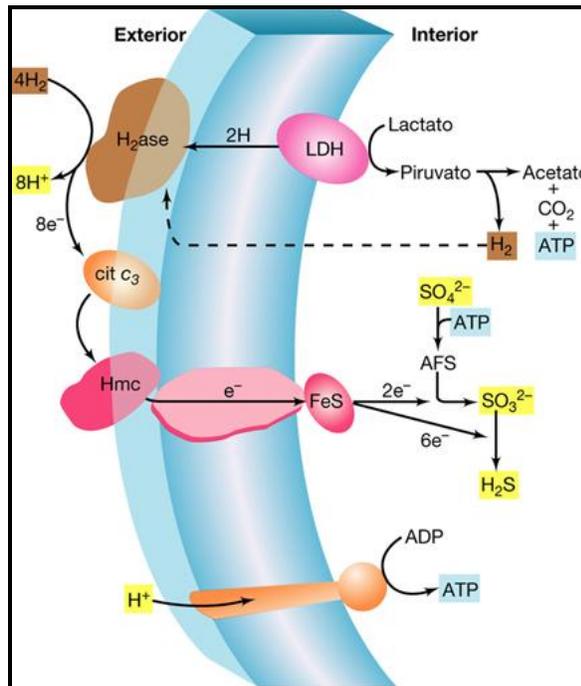


Figura 6: Transporte de elétrons e conservação de energia nas BRS. LDH - desidrogenase; H2ase - hidrogenase; cyt c3 - citocromo c3; Hmc - complexo de citocromos; FeS - proteínas de Fe e S (flavodoxina e/ou ferredoxina); APS - adenosina fosfosulfato. Fonte: Madigan *et al.*, 2010

A enzima hidrogenase localizada na parte externa da membrana plasmática desempenha papel fundamental para conservação de energia durante a redução de sulfato realizada pelas BRS, seja na presença de H_2 , *per se*, seja a partir de compostos orgânicos como lactato. Durante a oxidação do lactato a acetato observa-se a formação de H_2 , que é permeável e difundi-se através da membrana. Esse H_2 produzido atravessa a membrana plasmática, sendo oxidado pela hidrogenase periplasmática, iniciando o estabelecimento de uma força próton motiva.

1.6 Mecanismos envolvidos na biocorrosão

Os micro-organismos induzem, aceleram ou mantêm a reação de corrosão, em uma interface metal/solução, sem alterar a natureza eletroquímica do fenômeno. Eles modificam a resistência do material, seja pela sua interação direta na forma do biofilme e/ou como resultado da formação de metabólitos corrosivos. (VIDELA, 2003).

Serão apresentados a seguir alguns dos principais mecanismos estabelecidos que os micro-organismos utilizam para acelerar a corrosão de superfícies metálicas.

1.6.1 Despolarização Catódica

A primeira interpretação eletroquímica de um caso de biocorrosão mencionado na literatura foi a teoria da despolarização catódica proposta por Von Wolzogen Kuhr em 1923 (GENTIL, 2007). Este mecanismo assume que as BRS removem hidrogênio atômico da superfície metálica, através de uma enzima denominada hidrogenase. A bactéria utiliza o hidrogênio da área catódica para reduzir sulfato a sulfeto, ocasionando aceleração da corrosão, ou despolarização da referida área (Figura 7). (MANSFELD, 2007).

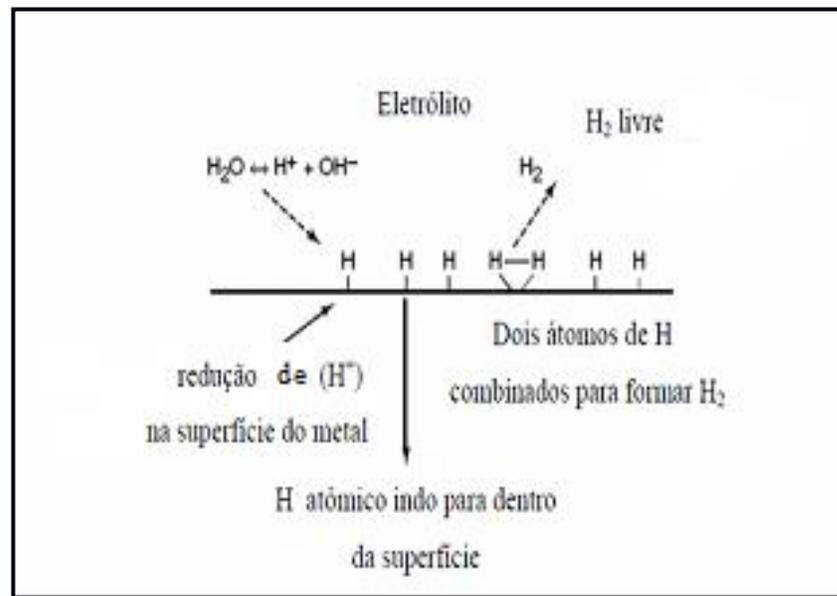


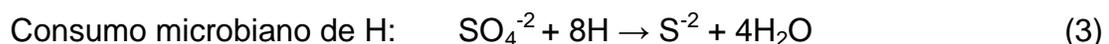
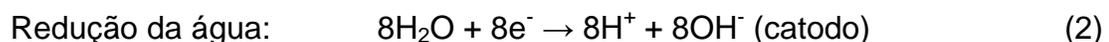
Figura 7: Diagrama esquemático de uma superfície catódica em um processo de corrosão anaeróbica, no qual o H^+ é reduzido para H sobre a superfície do metal.

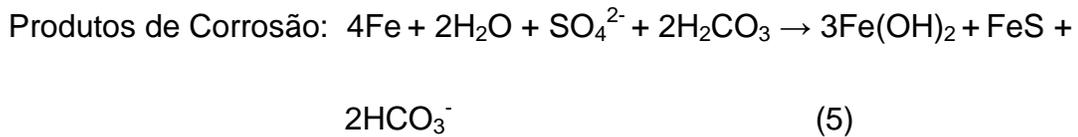
Adaptado de Jack, 2002.

A dissociação da água, que está presente no ambiente, resulta na formação de hidrogênio molecular que se adsorve à superfície do metal, polarizando-a e, por conseguinte impedindo a evolução do processo corrosivo, uma vez que detêm a recombinação de átomos de hidrogênio na área catódica. A atividade hidrogenásica das bactérias acaba despolarizando o catodo, acelerando indiretamente a reação anódica da dissolução do ferro.

A redução do íon sulfato a íon sulfeto é gerenciada pelo ganho de elétrons. Além do sulfeto são gerados bissulfetos, hidrogênio sulfetado, e substâncias intermediárias como tiosulfatos e politionatos (VIANA, 2009).

O conjunto de reações envolvidas na teoria da despolarização catódica é mostrado a seguir (VIDELA, 2003; GENTIL, 2007):





Observa-se que a ação corrosiva não é devido somente ao H_2S gerado. A validade deste mecanismo, porém é questionável devido ao fato da concentração de hidrogênio atômico compreendido na faixa de pH entre 5,5 e 8,5 ser muito pequena (LITTLE *et al.*, 1997). Quando a concentração de Fe^{2+} é pequena, pode ocorrer a formação de sulfeto de ferro (FeS) que fica aderido à superfície metálica, ocasionando a polarização da área anódica, diminuindo, assim, o processo corrosivo. Porém, em concentrações mais elevadas de Fe^{2+} , há formação de sulfeto de ferro, floculento, não-aderente, que intensifica o processo corrosivo (GENTIL, 2007). Além disso, estudos recentes de Videla e Herrera (2005) mostram que a teoria da despolarização catódica desconsidera o efeito corrosivo dos produtos de corrosão (sulfeto de hidrogênio e/ou sulfeto ferroso) e a ação dos demais micro-organismos envolvidos no processo, admitindo apenas a ação das espécies que utilizam o H_2 como fonte de energia.

1.6.2 Criação de células de aeração diferencial

A atuação dos micro-organismos no processo corrosivo pode ocorrer também através do consumo desigual de oxigênio em áreas localizadas, formando células de aeração diferencial. Este mecanismo ocorre por meio de uma distribuição não homogênea dos depósitos biológicos na superfície metálica (Figura 8).

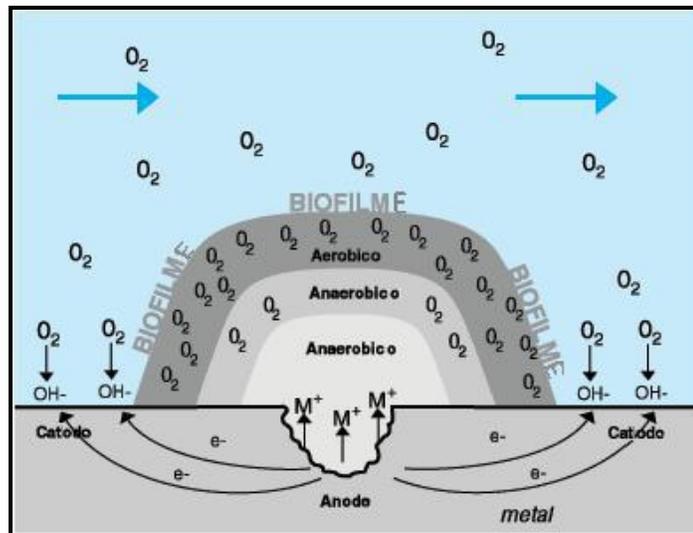


Figura 8: Biocorrosão por aeração diferencial. Fonte: Borenstein, 1994.

Observar-se na Figura 8 a origem de uma região anaeróbica sob a colônia microbiana, resultado do consumo de oxigênio pela respiração aeróbica. Assim, ocorre o desenvolvimento de um tubérculo na área anódica, no qual se observa a formação de pites (corrosão localizada). À medida que o pite cresce, ocorrem reações catódicas, com a formação de íons hidroxila, e reações anódicas, com a formação de íons metálicos de acordo com a composição da superfície do material (GONÇALVES, 2002).

Qualquer material metálico, ou liga submersa, que seja recoberta por um biofilme de forma não uniforme, estará exposto a regiões aeradas e criará células de aeração diferencial (VIDELA, 2003).

1.6.3 Produção de substâncias corrosivas

Conforme comentado anteriormente (2.4) alguns micro-organismos são capazes de produzir metabólitos ácidos (orgânicos ou inorgânicos) que são capazes de causar a corrosão. A produção de ácidos favorece a ruptura de filmes protetores sobre o metal. O sulfeto biogênico (H_2S), derivado do metabolismo das BRS, pode entrar em contato com a superfície metálica e destruir a camada de passivação do mesmo, intensificando a corrosão (GALVÃO, 2008).

1.8 Métodos de monitoramento da biocorrosão

A complexidade das reações induzidas microbiologicamente requer um conjunto de técnicas que deve ser empregado para relacionar os processos de corrosão com a atividade microbiana em superfícies (BEECH e GAYLARDE, 1999).

Vários métodos têm sido utilizados na avaliação e no monitoramento da corrosão microbiológica tais como: métodos eletroquímicos, microbiológicos, microscópicos, físico-químicos, entre outros. Isso é importante, visto que a caracterização completa de um problema multidisciplinar como este, exige que vários métodos de análise e monitoramento sejam usados em paralelo.

1.8.1 Métodos microbiológicos

O foco dos programas de monitoramento da CMI tem sido principalmente na taxa das populações planctônicas em amostras de água. Porém alguns questionamentos surgem devido ao fato das populações planctônicas não refletirem o número correto de organismos em biofilmes. Além disso, o comportamento das bactérias sésseis é diferente daquele apresentado por bactérias de vida livre e daquelas cultivadas em meios seletivos de isolamento. Os micro-organismos planctônicos são mais suscetíveis a biocidas do que os micro-organismos sésseis do biofilme. Adicionalmente, a presença de SPE nos biofilmes dificulta a ação dos inibidores de corrosão. Assim, o monitoramento microbiológico deve ser capaz de avaliar tanto a população sésil como a planctônica (VIDELA e HERRERA, 2005).

O primeiro passo é observar macroscopicamente o metal afetado, pois determinadas modificações que ocorrem na superfície do metal podem ser atribuídas à presença de micro-organismos. Em seguida, é preciso identificar e quantificar os micro-organismos causadores da biocorrosão. Segundo Gaylarde e Leal (1997) os organismos associados ao processo de biocorrosão que são geralmente isolados e quantificados são fungos filamentosos e bactérias (aeróbias e anaeróbias).

Os métodos mais simples e tradicionais de contagem utilizam meios de cultura seletivos (VIDELA, 2003).

1.8.2 Métodos de avaliação qualitativa e semi-quantitativa da CMI

Além da avaliação microbiológica, é necessária a utilização de técnicas complementares para a caracterização completa de um processo de CMI. Por exemplo, métodos que permitam visualizar o ataque corrosivo ou a presença de biofilmes na superfície do substrato metálico, bem como informações sobre os produtos de corrosão, são fundamentais para o monitoramento e melhor entendimento da CMI.

Desse modo, a caracterização do processo de corrosão microbiológica tem sido complementada por uma variedade de técnicas microscópicas, tanto ópticas quanto eletrônica a fim de acompanhar alterações superficiais ocorridas em função da CMI.

Recentemente, novas técnicas, como a microscopia eletrônica de varredura de pressão variável (MEV PV), a microscopia de força atômica (MFA) e a microscopia confocal por varredura a *laser* (MCVL) têm sido empregadas no estudo de biofilmes e nos fenômenos de biocorrosão em geral (BEECH, 1999). Tais técnicas se caracterizam por exigir pouco preparo do material sob estudo, o que é extremamente importante quando se deseja analisar uma superfície que sofreu modificações em função de ataque corrosivo microbiológico. É então possível a obtenção de informações sobre a morfologia das células e das colônias microbianas aderidas sobre o metal, bem como sobre a distribuição das mesmas na superfície, a presença (ou não) de SPE e a natureza dos produtos de corrosão (cristalino ou amorfo). Estas técnicas também podem revelar o tipo de ataque corrosivo sofrido pelo substrato quando submetido a um processo de CMI (por exemplo, se corrosão por pites ou uniforme), e permitem visualizar alterações na microestrutura do metal e as características da superfície, após remoção do biofilme e dos produtos de corrosão (BEECH e GAYLARDE, 1999).

Em termos de análises químicas, MARQUIS (1989) comenta sobre duas técnicas que vêm sendo utilizadas para obtenção de informações elementares sobre os produtos de corrosão em superfícies metálicas: difração de raios X (DRX) e a espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS). Com a primeira técnica é possível determinar a

espécie química do produto de corrosão formado (se sulfetos ou óxidos do metal, por exemplo), enquanto que a segunda técnica se obtém uma análise elementar semi-quantitativa do produto de corrosão superficial. Neste último caso, a técnica pode ainda ser aplicada a um microscópio eletrônico de varredura, permitindo simultaneamente a observação e a determinação semi-quantitativa de locais selecionados na superfície. Em todos os casos, a preparação da superfície para análise é simples e não causa prejuízo ao produto formado.

1.8.3 Métodos físico-químicos

Diante de um problema de biocorrosão em instalações industriais, por exemplo, devem-se analisar também as condições ambientais a fim de identificar o mecanismo e o tipo de micro-organismo envolvido na CMI. Fatores como temperatura, teor de oxigênio, níveis de íons específicos como, sulfato, sulfeto e cloreto, além da faixa de pH do meio corrosivo são importantes indicadores para o desenvolvimento da biocorrosão, pois influenciam diretamente o processo corrosivo e o metabolismo dos micro-organismos (VIDELA, 2003). Assim, devem ser constantemente avaliados e monitorados nos processos industriais, a fim de que a CMI possa ser prevista e, possivelmente, evitada.

1.8.4 Métodos de engenharia de corrosão

1.8.4.1 Métodos eletroquímicos

Como qualquer processo de corrosão, a CMI também é frequentemente monitorada através de métodos eletroquímicos, obtendo-se dados importantes sobre os efeitos deletérios da CMI. Técnicas como polarização, espectroscopia de impedância eletroquímica, sondas de resistência elétrica, são muito citadas na literatura e fornecem dados importantes para o conhecimento do processo da CMI.

O conhecimento do valor do potencial de corrosão também pode fornecer informações importantes, tanto em aplicações práticas de técnicas de proteção contra a corrosão como nas investigações de processos corrosivos (WOLYNEC, 2003).

No presente trabalho, os métodos eletroquímicos utilizados para o monitoramento da CMI foram polarização e perda de massa.

Polarização

A polarização de um metal é o afastamento do potencial de corrosão (E_{corr}), também chamado potencial de circuito aberto, que é provocado pela passagem de corrente por uma célula eletroquímica. Nesta metodologia, são obtidas curvas de polarização, que relacionam o potencial e a corrente (i) ou a densidade de corrente (I) que é a corrente dividida pela área de material exposta às reações eletroquímicas. Os ensaios de polarização visam proporcionar ao metal exposto ao meio sob estudo, condições simuladas similares às aquelas em que se encontra no ambiente natural (atmosfera, indústria, etc), quando o afastamento do E_{corr} causa mudanças importantes em sua superfície.

Tais curvas são adquiridas através de um equipamento denominado potenciostato, o qual atua sobre uma célula eletroquímica composta por três eletrodos: o eletrodo sob estudo, denominado eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra-eletrodo. Sua principal característica é impor ao eletrodo de trabalho o potencial de eletrodo desejado. Existem dois métodos convencionais utilizados no levantamento das curvas de polarização: método potenciostático e galvanostático (GENTIL, 2007).

No método potenciostático aplicam-se valores discretos, crescentes ou decrescentes ao potencial de eletrodo e mede-se a corrente resultante do processo. Já no método galvanostático varia-se a intensidade de corrente que circula no sistema e mede-se o potencial. A partir das curvas de polarização é possível a obtenção de dados que permitem mensurar a evolução do processo de corrosão, de acordo com as variáveis físico-químicas escolhidas (pH, temperatura, composição do meio, tempo de exposição ao meio, entre outros).

Uma das formas mais usuais de apresentação de uma curva de polarização ocorre pela relação entre a sobrevoltagem de um eletrodo e a densidade de corrente correspondente. Esta relação foi estabelecida experimentalmente por Tafel, cuja expressão matemática é dada pela equação (1):

$$\eta = a \pm b \log i \text{ (lei de Tafel) (1)}$$

Sendo:

a e b → constantes de Tafel

η → sobretensão em relação ao potencial de corrosão ($E - E_{\text{corr}}$)

i → densidade de corrente medida

A partir do potencial de corrosão gerado, inicia-se a polarização catódica e anódica, medindo-se para cada sobrepotencial a corrente característica. Conforme o avanço da polarização, os fenômenos catódico e anódico da reação se tornam independentes e se aproximam das retas de Tafel de acordo com a equação (1). Essa extrapolação permite obter a corrente de corrosão (GENTIL, 2007).

Sabendo que a equação de Tafel é de natureza logarítmica, uma das maneiras mais convenientes de apresentar graficamente esta equação é na forma de diagrama, relacionando E vs. log i, conforme apresentado na Figura 9. A vantagem de utilizar esse diagrama está na visualização, pois a parte das curvas em que é válida a equação de Tafel é reta (WOLYNEC, 2003).

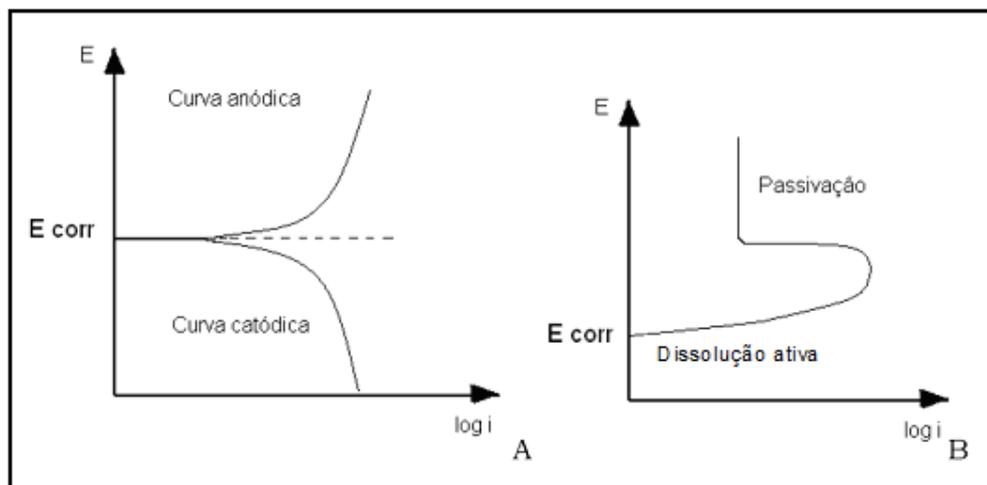


Figura 9: (A) Curvas de polarização catódica e anódica e (B) Curva anódica mostrando área de passivação. Fonte: Nunes, 2007.

Toda região anódica da curva de polarização representa a faixa de potencial na qual pode ocorrer a dissolução anódica (corrosão) do metal ou reações de interface metal / solução, podendo haver oxidação de compostos da solução utilizada. Além disso, na região anódica ativa, a densidade de corrente cresce com o aumento de potencial, caracterizando corrosão do metal (Figura 9 A). Na porção catódica, ou nos potenciais abaixo do potencial de corrosão, ocorrem as reações de redução que complementam as reações anódicas (GENTIL, 2007).

Quando durante um processo de dissolução anódica, a curva de polarização do material apresenta decréscimos nos valores de corrente mensurados e potenciais mais nobres, ou seja, menos ativos que o normalmente apresentado em meios onde se dissolveria rapidamente observa-se o processo de passivação. Este processo depende do material e do meio e, está associado à formação de uma película na superfície do material que melhora a sua resistência à corrosão (GENTIL, 2007).

A curva da Figura 9B indica a formação de películas protetoras quando o metal sofre passivação de algum tipo (ex: aço inox, alumínio em alguns meios). Quando há formação de película protetora, a corrente fica extremamente baixa, seguindo quase paralela à ordenada do gráfico.

1.8.4.2 Métodos dos cupons de perda de massa

O uso de cupons de perda de massa pode ser aplicado tanto em meios aquosos como em ambientes gasosos (GENTIL, 2007).

Após a realização do ensaio de corrosão e limpeza do corpo de prova, verifica-se a perda de massa, subtraindo-se da sua massa inicial a massa após o ensaio. Como a perda de massa é influenciada pela área exposta e tempo de exposição, essas variáveis são combinadas e expressas em taxa de corrosão (GENTIL, 2007).

As taxas de corrosão expressam a velocidade do desgaste observado na superfície do metal. A avaliação correta das taxas de corrosão possui grande importância para a determinação da vida de equipamentos e instalações industriais (GENTIL, 2007).

1.9 Métodos de prevenção e mitigação da biocorrosão

A corrosão em águas profundas ocorre em condições muito específicas, sendo caracterizada, principalmente, pela baixa concentração de O_2 e presença de gases como CO_2 e H_2S , por uma população microbiana característica e grande quantidade de cloretos dissolvidos na água. Estudar alternativas para diminuir o custo de manutenção com a corrosão em ambiente tão agressivo, faz-se necessário (MARIANO *et al.*, 2006).

Existem vários métodos empregados para controlar ou evitar a formação da biocorrosão. A escolha do método, no entanto, depende da eficiência pretendida e da estimativa de custos.

Devido à dificuldade em compreender os processos de biocorrosão e bioincrustação, quando ocorrem problemas em equipamentos, na maioria dos casos, estes não são diagnosticados corretamente. Tais problemas vão desde grandes contaminações microbianas e conseqüente perda da eficiência, à falhas estruturais devido à corrosão. (VIDELA, 2002).

Métodos comumente utilizados para prevenção e controle da corrosão microbiológica podem ser divididos em várias categorias: (I) procedimentos de limpeza, (II) biocidas, (III) revestimentos; e (IV) proteção catódica (VIDELA, 2002).

A implementação de métodos para prevenir a biocorrosão devem abordar duas questões fundamentais:

- (I) a inibição do crescimento e / ou atividade metabólica de micro-organismos.
- (II) modificação do ambiente em que o processo de corrosão ocorre para evitar a adaptação dos micro-organismos às condições existentes.

A seguir serão listados alguns métodos empregados para prevenir e controlar a corrosão microbiológica.

1.9.1 Limpeza mecânica

A limpeza mecânica é um método de eliminação física de qualquer produto de corrosão depositado em superfícies. Inclui escovação, jatos d'água de alta pressão e passagem de "pigs".

"Pig" é um termo utilizado para qualquer dispositivo que é inserido em um duto e que viaja livremente, dirigido pelo próprio fluxo (água, gás ou seu próprio fluído). Durante o seu percurso, remove incrustações, depósitos orgânicos, ou qualquer material aderido.

A remoção das camadas de biofilme pode ocorrer através do uso de "pigs" em duto metálico de forma a limpar a parede do mesmo. O uso de "pigs" de limpeza é um método preventivo indispensável em tubulações internas, pois além de aumentar a vida útil e a eficiência de linhas de injeção, auxilia o transporte de fluidos através dos dutos (GONÇALVES, 2002).

Este método não substitui o tratamento de água e deve ser usado em conjunto com um biocida. É importante considerar que este tipo de limpeza garanta a remoção de qualquer depósito da superfície, evitando assim a formação de pites (VIDELA, 2002).

1.9.2 Seleção de materiais

Uma das maneiras de impedir ou minimizar os problemas causados pela corrosão é a escolha do material. Deve-se levar em conta fatores como o ambiente ao qual será exposto, o custo do material, a resistência a corrosão do material no meio, revisão do projeto e inspeção (GONÇALVES, 2002).

1.9.3 Revestimentos

Geralmente, os revestimentos aplicados através da pintura constituem um bom método de prevenção contra a CMI. Contudo, imperfeições podem ocasionar a formação de sítios preferenciais para um ataque localizado. Silicone e resinas tipo epóxi são alguns tipos de revestimentos utilizados contra a corrosão microbiológica, já que não são tóxicos (GALVÃO, 2008).

Em sistemas abertos, onde não se podem usar biocidas, utilizam-se as pinturas *antifouling* (utilizado para eliminar depósitos, inorgânicos ou biológicos, localizados sobre a superfície metálica de equipamentos) como método de controle microbiano. (VIDELA, 2003).

1.9.4 Limpeza química

Em geral, a limpeza química é aplicada após a limpeza mecânica. Esse método é mais eficaz em espaços de difícil acesso e zonas de ataque localizado.

Na limpeza química são usados ácidos inorgânicos, ácidos orgânicos e agentes quelantes (compostos orgânicos e inorgânicos capazes de formar complexos com íons metabólicos) (VIDELA, 2003).

O tratamento com substâncias químicas, denominadas biocidas, é um dos métodos mais utilizados contra a CMI (VIANA, 2009).

1.9.5 Proteção catódica

Proteção catódica (PC) é uma técnica que elimina a corrosão em estruturas metálicas. Consiste em transformar a estrutura a proteger no catodo de uma célula eletroquímica ou eletrolítica, ou seja, eliminam-se as áreas anódicas da superfície do metal, fazendo com que toda a estrutura adquira comportamento catódico (DUTRA e NUNES, 2006). Esta técnica é empregada em estruturas enterradas ou submersas e de concreto armado.

O emprego da técnica de proteção catódica tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas devido aos milhões de quilômetros de tubulações enterradas e submersas, às grandes instalações portuárias, embarcações de todos os portes e aos tanques de armazenamento (DUTRA e NUNES, 2006).

1.9.6 Biocidas

Biocidas são substâncias químicas tóxicas utilizadas para reduzir ou prevenir contaminações microbianas. A utilização de biocidas é o método mais empregado para prevenir a corrosão microbiológica (PENNA, 2004). A desvantagem dos biocidas está relacionada principalmente a sua toxicidade, o que acarreta em riscos à saúde humana e ao meio ambiente (GENTIL, 2007). Os principais biocidas utilizados são: cloro, ozônio, bromo, isotiazolina, sais quaternários de amônio, glutaraldeído e acroleína (VIDELA, 2002). A ação desinfetante de um biocida deve cumprir três funções básicas: ser bactericida, fungicida e algicida.

Para uso industrial, um biocida deve ter seletividade na eliminação dos microorganismos, não ser corrosivo para os metais do sistema, ter baixo custo, apresentar adequada biodegradabilidade e ter a capacidade de manter o efeito inibidor diante de outras substâncias presentes no meio em condições semelhantes às de operação (VIDELA, 2003).

Estudos têm mostrado que o uso de biocida deve ter eficácia no combate à formação de biofilme e não nas células de vida livre, devido ao fato das bactérias presentes no biofilme serem mais resistentes aos antibióticos e biocidas do que as células planctônicas. Além disso, testes baseados em células planctônicas não são representativos das condições reais da superfície de materiais (GU *et al.*, 2000).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta etapa, foi estudada a ação de bactérias na corrosão do aço carbono 1020 através de ensaios de imersão total (perda de massa), curvas de polarização, e quantificação de micro-organismos. A caracterização da superfície corroída foi realizada por microscopia óptica e eletrônica e o produto de corrosão foi analisado por DRX e EDS.

2.1 Preparação dos eletrodos de trabalho (corpos-de-prova)

- Ensaio de imersão total e quantificação celular: Foram confeccionados 20 cupons retangulares de aço carbono AISI 1020, com uma área média em torno de 12 cm^2 , sendo 15 para os ensaios de imersão total e quantificação das células planctônicas e 5 para a quantificação das células sésseis. Os corpos de prova foram polidos em ambas as faces com lixas d'água de 100 a 600 mesh de granulometria, lavados exaustivamente com água destilada e com álcool etílico para remoção de gorduras e umidade e secos com jato de ar quente. Em seguida, foram acondicionados em dessecador até o momento da imersão no meio corrosivo.
- Ensaio de polarização: foram confeccionados 24 eletrodos também de aço carbono AISI1020 com área média exposta de aproximadamente 3 cm^2 . Um fio condutor de cobre foi soldado em cada peça metálica para estabelecer a conexão elétrica do sistema e embutidas em resina epóxi para que apenas uma de suas faces ficasse exposta na solução. O processo de polimento e limpeza dos corpos de prova foi similar àquele usado para os ensaios de imersão total, exceto pelo fato que apenas a área exposta do eletrodo foi preparada.

A Figura 10 apresenta os modelos de corpos de prova usados para os ensaios de imersão total, quantificação celular e polarização.

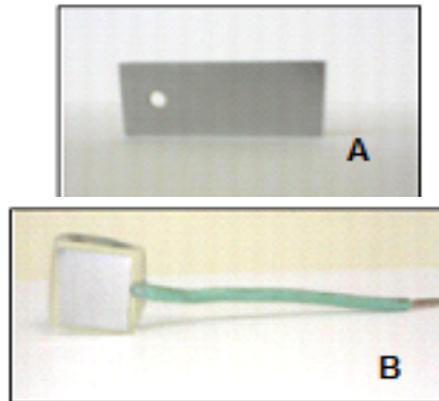


Figura 10: Corpos de prova utilizados nos ensaios de imersão total e quantificação celular (A) e polarização (B)

A composição química do aço-carbono AISI 1020 utilizado, em %massa, foi: C - 0,16; Mn - 0,63; P - 0,012; $S_{\text{máx}}$ - 0,031; Si - 0,012; Cu - 0,01; Cr - 0,03; Ni - 0,01.

2.2 Meio de cultura e fluido do processo

O agente microbiológico escolhido para o desenvolvimento do trabalho foi o grupo de bactérias conhecido como bactérias redutoras de sulfato (BRS), que são formadas por diversas espécies. Para isso, foi coletada amostra de ferrugem presente numa tubulação submersa na Baía de Guanabara (RJ) como mostra a Figura 11.



Figura 11: Tubulação com produtos de corrosão

A camada de ferrugem foi raspada e em seguida inoculada em frascos de 50 mL contendo meio Postgate C modificado (POSTGATE, 1984), o qual é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Composição do meio Postgate C utilizado nos ensaios de crescimento microbiano

Meio Postgate C modificado para BRS (Postgate, 1984).

Composição	Quantidade
KH ₂ PO ₄	0,50 g
NH ₄ Cl	1,00 g
Na ₂ SO ₄	4,50 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,04 g
MgSO ₄ .6H ₂ O	0,06 g
Lactato de sódio (50% p/v)	9,40 mL
Extrato de levedura	1,00 g
Citrato de sódio.7H ₂ O	0,30 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,004 g
Ágar	1,90 g
Resazurina	4,00 mL
Água do mar sintética	1000 mL

O meio foi preparado em condições anaeróbias, sob purga de nitrogênio, devido ao metabolismo redutor das BRS. O pH do meio foi ajustado para 7,6 com solução de NaOH 1 mol/L, esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos. Os frascos inoculados foram incubados em estufa BOD 411D da NOVA ÉTICA a uma temperatura de 30°C. O fluido para o processo de ensaios escolhido foi água do mar sintética. Esta

possibilita uma constância nas concentrações dos diferentes componentes. Além disso, a água do mar, assim como diversos tipos de água industrial, constitui excelente eletrólito devido ao seu conteúdo salino, facilitando a condução da eletricidade de uma região negativa para outra positiva (VIDELA, 2003). Os constituintes da água do mar sintética estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Composição da água do mar sintética

	Massa (g)	Observações (Os sais são dissolvidos em água destilada)
Solução 1		
NaF	0,03	Completar o volume para 1L
SrCl ₂ .6H ₂ O	0,20	
H ₃ BO ₃	0,30	
KBr	1,00	
KCl	7,00	
Solução 2		Completar o volume para 2 L
CaCl ₂	11,13	
Solução 3		Completar o volume para 2 L
Na ₂ SO ₄	40,00	
Solução 4		Completar o volume para 1 L
MgCl ₂ .6H ₂ O	107,80	
Solução 5		Completar o volume para 2 L
NaCl	235,00	
Solução 6		Completar o volume para 1 L
NaSiO ₃ .9H ₂ O	0,20	
Na ₂ EDTA	0,01	
NaHCO ₃	2,00	

Fonte: Adaptado de Pagnin (2008).

As soluções são feitas separadamente para melhor homogeneização, em seguida são colocadas em um balão volumétrico e avolumadas a 10L. Esta solução é feita sob agitação, cerca de 20 horas, em seguida é filtrada em membrana com 0,45 μ m de diâmetro de poro.

2.3 Sistema reator para os ensaios de CMI

Os ensaios de CMI foram conduzidos em frascos de 100 mL de capacidade, denominados reatores, contendo para os ensaios em branco, 80 mL de meio Postgate C e para os ensaios com BRS, 80 mL do meio em questão inoculado a 10% v/v. Antes da inoculação, os reatores (já contendo o meio) foram esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121°C.

Para os ensaios de imersão total, os cupons de aço foram previamente pesados em uma balança analítica BIOPRECISA FA2104N (precisão = 0,1 mg). Antes da imersão nos meios contendo micro-organismos e nos ensaios em branco, os corpos de prova foram esterilizados em fluxo laminar por 20 minutos (cada face), pela ação da luz ultravioleta (UV). Os ensaios foram conduzidos em duplicata, à exceção do branco em que não foram utilizadas replicatas. Assim, nos ensaios com inóculo, dois corpos de prova foram imersos por vez em cada reator, de maneira que um corpo não entrasse em contato com outro. Os cupons foram fixados ao reator, através de fios de nylon, permanecendo suspensos na solução durante todo o período de exposição. Desse modo, foi possível que toda área superficial dos cupons ficasse em contato com o meio, de forma regular. Durante a imersão e fixação dos corpos de prova, os meios foram purgados com N₂, de modo a garantir uma baixa concentração de O₂ dissolvido. O tempo total do experimento foi de 35 dias. A Figura 12 apresenta um exemplo de reatores usados para os ensaios de imersão total.



Figura 12: Reatores utilizados nos ensaios de perda de massa com 28 dias de exposição: sem inóculo (esquerda), com inóculo (direita)

Os experimentos de polarização foram realizados em triplicata, também à exceção do branco. Porém, em função do tamanho do eletrodo, apenas um foi imerso em cada reator, após esterilização prévia, em fluxo laminar (Figura 13). De modo similar ao que foi descrito para os ensaios de imersão total, o meio foi purgado com N_2 durante o processo de imersão. Também, neste caso, os ensaios duraram 35 dias.



Figura 13: Reatores representativos do ensaio de polarização com 7 dias de exposição: com inóculo (esquerda) e sem inóculo (direita)

2.4 Quantificação das células

A quantificação das células planctônicas foi realizada em dois momentos: nos sistemas reatores destinados aos ensaios de imersão total e nos reatores destinados à quantificação das células sésseis. Assim, a cada semana, foi retirada alíquota diretamente do meio corrosivo, de ambos os reatores, para quantificação destas células.

Para a quantificação das células sésseis, o cupom metálico foi retirado assepticamente do meio corrosivo e transferido para um frasco contendo solução de diluição (Tabela 3) para extrair o biofilme ali aderido. O corpo de prova foi então agitado em vórtex por 4 minutos e depois sonificado por 2 minutos em sistema de limpeza ultrasônica - BRANSON 200. Após a remoção do biofilme, foram retiradas alíquotas da suspensão para quantificação.

Tabela 3: Composição da solução de diluição

Reagentes	Quantidade
Tioglicolato de Na	0,124 g/L
Ácido ascórbico	0,100 g/L
Solução de resazurina 0,025 %	4 mL/L
Água do mar sintética	1000 mL

Fonte: Adaptado de PENNA, 2004.

A quantificação das BRS foi feita através da técnica do número mais provável (NMP). O método em questão fornece uma estimativa do número de organismos vivos, presentes em uma amostra, capazes de se multiplicar em um meio de cultura líquido. Os resultados são obtidos através da tabela de probabilidades que fornece o número mais provável de micro-organismos/mL de uma primeira diluição (HARRIGAN, 1997).

Tanto para as bactérias sésseis como planctônicas inoculou-se 1 mL da amostra em frascos com 9 mL de meio Postgate E modificado (POSTGATE, 1984), o qual é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4: Composição do meio Postgate E para quantificação microbiana

Meio Postgate E modificado para BRS	
Composição	Quantidade
KH ₂ PO ₄	0,50 g
NH ₄ Cl	1,00 g
Na ₂ SO ₄	1,00 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,67 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,83 g
Lactato de sódio (50% p/v)	7,00 mL
Acetato de sódio	2,00 g
Extrato de levedura	1,00 g
Ácido ascórbico	0,10 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,50 g
Ágar	1,90 g
Resazurina	4,00 mL
Água do mar sintética	1000 mL

Foram utilizados frascos de penicilina devidamente vedados (com rolhas de borrachas e lacres metálicos) após a purga de nitrogênio. Em todos os casos de análise de NMP, a presença de BRS em tubos e frascos é avaliada pela formação do precipitado escurecido de sulfeto ferroso. O tempo de incubação foi de 28 dias a 30 °C. A Figura 14 exemplifica o método de quantificação por NMP.



Figura 14: Exemplificação do método de quantificação por NMP: os frascos escurecidos indicam a presença de BRS nas diversas diluições

2.5 Ensaios de imersão total (perda de massa) e taxa de corrosão

Os corpos de prova de aço carbono AISI 1020 foram pesados antes do início dos ensaios e após o término do experimento. Antes da pesagem final, os corpos de prova foram tratados por decação ácida em solução de Clark por 2 minutos. Este tempo foi definido após levantamento da curva de decação. A solução de Clark, consistindo de 100 mL de ácido clorídrico (HCl), 2g de óxido de antimônio III (Sb_2O_3) e 5g de cloreto estanhoso (SnCl_2), tem por função eliminar os produtos da corrosão aderidos à superfície do metal. Antes de cada pesagem e após eliminação dos produtos de corrosão pela solução de Clark, o corpo de prova era lavado com água destilada, álcool etílico e seco com jato de ar quente e só então era efetuada a pesagem final.

Os dados obtidos, correspondentes à diferença das massas de cada um dos corpos de prova pesados, antes e após o experimento, foram utilizados para a determinação da taxa de corrosão, em mm/ano. A taxa de corrosão foi calculada através da Equação 2 (VIEIRA *et al.*, 2008):

$$\text{Taxa de corrosão (mm/ano)} = 3650 \cdot \frac{\Delta m}{\Delta t} \cdot \frac{1}{d \cdot A} \quad (2)$$

Sendo:

Δm → perda de massa após o período de exposição (g)

Δt → tempo de exposição (dias)

d → densidade do aço carbono 1020 = 7,8 g/cm³

A → área superficial do cupom (cm²).

3650 → Ano (x10)

Com o intuito de avaliar a taxa de corrosão do aço carbono durante o ensaio de perda de massa, foi proposta a utilização da Norma NACE RP-07-75 (1999) apresentada na Tabela 5.

Tabela 5: Classificação da corrosividade em função da taxa de corrosão.

Taxa de Corrosão uniforme (mm/ano)	Corrosividade
< 0,025	Baixa
0,025 a 0,12	Moderada
0,13 a 0,25	Alta
> 0,25	Severa

2.5.1 Avaliação do aspecto dos corpos de prova

Antes de determinar a massa dos corpos de prova, após os ensaios de imersão total foram realizadas observações e fotografias do aspecto dos cupons metálicos a cada 7 dias de exposição ao meio corrosivo, utilizando microscópio estereoscópico Olympus TL3. O intuito foi verificar o comportamento dos corpos de prova expostos ao meio corrosivo com e sem bactérias, além de observar a deposição de material sobre as superfícies.

2.6 **Ensaio de polarização**

Os ensaios de polarização do aço carbono foram realizados inicialmente 2 horas após imersão do eletrodo no meio corrosivo ($t = 0$ dia) e, posteriormente a cada 7 dias

de exposição. As medidas do potencial de corrosão (E_{corr}) e o levantamento das curvas de polarização potenciodinâmicas foram obtidos utilizando o potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT302N com uma célula contendo três eletrodos: o próprio eletrodo de aço exposto ao meio em questão (eletrodo de trabalho), o eletrodo de referência de calomelano saturado (ECS), e um contra-eletrodo de platina, como mostra a Figura 15. As curvas de polarização foram determinadas em uma faixa de potencial de $-1,2 V_{\text{ECS}}$ a $0 V_{\text{ECS}}$ com uma velocidade de varredura de 20 mV/min. Estas condições foram baseadas em estudos anteriores sobre corrosão de BRS (CETIN e AKSU, 2009; GALVÃO, 2008; KUANG *et al.*, 2007).

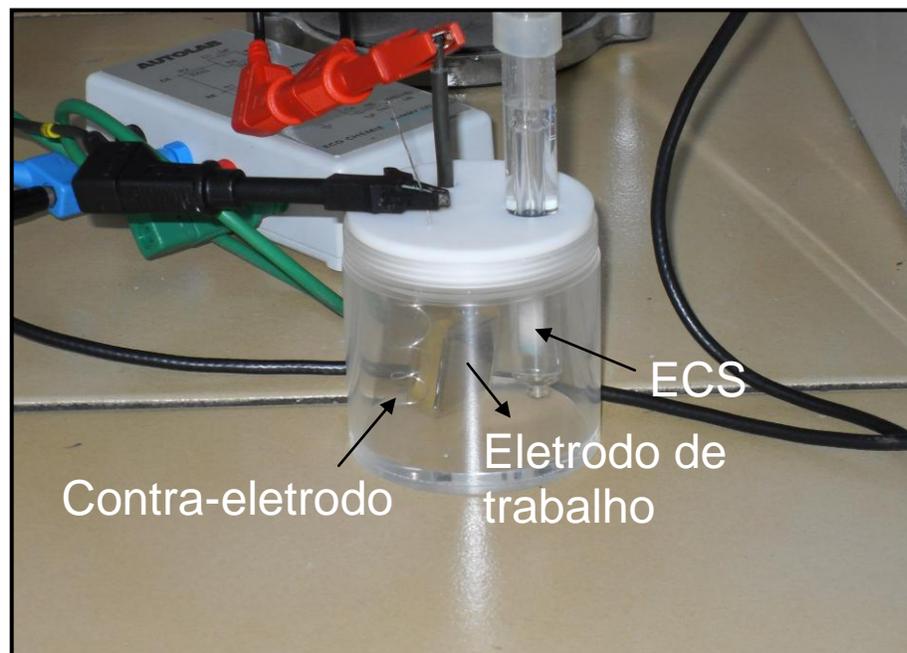


Figura 15: Célula de ensaio contendo os três eletrodos

2.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS)

A deterioração de metais por colonização de biofilmes é normalmente avaliada qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura. Esta técnica fornece informações sobre a morfologia das células microbianas e as colônias, distribuição dos micro-organismos na superfície metálica e presença de SPE. Além disso, revela o tipo

de ataque, (localizado ou generalizado, por exemplo) mostrando mudanças na microestrutura do metal após a remoção do biofilme (BEECH e GAYLARDE, 1999).

A análise de MEV foi realizada no corpo de prova exposto ao meio com inóculo para observação do biofilme aderido na superfície do metal. Após 35 dias de ensaio, o cupom metálico foi retirado do sistema, lavado cuidadosamente com água destilada, álcool etílico e em seguida acondicionado em dessecador por 3 horas e meia, para então ser metalizado com ouro. As fotografias, feitas no MEV – LEO 1450VP da Carl Zeiss do Brasil, foram realizadas num microscópio de pressão variável (baixo vácuo), sem precisar passar pelas etapas de fixação e desidratação, comumente empregadas para análises de micro-organismos em condições de alto vácuo (CETIN e AKSU, 2009; XU *et al.*, 2007.).

A análise de EDS realizada no aparelho IXRF Systems, modelo EDS 2000 com filamento de radiação tungstênio, foi feita no verso do corpo de prova, devido ao fato do ouro se sobrepor ao pico do enxofre, impossibilitando sua visualização (PAGNIN, 2008).

2.8 Análise de difração de raios X

O uso da difração de raios X (DRX) tem sido amplamente empregado em análises de superfícies, pois permite determinar a composição química dos produtos de corrosão em ligas metálicas (BEECH, 2004). Neste caso, as análises foram feitas em dois corpos de prova (com e sem inóculo) somente ao final do experimento (35 dias de ensaio). O corpo de prova foi lavado cuidadosamente com água destilada e álcool etílico e seco com jato de ar quente.

A análise de DRX foi realizada no Departamento de Química Analítica – IQ – UERJ, utilizando o aparelho Desktop X-ray Diffractometer Miniflex II da RIGAKU. A medida foi realizada no intervalo de 0 a 80° com velocidade de varredura de 0,060° por passo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do Crescimento Microbiano

O inóculo inicial (tempo zero) utilizado em todos os ensaios foi de $4,5 \times 10^5$ células/mL, pois o inóculo utilizado em todos os ensaios foi retirado do mesmo frasco de penicilina. Este valor garantiu que os dois ensaios (polarização e imersão total) fossem realizados com um número expressivo de células. Além disso, esta concentração inicial manteve um número de células viáveis que foram capazes de se reproduzir nas condições impostas de temperatura, pH e baixo teor de oxigênio.

A quantificação das BRS foi feita no fluido do ensaio (células planctônicas) e nas bactérias aderidas ao substrato metálico (células sésseis) a cada 7 dias.

Os resultados obtidos na contagem das bactérias planctônicas realizadas pela técnica do NMP estão apresentados na Figura 16.

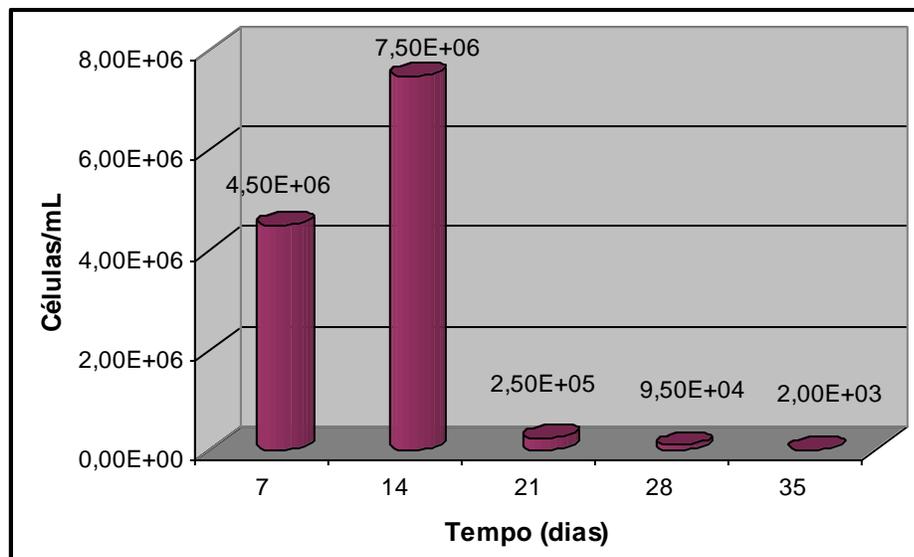


Figura 16: Colonização de BRS planctônicas ao longo de 35 dias de ensaio

A Figura 16 mostra que, decorridos 7 dias, houve um aumento considerável no número de células planctônicas de BRS. No 14º dia de ensaio a população de BRS alcançou o seu valor máximo ($7,5 \times 10^6$ células/mL), sendo observado um intenso

enegrecimento no fluido do processo, devido à formação do precipitado de FeS. Pagnin (2008) realizou avaliação da formação de biofilmes em aço superduplex e a partir de uma concentração inicial de BRS similar àquela utilizada neste trabalho (concentração de BRS no tempo zero de $7,5 \times 10^5$ células/mL), verificou um maior número de células no 15º dia de ensaio, de modo similar ao que foi visto no presente ensaio. A partir desse estágio, porém, pode-se notar a partir da Figura 16 um decréscimo significativo do número de células planctônicas. Esta queda pode estar relacionada à falta de nutrientes e/ou à geração biogênica do sulfeto de hidrogênio. Segundo Gonçalves (2001), o produto do metabolismo das BRS, o sulfeto de hidrogênio, é considerado um inibidor de crescimento quando presente em concentrações elevadas.

Kuang *et al.* (2007), em trabalho realizado para verificar o efeito das BRS na corrosão do aço carbono D36 mostraram que, a curva de crescimento de BRS em água do mar apresentou um aumento significativo no início do ensaio e depois decaiu. Os autores em questão também relacionam esta queda à concentração de sulfeto gerado pelo metabolismo das BRS.

No presente experimento, a partir do 21º dia de ensaio, o número de células planctônicas diminuiu em uma ordem de grandeza, mantendo esta proporção até o final do ensaio. Paralelamente, foi constatado visualmente que a espessura do biofilme aderido à superfície do metal aumentou neste estágio. Esse fato sugere que o decréscimo das bactérias planctônicas pode estar relacionado à capacidade destas em aderir e colonizar superfícies sólidas, aumentando o número de bactérias aderidas à superfície do metal e diminuindo o número de células em solução (GALVÃO, 2008).

Segundo Gayosso *et al.* (2004) a cinética de crescimento dos micro-organismos planctônicos é diferente da encontrada nos micro-organismos sésseis. Devido a este fato, é muito importante determinar a cinética de crescimento das bactérias sésseis quando se estuda os processos de CMI.

A seguir, estão registrados na Figura 17 os resultados obtidos na contagem das células sésseis, após remoção do biofilme aderido à superfície do metal, também pela técnica do NMP.

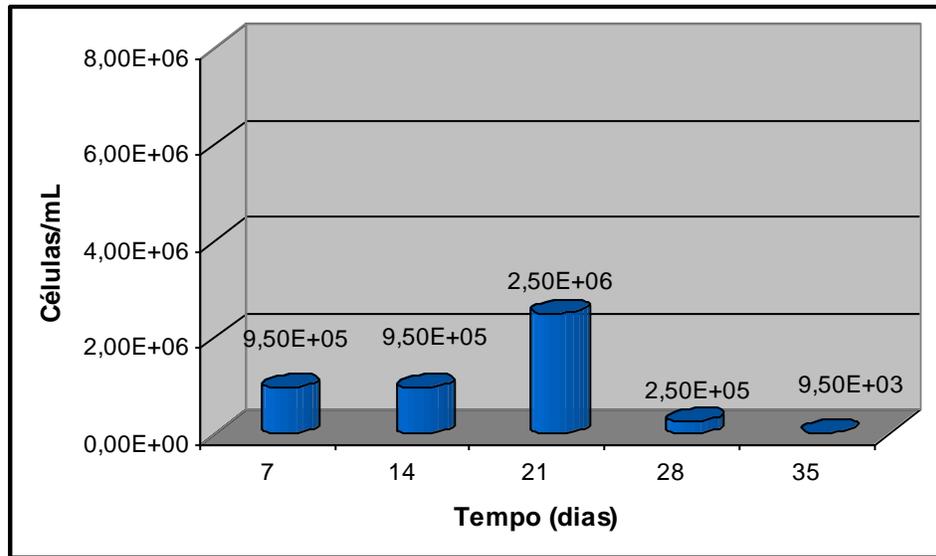


Figura 17: Colonização de BRS sésseis ao longo de 35 dias de ensaio

Analisando o crescimento das células sésseis, é possível observar que durante os 35 dias de ensaio a população séssil apresentou valores mínimo e máximo de $9,5 \times 10^3$ e $2,5 \times 10^6$ células/mL, respectivamente. Contudo, a maior concentração de bactérias ocorreu no 21º dia de ensaio, sendo justamente o dia em que se observou uma redução no número de células planctônicas. Ou seja, com três semanas de imersão foi constatada visualmente maior espessura do biofilme aderido ao corpo de prova, e essa aderência provavelmente ocorreu devido à liberação de exopolímeros pelas BRS. Segundo Chan *et al.* (2002), além das *Pseudomonas*, por exemplo, as BRS também são capazes de produzir SPE.

A partir do 28º dia ocorreu uma redução considerável no número de bactérias sésseis aderidas ao biofilme, embora as concentrações se mantivessem ainda maiores do que aquelas verificadas nas células planctônicas. A queda na concentração de células sésseis no sistema pode ser atribuída também à falta de nutrientes e/ou ao aumento da concentração de H_2S . Segundo Barton e Tomei (1995), a tolerância ao sulfeto (544 mg/L) varia de acordo com as condições de cultivo, como pH, temperatura, concentração de fósforo e pressão, além da espécie envolvida. Provavelmente, estas condições variaram do meio para o biofilme.

A presença de micro-organismos na superfície metálica, muitas vezes acarreta em mudanças altamente localizadas na constituição do eletrólito, na faixa de pH e na concentração de oxigênio do meio. A Figura 18 apresenta a variação do pH do meio na presença e ausência de BRS ao longo dos 35 dias de ensaio.

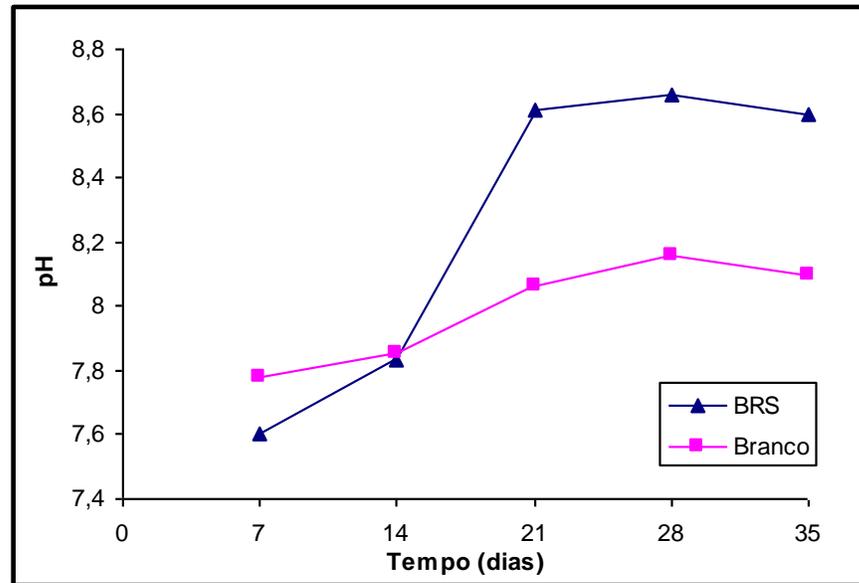


Figura 18 – Variação do pH do meio de acordo com o tempo de imersão

O monitoramento do pH dos meios, antes e depois da imersão dos cupons metálicos, a cada 7 dias, mostrou um aumento do pH para ambas as condições, embora o efeito em presença das BRS tenha sido mais significativo.

Nos ensaios com inóculo, pode-se observar, após o 14º dia de ensaio, um aumento considerável no pH do meio. Entre o 21º ao 35º dia de ensaio, o pH do meio permaneceu na faixa de 8,6. Segundo Gonçalves (2001), o valor de pH ideal para o desenvolvimento das BRS está compreendido na faixa entre 7,0 e 7,8.

Vale ressaltar que o sulfeto de hidrogênio, produto do metabolismo das BRS, quando está presente em concentrações elevadas é considerado um inibidor de crescimento, podendo estar presente sob três formas: H_2S (solúvel), HS^- e S^{2-} , dependendo do pH do meio (STEFANIE *et al.*, 1994). A forma não dissociada (H_2S (solúvel)) é considerada a mais tóxica, pois a molécula neutra pode permear a

membrana celular. Em pH 6,0 a fração de H₂S não dissociada é de 90%, enquanto que em pH 8,0 é de somente 10%.

O fato do pH do meio ter aumentado bruscamente após o 14º dia poderia indicar que a redução do número de células planctônicas está relacionada não somente a produção de H₂S, mas sim ao processo de hidrólise do sulfeto ($S^{2-} + H_2O \rightarrow HS^- + OH^-$). O íon hidroxila (OH⁻) formado, aumentaria o pH do meio.

Após 21 dias de ensaio, o pH do meio se torna constante e o número de BRS planctônicas decresce significativamente (Figura 16). Com isso, provavelmente, não há mais formação de H₂S no sistema. Porém, mesmo que mais H₂S fosse formado no meio, com o aumento do pH, este seria compensado pela sua dissociação. Nesta faixa de pH (7,8 – 8,6), a espécie química predominante é HS⁻, logo, a hidrólise mencionada estaria ocorrendo. Portanto, o pH do sistema possui um papel decisivo na inibição das BRS, por determinar a distribuição da forma de sulfeto solúvel.

É válido ressaltar, porém, que em 21 dias de exposição ao meio corrosivo, a concentração de células sésseis atinge seu máximo, mesmo com o pH do meio em 8,6. Embora não tenham sido realizadas medidas de pH na superfície do eletrodo coberto com o biofilme, é claro supor que condições diferenciadas permitiram que estas células se mantivessem vivas, mesmo com a alteração do pH e da concentração de H₂S do meio. É possível considerar que parte do S²⁻ formado no biofilme, antes de sofrer hidrólise, tenha reagido com o Fe do substrato, gerando FeS_x, e o crescimento microbiano pôde ser mantido antes da sua contaminação por excesso de S²⁻.

3.2 Ensaio de imersão total dos cupons metálicos

Os ensaios de imersão total foram realizados em continuidade à determinação de crescimento microbiano das células planctônicas, ambos no mesmo sistema apresentado na Figura 16.

A taxa de corrosão do aço carbono 1020 foi obtida a partir do cálculo médio da perda de massa usando a Equação 1, e este resultado é apresentado na Figura 19.

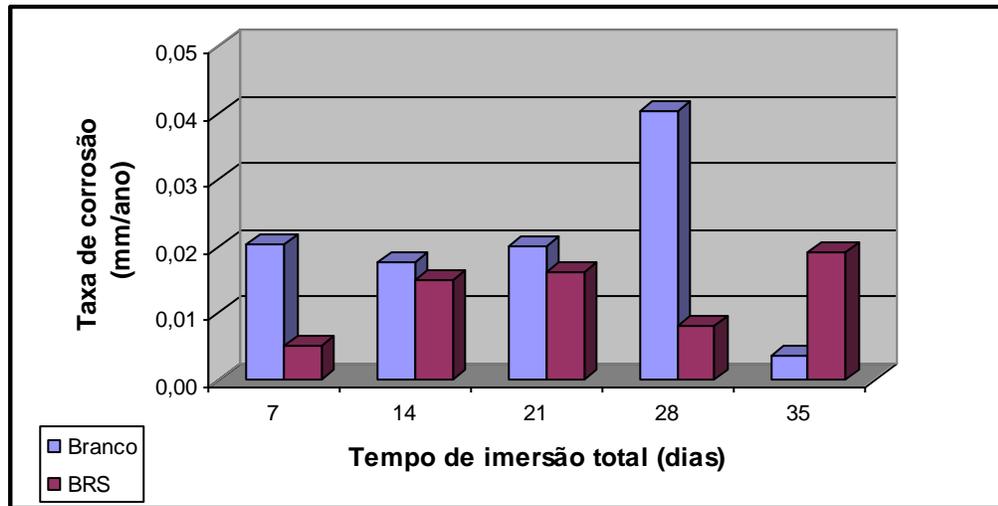


Figura 19: Variação da média da taxa de corrosão ao longo de 35 dias

Analisando as taxas de corrosão nas condições estudadas, nota-se que os ensaios controle (branco) foram sempre mais agressivos aos cupons metálicos do que os ensaios com BRS, a exceção do resultado obtido no 35º dia de exposição.

Estes resultados não podem ser considerados destoantes, se for levado em conta que este tipo de análise é usado para a avaliação de corrosão generalizada (GENTIL, 2007). Apesar desta forma de corrosão estar presente na CMI, segundo Castaneda e Benetton (2008) o tipo de corrosão provocado por BRS é predominantemente por pites (corrosão localizada). Nesta forma de corrosão, a perda de massa superficial é pequena, mas o dano estrutural é muito maior que no caso da corrosão generalizada.

A taxa de corrosão correspondente aos ensaios em branco nas três primeiras semanas não variou muito. A média foi de aproximadamente 0,0194 mm/ano. No 28º dia de experimento foi encontrado o valor máximo da taxa de corrosão na ausência de BRS. A taxa de 0,0404 mm/ano, considerada como moderada de acordo com a Norma NACE RP-07-75 (1999), pode estar relacionada à quantidade de sais dissolvidos no sistema, como por exemplo, cloretos e sulfatos. O cloreto de sódio, por ser um eletrólito forte, provoca um aumento na condutividade do meio, aumentando o processo eletroquímico da corrosão (GALVÃO, 2008).

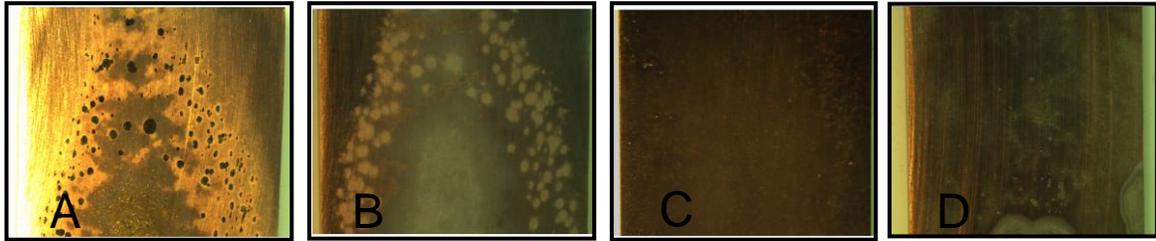
Nos ensaios com BRS, a taxa de corrosão aumentou de acordo com o tempo de exposição. Porém, no 28º dia de imersão a taxa de corrosão diminuiu devido, provavelmente ao efeito protetor do produto de corrosão formado (possivelmente sulfeto ferroso). Segundo Gonçalves (2002), quando um filme de sulfeto ferroso reveste toda a superfície do metal de forma contínua, este protege o metal contra a corrosão. Caso isso não aconteça, o efeito se potencializa, aumentando as taxas de corrosão.

No 35º dia de imersão a taxa voltou a aumentar, sendo encontrado o valor máximo de 0,0191 mm/ano. Nota-se, então, que no 35º dia de ensaio a taxa de corrosão foi maior no meio com a presença de BRS, quando comparada ao meio estéril.

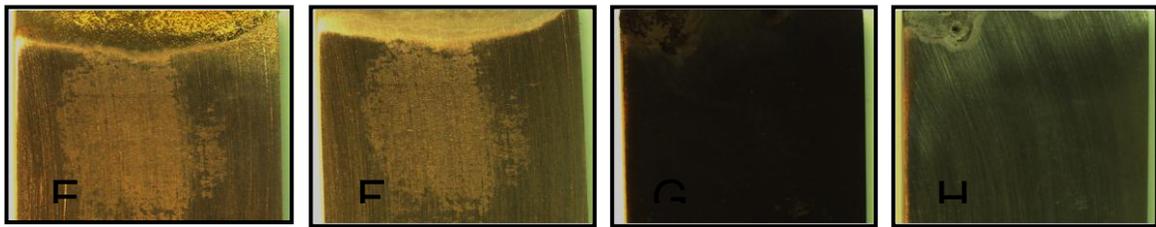
Cetin e Aksu (2009), em estudo realizado para avaliar o comportamento da corrosão em aços de baixa liga na presença de *Desulfotomaculum* sp, obtiveram, ao final de 30 dias de imersão, valores da taxa de corrosão em, $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$, de 4,3 para o ensaio em meio estéril e 18,1 para o ensaio com bactéria, numa proporção quase 4 vezes maior. Convertendo estes resultados para mm/ano obtêm-se 0,047 para o ensaio em meio estéril e 0,200 para o ensaio com bactéria. Proporção semelhante foi obtida no presente trabalho para 35 dias de imersão, ou seja, a taxa de corrosão do aço no meio com BRS é aproximadamente 4 vezes maior do que no meio sem BRS.

Adicionalmente, a Figura 20 apresenta as fotografias superficiais dos corpos de prova submetidos a este ensaio durante os 35 dias, em meios com e sem inóculo, feitas em microscópio estereoscópio.

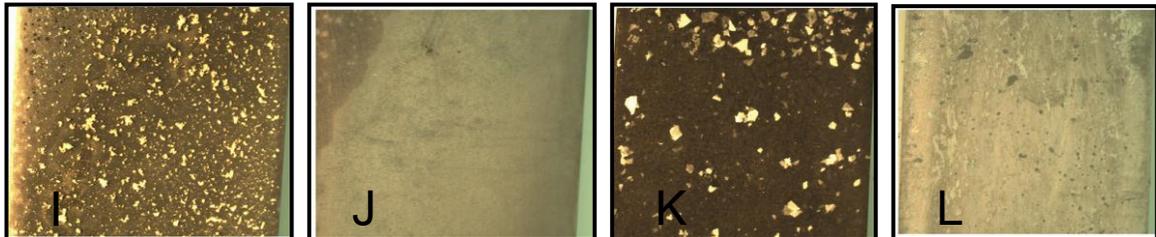
7 dias



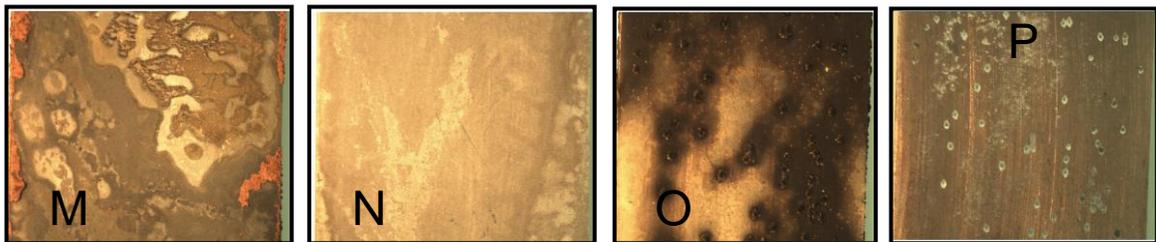
14 dias



21 dias



28 dias



35 dias

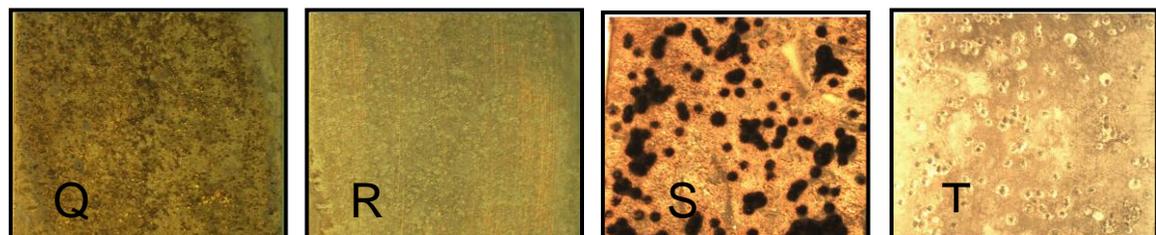


Figura 20 - Superfície dos corpos de prova de aço carbono 1020 durante os 35 dias de imersão total: A, E, I, M, Q) ausência de BRS sem decapar; B, F, J, N, R) ausência de BRS após decapagem; C, G, K, O, S) presença de BRS sem decapar; D, H, L, P, T) presença de BRS após decapagem.

O meio Postgate C utilizado foi preparado em água do mar sintética, a qual é um meio agressivo ao aço carbono. Assim, o que se observou, provavelmente, na superfície do metal nestes ensaios foi a presença de produtos de corrosão, como óxidos de ferro, no meio sem bactérias e sulfeto de ferro no meio com bactérias.

Como é possível notar na Figura 20E, com 14 dias de ensaio verifica-se a deposição, provavelmente, de um produto de corrosão de óxidos de ferro localizada na parte superior do corpo de prova, no ensaio sem inóculo. Já com 21 dias (Figura 20I), este depósito se torna uniforme.

No 28º dia (Figura 20M), houve um aumento significativo da taxa de corrosão, mostrando que este filme ainda não era protetor, apesar de se formarem camadas de óxido de ferro de aparência mais espessa na parte exposta já corroída do metal. Após esse período, possivelmente, o filme já seria protetor para diminuir a corrosão do aço (Figura 20Q). As fotografias confirmam, então, que quanto maior a exposição ao meio corrosivo, maior é a taxa de corrosão para o aço exposto ao meio sem inóculo, principalmente até 28 dias de exposição.

Seria esperado, então, que a presença das BRS neste meio, com sua comprovada capacidade corrosiva, viesse a aumentar ainda mais a corrosão do aço. Contudo, verifica-se pela Figura 19 que a taxa de corrosão ao longo dos 35 dias de ensaio é menor que no meio sem o micro-organismo. Para estes ensaios, o comportamento observado poderia ser atribuído ao biofilme formado na superfície do metal, que inicialmente protegeria o corpo de prova contra a corrosão. Com 14 dias de ensaio, o corpo de prova já apresentava um fino produto de corrosão enegrecido e característico de sulfeto ferroso, além do forte odor de H_2S que exalava do corpo de prova (Figura 20G). De acordo com Cetin e Aksu (2009), os íons Fe^{2+} produzidos na reação anódica do aço reagem com os íons S^{2-} metabolizados pelas BRS, produzindo sulfetos de ferro (FeS_x).

Estudos de Pérez *et al.* (2007) sobre a influência de *Desulfovibrio* sp. na corrosão do aço carbono SAE 1080 em meio marinho sintético comprova que, inicialmente, o biofilme formado inibe os danos causados pela corrosão e que só depois de ocorrida uma mudança química em torno do biofilme (fruto do metabolismo microbiano) é que o processo corrosivo se torna severo. Estes autores mostraram

também que só ocorre uma forte adesão do biofilme no substrato durante a formação do sulfeto de ferro. De fato, a partir do 21º dia o filme superficial se torna mais aderente e espesso com cristais de sais espalhados pela superfície do cupom (Figura 20K). Nesta fase começam a ser formado pites em alguns pontos do corpo de prova (Figura 20L). É válido lembrar que, com 21 dias de exposição obteve-se o máximo número de células sésseis, aderidas ao corpo de prova (Figura 17). A produção de pites aumenta com o tempo de imersão e a Figura 19S mostra um ataque ainda mais intenso, com pontos localizados, característicos da corrosão por BRS em água do mar. A formação de pites profundos nos corpos de prova expostos ao meio com inóculo pode ser melhor visualizada no 35º dia de ensaio (Figura 20T).

3.3 Análises eletroquímicas

3.3.1 Potencial de corrosão

A Figura 21 mostra o deslocamento do potencial de corrosão para cada tempo na ausência e presença de bactérias.

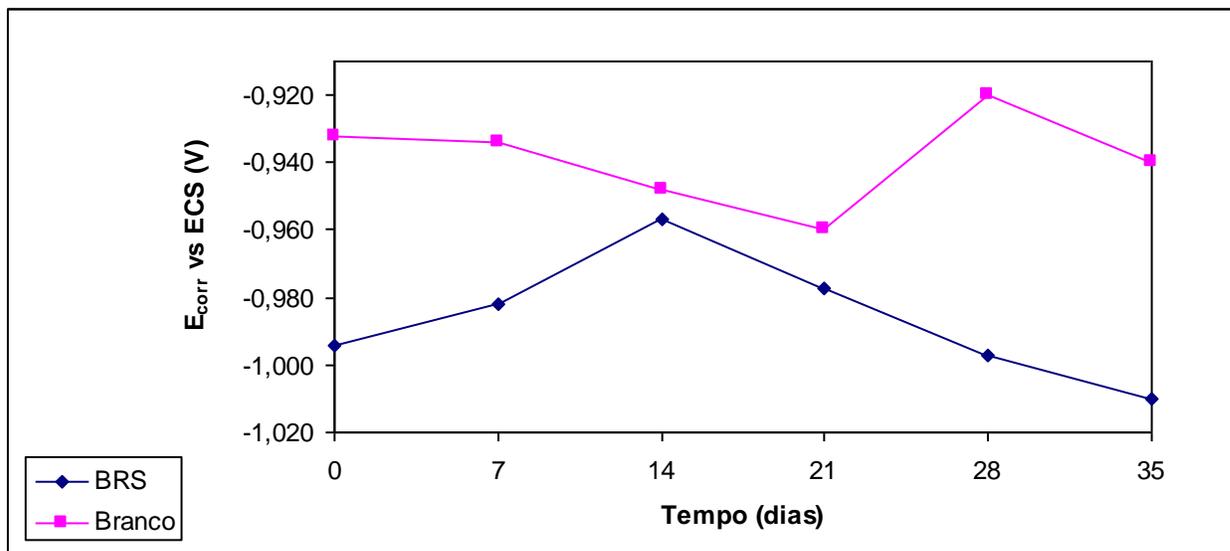


Figura 21: Variação média do potencial de corrosão no aço carbono 1020 com e sem BRS em função do tempo de imersão

É possível observar que a presença de BRS ocasionou o deslocamento do potencial de corrosão para valores mais negativos (mais catódicos) em todos os tempos de ensaio estudados, quando comparado aos ensaios em branco, indicando um aumento no processo de corrosão. Os dois ensaios apresentaram pequenas variações ao longo dos 35 dias de experimento.

Nas primeiras duas semanas de ensaio foi observada a formação de um biofilme na superfície do metal. Este biofilme pode ter inibido inicialmente o processo corrosivo e ter deslocado o potencial para valores mais positivos. Segundo Beech (2004) a biocorrosão só ocorre quando o contato entre as células microbianas, ou os produtos do seu metabolismo, estabiliza-se na superfície do metal.

Nota-se que a partir do 14^o dia o potencial de corrosão diminui, podendo ter ocorrido a aderência da colônia de bactérias na superfície do aço. O deslocamento do potencial para valores mais negativos ocorreu quando as condições de superfície se alteraram como evidenciado na Figura 20K. No 28^o dia de ensaio, ocorreu um aumento no número de células sésseis e a partir deste período é que foi observada a presença de pites (Figura 20P) Com 35 dias de ensaio, foi encontrado menor potencial de corrosão (-1,010 V).

Miranda *et al.* (2006) realizaram avaliação da biocorrosão em duas ligas de aço carbono na presença de bactéria redutora de sulfato, isolada de um óleo reparador onde obtiveram potenciais de corrosão mais negativos quando comparado ao ensaio sem inóculo. Após 48 horas de ensaio o potencial se estabilizou em -570mV vs Ag/AgCl até o final do experimento.

No trabalho de Kuang *et al.* (2007), o efeito do crescimento de BRS nos processos de corrosão do aço carbono, em meio salino, através das medidas de potencial de circuito aberto revelaram um deslocamento para valores mais negativos de acordo com o aumento do número de células, e atingiram um valor estável com o decréscimo no número de células.

3.3.2 Curvas de polarização anódica e catódica com parâmetros eletroquímicos

As curvas de polarização anódica e catódicas do aço foram levantadas no meio Postgate C com e sem inóculo, e os resultados são mostrados na Figura 22.

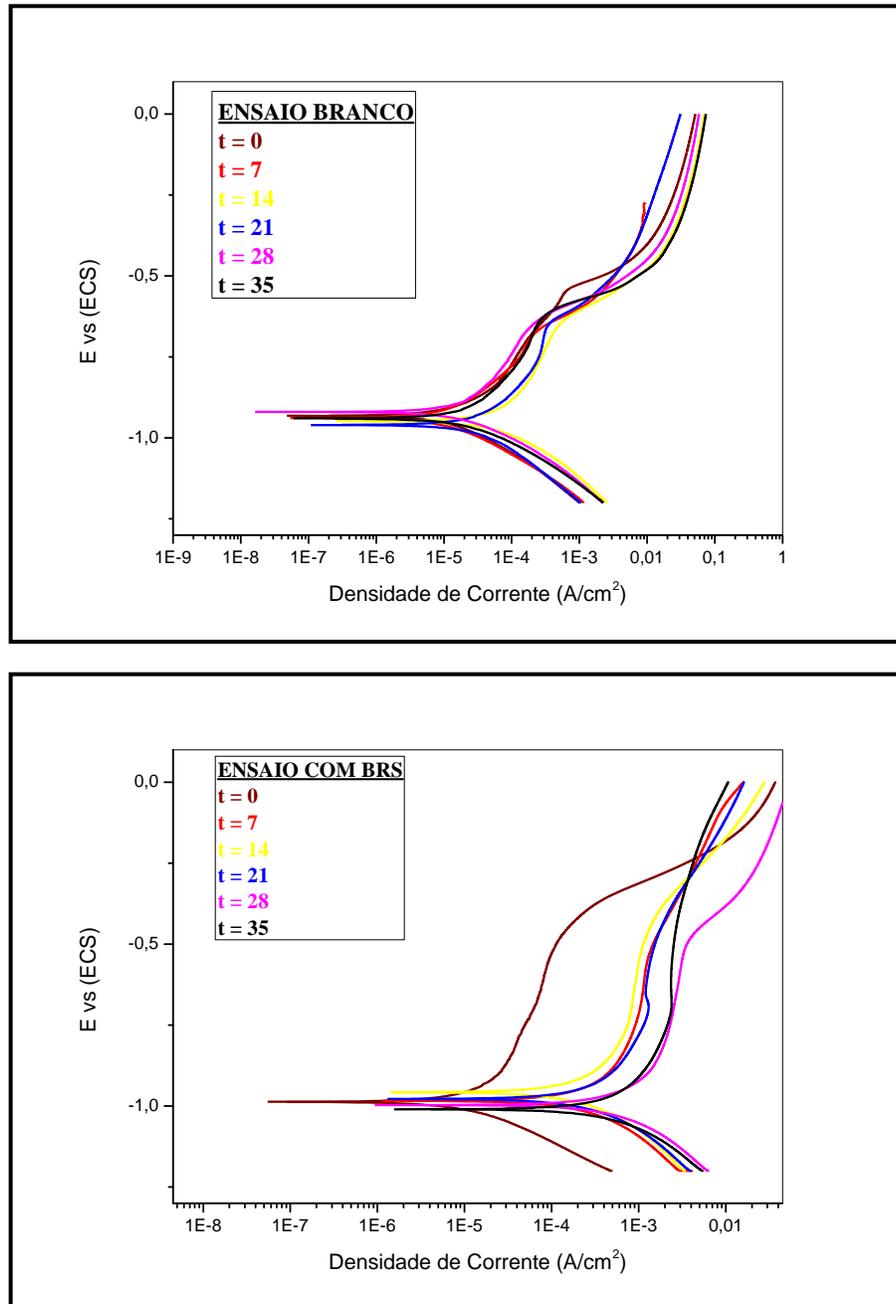


Figura 22: Curvas de polarização do aço carbono 1020 no meio Postgate C na ausência e presença de BRS.

Segundo Videla (2003) e Galvão (2008), quando há presença de micro-organismos no sistema, eles modificam as reações, apresentando uma interação dinâmica, sendo difícil saber ao certo os tipos de reações que estão ocorrendo na superfície metálica no decorrer do tempo. Por isso, não é possível analisar as curvas caso a caso.

É possível observar que não há mudanças significativas na forma das curvas anódicas e catódicas do aço carbono 1020 na ausência e presença de BRS. Esse resultado sugere que os mecanismos dos processos anódicos e catódicos no referido aço não mudam essencialmente nos sistemas contendo BRS. Comportamento similar pode ser visto no trabalho de Kuang *et al.* (2007). Contudo, verifica-se um deslocamento das curvas anódicas e catódicas para maiores valores de densidade de corrente, quando o aço está exposto ao meio contendo micro-organismos. Isto ocorre para todos os tempos de exposição utilizados, exceto para o tempo 0 (duas horas de exposição). Este resultado sugere que a presença de BRS atua sobre ambas as semi-reações eletroquímicas (catódica e anódica). Supondo a semi-reação anódica mais provável como a oxidação do ferro ($\text{Fe} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^-$) a presença das BRS estaria acelerando o processo de corrosão no meio estudado. Embora seja observada a tendência de formação de um filme na superfície (possivelmente FeS_x), este não parece apresentar proteção eficiente contra corrosão. Tais resultados corroboram o que foi visualizado na Figura 20.

Adicionalmente, a Figura 23 mostra os valores da variação média da densidade de corrente de corrosão para cada tempo, onde se constata que a condição mais agressiva para os corpos de prova foi sempre obtida na presença das BRS, aumentando intensamente com o tempo de exposição, até 28 dias.

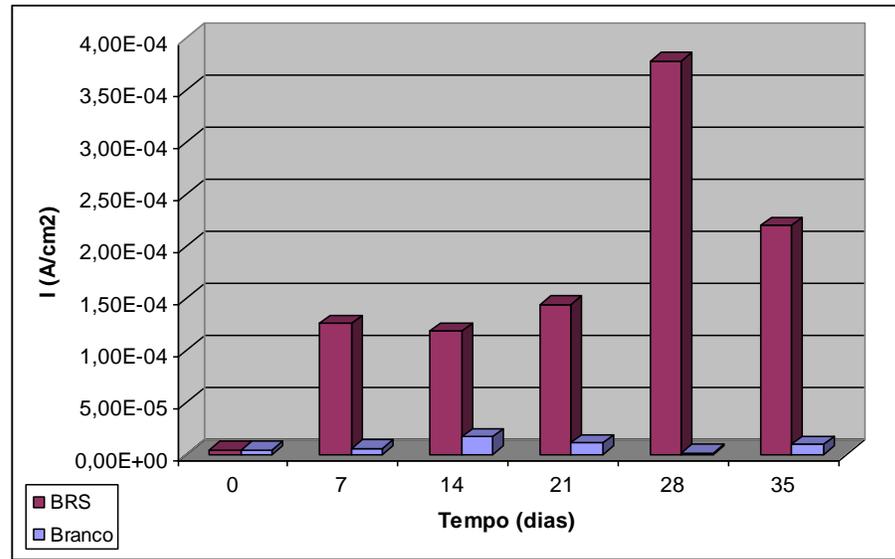


Figura 23 – Variação média da densidade de corrente de corrosão com o tempo (dias).

Verifica-se que a adição de micro-organismos ao sistema aumenta a densidade de corrente de corrosão, o que está em concordância com o que foi verificado na Figura 22. Esse resultado mostra que, realmente, os micro-organismos possuem um efeito acelerador na oxidação do aço carbono. É interessante notar que esse aumento já ocorre após 7 dias de imersão. Por outro lado, a densidade de corrente de corrosão para o meio sem BRS mantém-se praticamente constante, havendo um pequeno aumento entre 14 e 21 dias de exposição.

Os parâmetros eletroquímicos correspondentes ao potencial de corrosão e à densidade de corrente de corrosão, obtida da extrapolação das retas de Tafel podem ser melhor visualizados na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono 1020 na presença e ausência de BRS.

Tempo (dias)	Ensaio com BRS		Ensaio em Branco	
	E_{corr} (V)	I_{corr} (A/cm^2)	E_{corr} (V)	I_{corr} (A/cm^2)
0	-0,994	4,18 E-06	-0,932	4,01 E-06
7	-0,982	1,26 E-04	-0,934	5,55 E-06
14	-0,957	1,18 E-04	-0,948	1,68 E-05
21	-0,977	1,44 E-04	-0,960	1,12 E-05
28	-0,997	3,78 E-04	-0,920	1,29 E-06
35	-1,010	2,87 E-04	-0,940	9,61 E-06

Os resultados obtidos com as curvas de polarização (parâmetros eletroquímicos) dão dimensão do processo eletroquímico. Percebe-se que a diferença entre os valores de densidade de corrente de corrosão obtidos nos ensaios nos meios com e sem BRS atinge a duas ordens de grandeza nos maiores tempos de imersão, conforme já foi observado na Figura 23. O maior valor de densidade de corrente de corrosão foi obtida no meio com BRS, em 28 dias de imersão. Apesar de no 28º dia de ensaio a população de bactérias sésseis ter diminuído, a presença de corrosão por pites foi intensificada a partir deste tempo de exposição, como foi visto na Figura 20. Dessa forma, o aumento da densidade de corrente de corrosão pode estar relacionado a um processo de aeração diferencial, em função do biofilme mal formado, bem como à presença de produtos metabólicos que foram produzidos e permaneceram na superfície do metal, aumentando o processo corrosivo.

Os resultados do presente trabalho indicam que mesmo na ausência de outros grupos de bactérias, as redutoras de sulfato potencializam por si só a corrosão.

3.4 Análises de difração de raios X (DRX)

As fases cristalinas presentes na superfície do aço carbono, após 35 dias de exposição ao meio corrosivo com e sem BRS, foram identificadas pela técnica de DRX. A interpretação do espectro foi efetuada através do sítio www.webmineral.com.

Os resultados de DRX para os experimentos com e sem inóculo são mostrados na Figura 24 (A e B).

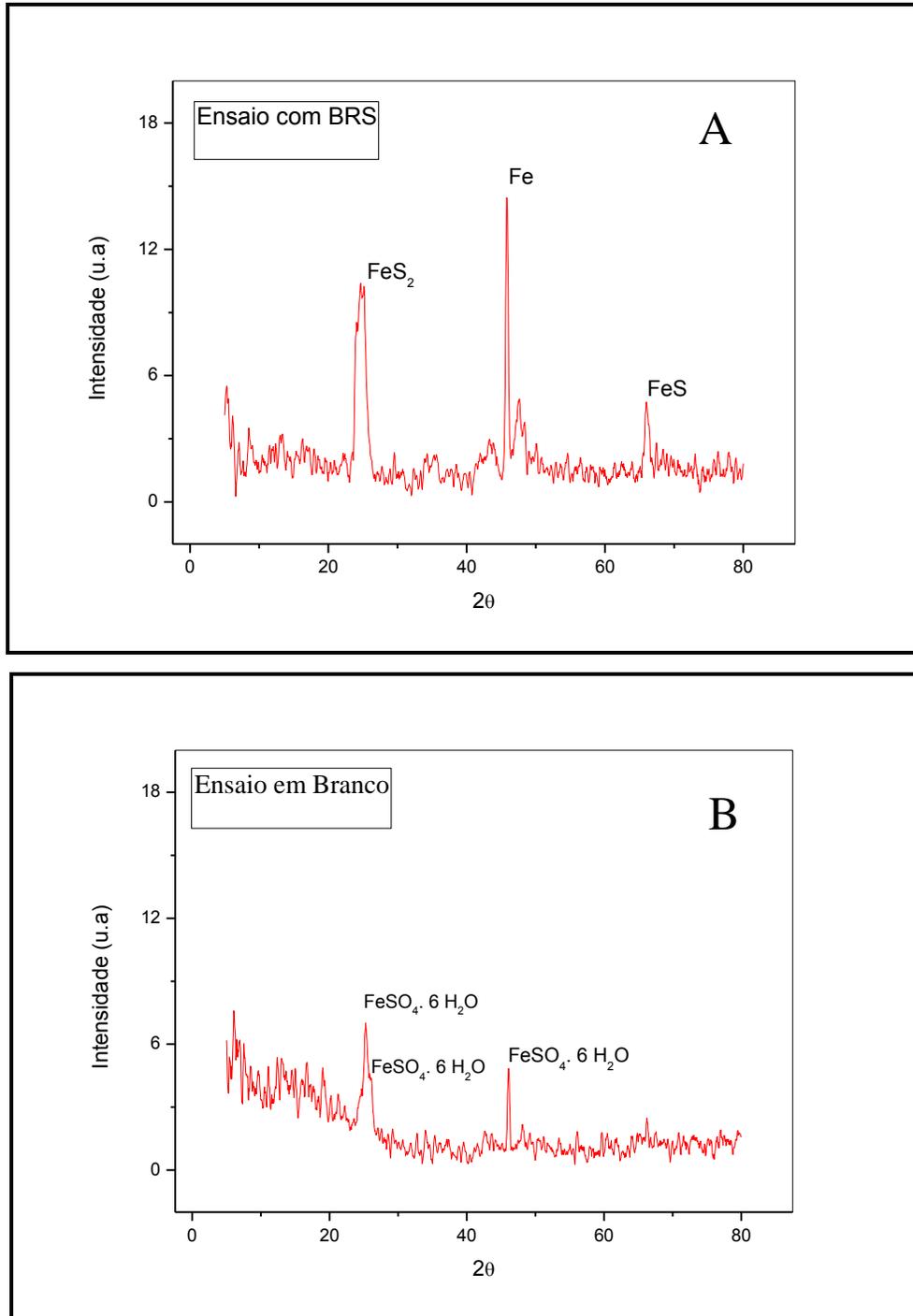


Figura 24: Difratoograma do aço carbono 1020, após 35 dias de imersão: (A) presença de BRS, (B) ausência de BRS

Sabe-se que o sulfeto de ferro pode existir em uma ampla variedade de formas (cristalino e amorfo), cada um com sua característica estequiométrica de ferro / enxofre. Além disso, os produtos de corrosão da CMI são conhecidos por serem uma mistura extremamente complexa de sulfetos, óxidos e carbonatos (JEFFREY e MELCHERS, 2003).

Observa-se na Figura 24 (A) que o ensaio com BRS apresentou picos de sulfeto de ferro na forma de pirita (FeS_2) e troilita (FeS). O pico em 2θ de aproximadamente 44° relaciona-se ao ferro da matriz. Estes resultados concordam com o que foi observado por Jeffrey e Melchers (2003) ao analisarem as alterações morfológicas dos produtos de corrosão microbianos em aço leve, imersos em água do mar, através da DRX.

No ensaio em branco (Figura 24 B), foram encontrados picos de sulfato ferroso hidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) na forma de lausenita. Embora tenha sido observada no corpo de prova, através das imagens obtidas no estereoscópio, uma cor característica de hidróxido de ferro III, o difratômetro de raios X não conseguiu identificar este pico. Este fato pode ter ocorrido, provavelmente, devido à pouca cristalinidade da espécie em questão.

3.5 Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e micro-análise por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é de fundamental importância na avaliação da presença de micro-organismos, biofilmes e SPE.

As imagens obtidas com 35 dias de ensaio confirmam a adesão e a formação de agregado celular na superfície do aço carbono durante o experimento. A Figura 25 mostra que toda a superfície do aço carbono 1020 foi coberta por um biofilme durante a exposição ao meio corrosivo na presença de BRS. Podem ser observadas protuberâncias espalhadas pela superfície, que correspondem ao agregado celular, bem como regiões mais homogêneas do biofilme.

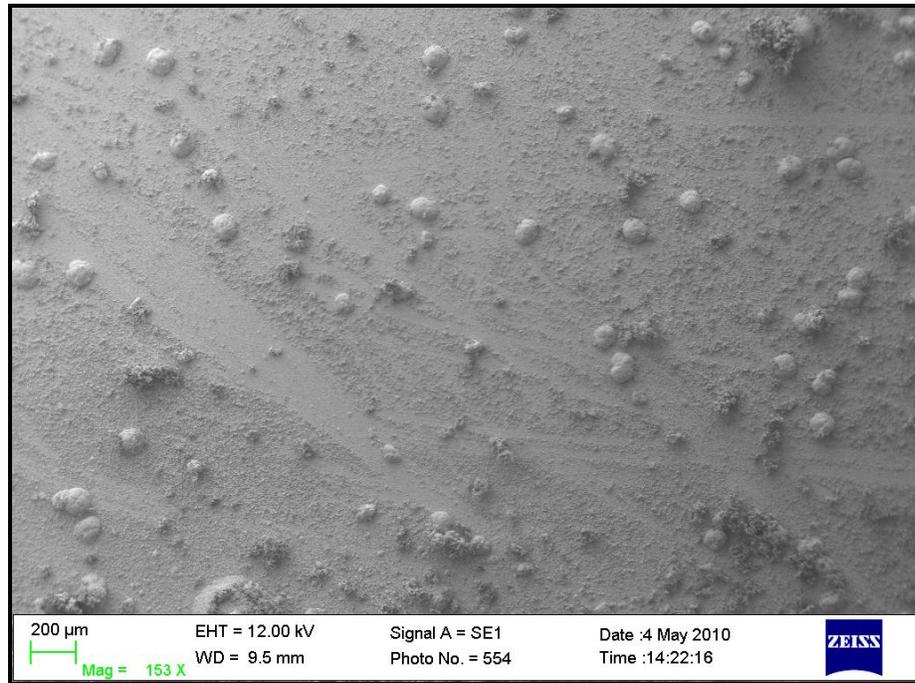


Figura 25: Microscopia do biofilme formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 153X.

As Figuras 26 e 27 apresentam ampliações da região protuberante do biofilme, mostrando uma superfície rugosa, não homogênea e porosa, confirmando que este filme não era protetor e permitia, provavelmente, a interação do meio corrosivo e do oxigênio externo ao biofilme com a superfície do aço, acelerando a oxidação do metal. Estes resultados indicam que o principal processo de corrosão observado no presente trabalho seria a formação de células de corrosão ativas.

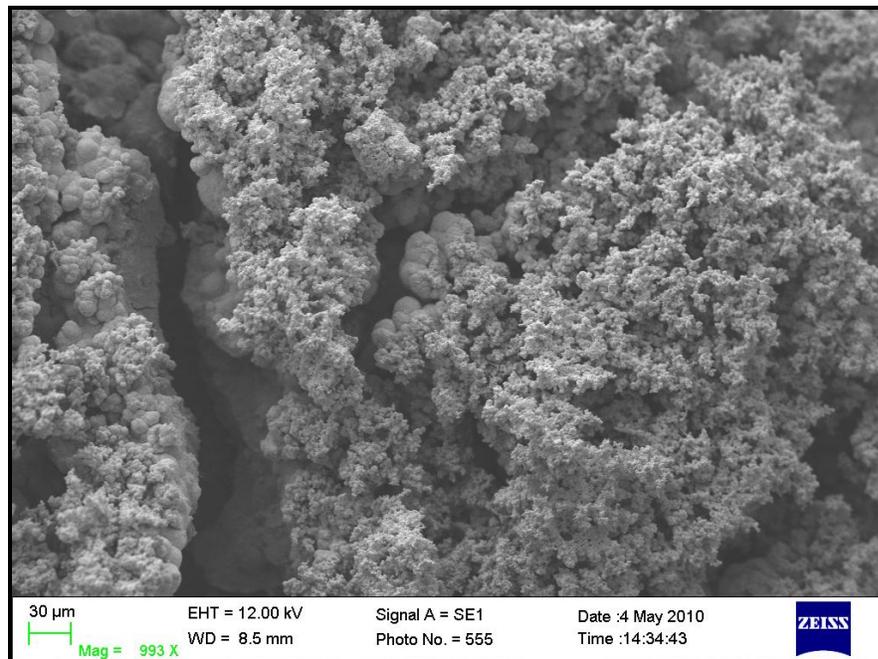


Figura 26: Microscopia do biofilme formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 993X.

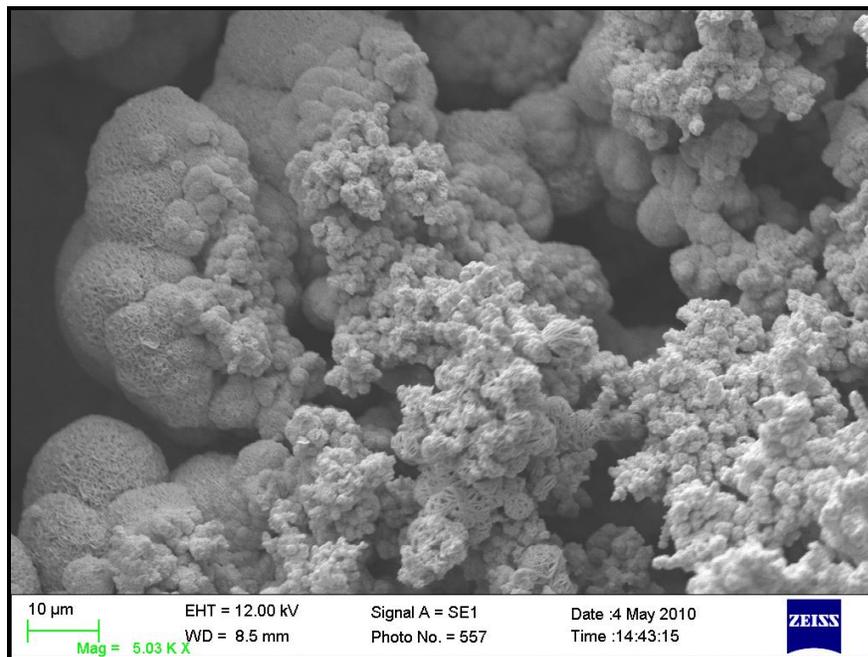


Figura 27: Microscopia do biofilme formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 5.030X.

Segundo Pagnin (2008) a irregularidade e heterogeneidade do biofilme são importantes fatores na iniciação de corrosão por pites, já que incrementam diferenças

locais de metabólitos, pH ou oxigênio dissolvido, que podem promover células de corrosão eletroquímicas ativas.

É importante ressaltar que as bactérias não foram claramente visíveis no biofilme devido, provavelmente, à presença de SPE.

A análise de EDS (Figura 28) realizada da superfície do corpo de prova da Figura 29, que corresponde ao verso da Figura 25, confirma a presença de enxofre e ferro, com provável formação de FeS, tendo em vista a cor e o odor característico de H₂S que foi observado durante os ensaios com BRS. Esta formação ocorreu pela reação dos sulfetos gerados através do metabolismo das BRS com os íons Fe³⁺ da superfície. Em função das SPE produzidas, e das colônias de bactérias aderidas ao substrato, um intenso pico de carbono também foi verificado.

Gayosso et al. (2004) em trabalho realizado para verificar a taxa de corrosão do aço API XL52 na presença de um consórcio microbiano de BRS, observaram a partir de análises de EDS alta concentração de ferro e enxofre (como produtos inorgânicos da corrosão), além de nitrogênio e carbono devido à presença de exopolímeros.

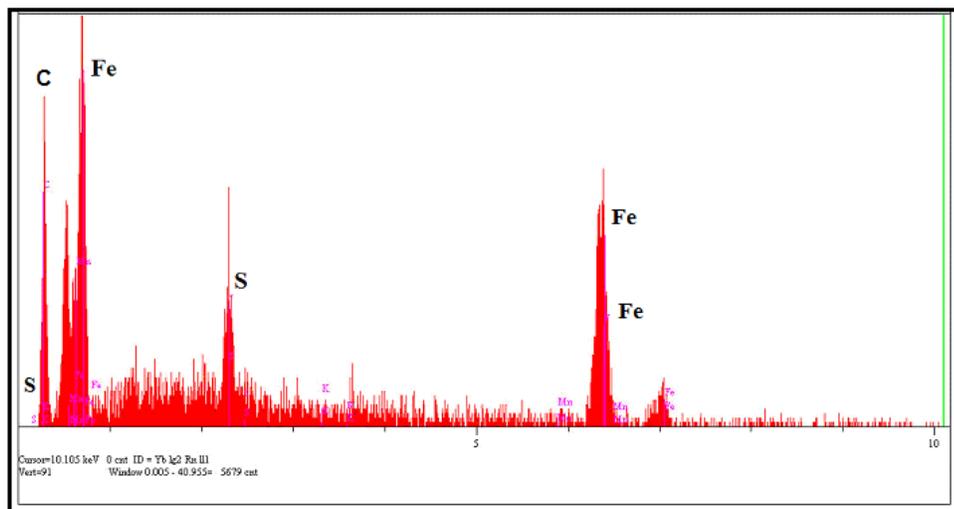


Figura 28: Espectro de EDS formado na superfície do aço carbono 1020 com 35 dias de exposição na presença de BRS.

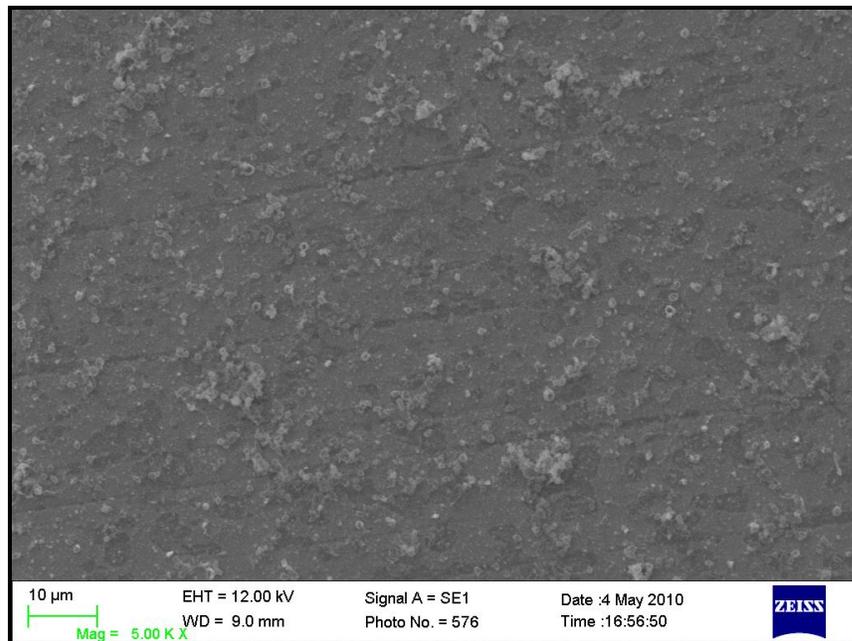


Figura 29: Microscopia do biofilme (verso do corpo de prova) formado com 35 dias de ensaio. Aumento de 5.000X.

As análises de MEV realizadas após remoção do biofilme aderido na superfície do aço carbono são mostradas nas Figuras 30 a 32.

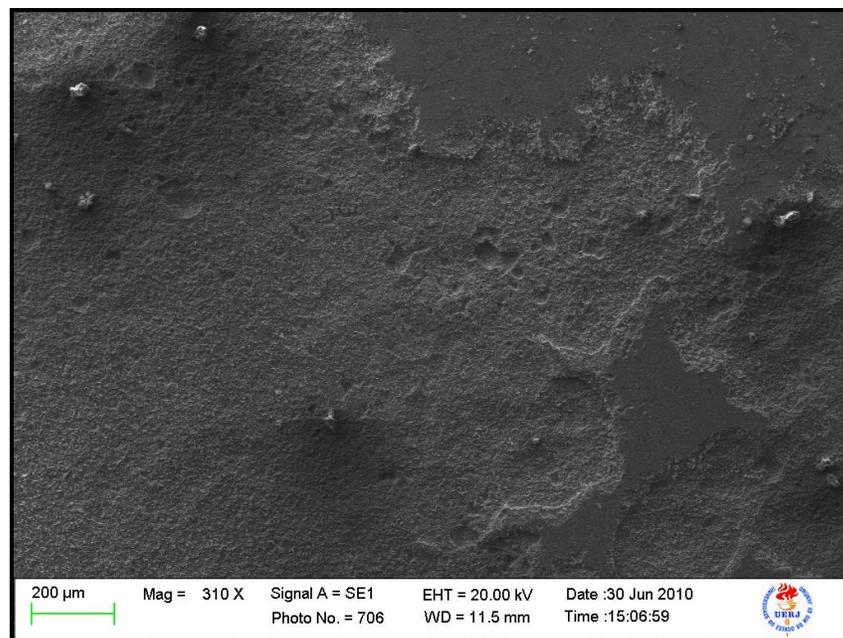


Figura 30: Microscopia do aço carbono após a remoção do biofilme. Aumento de 310X.

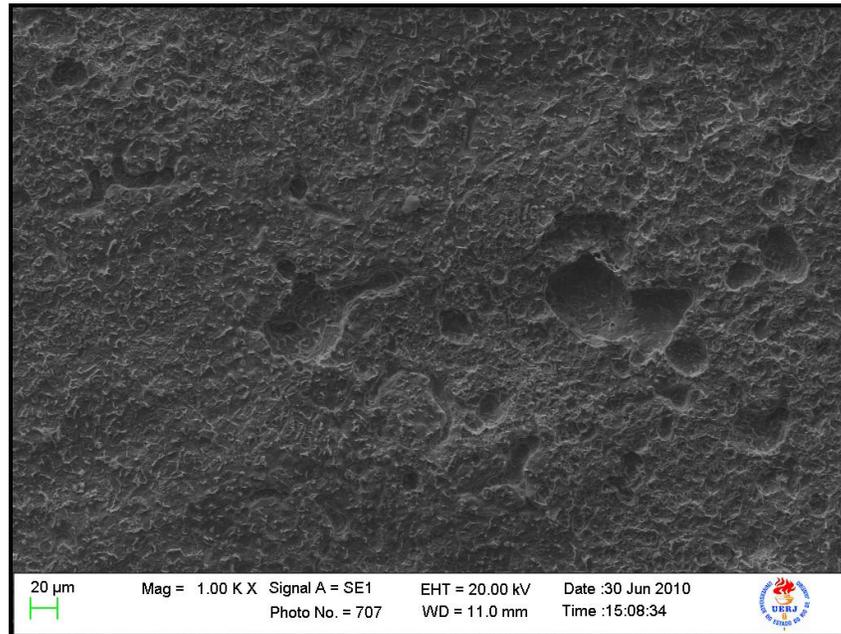


Figura 31: Microscopia do aço carbono após a remoção do biofilme. Aumento de 1000X.

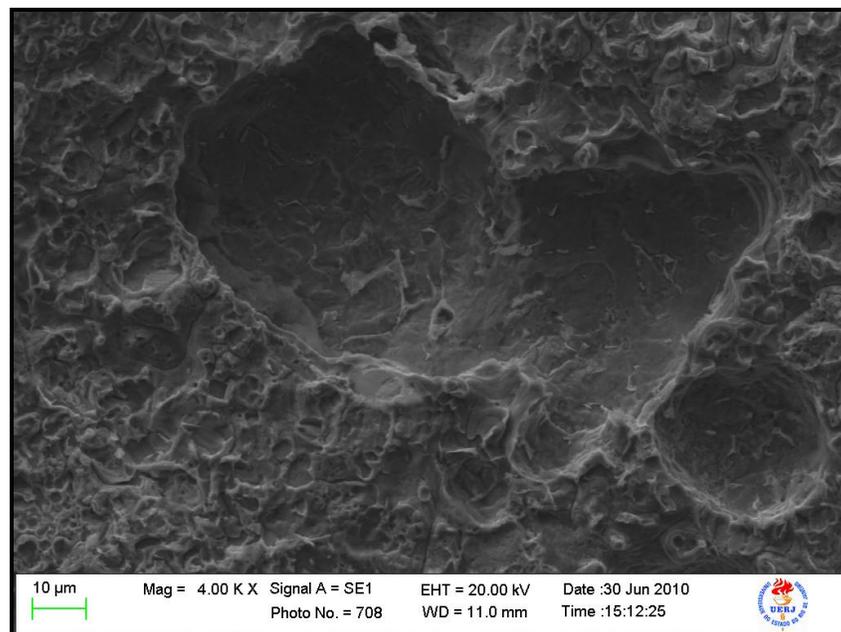


Figura 32: Microscopia do aço carbono após a remoção do biofilme. Aumento de 4000X.

Com a remoção do biofilme foi possível observar a presença de pites profundos caracterizando o processo de corrosão localizada. Este comportamento já era esperado de acordo com as fotografias superficiais obtidas no estereoscópio e com os resultados obtidos da densidade de corrente de corrosão. Sobre o trabalho de Gayosso et al. (2004), estes autores verificaram também que, após remoção do biofilme, havia na superfície do metal um processo de corrosão localizada.

Assim, os resultados do presente estudo comprovam o efeito corrosivo das BRS sobre o aço carbono 1020, principalmente em função da formação de células de corrosão ativas (aeração diferencial, variação na concentração de metabólitos, entre outros), resultando em processos corrosivos danosos na forma de corrosão por pite.

4. CONCLUSÕES

As Bactérias redutoras de sulfato isoladas a partir de tubulação submersa da Baía de Guanabara foram utilizadas com sucesso no estudo de corrosão do aço carbono 1020 em ambientes marinhos, evidenciando ainda mais a necessidade de ser pesquisado este grupo de micro-organismos como fator importante na corrosão do aço carbono neste meio.

O número de bactérias aderidas aos cupons teve um crescimento diferente em relação às bactérias presentes no fluido do sistema. O valor máximo alcançado pela população de BRS no meio foi $7,5 \times 10^6$ células/mL, no 14º dia de ensaio, sendo observada uma intensa formação de precipitados de FeS. Já para a população de BRS sésseis, o valor máximo de $2,5 \times 10^6$ células/mL foi encontrado no 21º dia de ensaio.

A taxa máxima de corrosão do aço carbono 1020 encontrada para o ensaio sem inóculo foi de 0,0404 mm/ano. Segundo a Norma NACE RP-07-75 (1999) esta taxa é considerada como moderada. Nos ensaios com inóculo a taxa máxima foi de 0,0191 mm/ano, considerada como baixa. Esta taxa baixa remete ao fato de que o ensaio de perda de massa é indicado para corrosão generalizada. Em função da corrosão do aço carbono 1020 no meio com BRS ser do tipo localizada por pites, esse resultado era esperado.

O potencial de corrosão apresentou valores mais negativos (mais catódicos), na presença de BRS quando comparado aos ensaios em branco, indicando um aumento da atividade eletroquímica na superfície do metal, especialmente após 14 dias de exposição. Este fato concorda com o aumento do número de bactérias sésseis (21 dias) e com a possível formação de um filme não protetor.

A densidade de corrente de corrosão foi um parâmetro muito útil para verificar a ação das BRS sobre o aço carbono. De fato, os valores deste parâmetro foram sempre mais elevados no meio com BRS em comparação ao ensaio em branco, especialmente em maiores tempos de imersão. Isso, aliado ao fato das curvas anódicas e catódicas apresentarem maiores valores de densidade de corrente em relação ao meio sem inóculo, comprova que a presença de BRS interferem e intensificam o processo corrosivo do aço carbono, comprometendo a vida útil do metal.

A presença de produtos de corrosão diferenciados nas superfícies dos aços expostos aos meios com e sem BRS indicaram a provável presença de óxidos e sulfetos de ferro, respectivamente. A caracterização das espécies envolvidas no processo corrosivo foi realizada através da técnica de difração de raios – X e com 35 dias de ensaio pôde-se observar a presença de picos de FeS_2 e FeS no meio com inoculo, e $\text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ no ensaio em branco. A presença de óxidos de ferro não pode ser confirmada pelo mesmo se encontrar, provavelmente, em forma pouco cristalina.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura confirmam a capacidade das BRS em aderir e colonizar metais, formando filmes não homogêneos, que permitem a ação dos metabólitos externos, ocasionando células eletroquímicas ativas e resultando em um ataque localizado (corrosão por pites). A análise de EDS comprova a presença de produtos de corrosão na superfície do metal, originários do metabolismo das BRS.

Em geral, os ensaios realizados em laboratório confirmam que as BRS desempenham um papel importante na corrosão de aço. Isto é devido, provavelmente, à capacidade das BRS em se aderir facilmente a substratos metálicos, formando biofilmes que favorecem as reações eletroquímicas no meio de cultura líquido. Os produtos de corrosão verificados neste caso são pouco protetores e permitem a permeação do eletrólito e de oxigênio e outros metabólitos do meio, contribuindo para a formação de células de corrosão ativas.

4.1 Sugestões para trabalhos futuros

Para compreender melhor o comportamento da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 seria interessante utilizar a técnica eletroquímica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica em intervalo de tempo mais curto. Nesta técnica, ao invés de se aplicar um potencial de eletrodo de corrente contínua, se aplica um potencial de corrente alternada com diferentes valores de frequência. A vantagem desta técnica é a utilização de sinais muito pequenos que não perturbam as propriedades do eletrodo.

Adicionalmente, poderia ser empregado ao sistema outro grupo de bactérias, a exemplo das bactérias oxidantes de ferro. Apesar de serem aeróbias, estas consumiriam o oxigênio do meio e criariam ambiente propício para o desenvolvimento

das BRS. A intenção seria observar o efeito de uma cultura mista sobre a taxa de corrosão.

Outro fator relevante seria analisar a concentração de sulfetos totais presentes nos biofilmes aderidos aos corpos de prova através do método colorimétrico. O intuito seria relacionar o crescimento de células sésseis com a concentração de sulfeto total ao longo do tempo de exposição.

Vários trabalhos encontrados recentemente na literatura seguem uma tendência ao uso de aços inoxidáveis (considerados mais resistentes à corrosão) como eletrodo de trabalho, desta forma, seria válido analisar o comportamento deste aço no meio em questão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELL, P.; URBANIC, K. Sulphate-reducing bacterial activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys. *Corrosion Science*, v. 42, p. 897-912, 2000.

ANTONY, P.J.; CHONGDAR, S.; KUMAR, P.; RAMAN,R. Corrosion of 2205 duplex stainless steel in chloride medium containing sulfate-reducing bacteria. *Electrochimica Acta*, v. 52, p. 3985–3994, 2007.

ANUNZIATO, P. A. Efeito do *Thiobacillus thiooxidans* na corrosão do aço 430. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO – PR, 2008.

BARTON, L.L.; TOMEI, F.A. Characteristics and activities of sulfate reducing bacteria. In: Sulphate – Reducing Bacteria. *Biotechnology Handbooks. Series Editors: Tony Atkinson and Roger F. Sherwood. Plenum Press, New York and London*, v. 8, 1995.

BEECH, I. B.; GAYLARDE, C. C.; Recent advances in the study of biocorrosion . an overview. *Revista de Microbiologia*, v. 30, p. 177-190, 1999.

BEECH, I. B.; SUNNER. J.A.; HIRAOKA. K. Microbe–surface interactions in biofouling and biocorrosion processes. *International Microbiology*, v.8, p. 157-168, 2005.

BEECH, I. B.; Corrosion of technical materials in the presence of biofilms—current understanding and state-of-the art methods of study. *International Biodeterioration e Biodegradation*, v. 53, p. 177-183, 2004.

BHATTACHARYA, S. K.; UBEROI, V.; DRONAMRAJU, M.M. Interaction between acetate fed sulfate reducers and methanogens. *Water Research*, v. 30, p. 2239-2246, 1996.

BORENSTEIN, S.B. *Microbiologically Influenced Corrosion Handbook*, Industrial Press Inc., New York, 1994.

BRANDIS, A.; THAUER, R. K. Growth of *Desulfovibrio* species on hydrogen and sulphate as sole energy source. *Journal of General Microbiology*, v.126, p.249-252, 1981.

BRUNE, A., FRENZEL, P., CYPIONKA, H. Life at the oxic–anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiology Reviews* v. 24, p. 691–710, 2000.

CASTANEDA, H.; BENETTON, X.D. SRB-biofilm influence in active corrosion sites formed at the steel electrode interface when exposed to artificial seawater conditions. *Corrosion Science*, v.50, p.1169-1183, 2008.

CETIN, D.; AKSU, M, L.; Corrosion behavior of low-alloy steel in the presence of *Desulfotomaculum* sp. *Corrosion Science*, v 51, p. 1584-1588, 2009.

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 sulfate-reducing bacteria. *Environmental Science and technology*, v. 36, n.8, p.1720-1727, 2002.

CHIAVERINI, V. Aços e ferros fundidos: características gerais, tratamentos térmicos, principais tipos. *Associação brasileira de metalurgia e materiais*, 7ª Ed, São Paulo, 2005.

CROLET, J.L. Microbial corrosion in the oil industry: a corrosionist's view. In: *Petroleum Microbiology*, 143-170. Edited by Ollivier, B. & Magot, M., 1st ed., Washington, ASM Press, 2005.

DUAN, J.; WU, S.; ZHANG, X.; HUANG, G.; DU, M.; HOU, B.; Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater. *Electrochimica Acta*, v. 54, p. 22-28, 2008.

DUTRA, A.C.; NUNES, L. P.; *Proteção Catódica: técnica de combate a corrosão*. Editora Interciência, 2006.

FLEMMING, H. C. Biofouling and microbiologically influenced corrosion (MIC) - an economical and technical overview. In: HEITZ, E.; SAND, W.; FLEMMING, H. C. (Eds.), *Microbial Deterioration of Materials*. Springer, Heidelberg, p. 5–14, 1996.

GALVÃO, M, M.; Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

GARVERICK, L. *Corrosion in the petrochemical industry*. New York: Materials Park, 1994.

GAYLARDE, C.C.; LEAL, A. R. L.; “Como Identificar a Biocorrosão”, em: *Manual Prático de Biocorrosão e Biofouling para a Indústria*, M. D. Ferrari, M. F. L. de Mele, H. A. Videla (Eds) p.27, CYTED, 1997.

GAYLARDE, C.C.; VIDELA, H.A. *Bioextraction and biodeterioration of metals*. 3th ed. London: Cambridge University Press, p. 456, 1995.

GAYOSSO, M. J. H.; OLIVARES, G. Z.; ORDAZ, N. R.; RAMIREZ, C. J.; ESQUIVEL, R. G.; VIVEROS, A. P. Microbial consortium influence upon steel corrosion rate, using polarisation resistance and electrochemical noise techniques. *Electrochimica Acta* v. 49, p. 4295–4301, 2004.

GEORGE, R. P.; MARSHALL, D.; NEWMAN, R. C.; Mechanism of a MIC probe. *Corrosion Science*, v. 45, p. 1999-2015, 2003.

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

GONÇALVES, M. M. M. Remoção de metais pesados de efluentes em biorreator anaeróbio empregando fontes de carbono alternativas. Tese de doutorado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.

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.

GU, J.D.; FORD, T.E.; MITTON, D.B.; MITCHELL, R. Microbial degradation and deterioration of polymeric materials. In: Revie, W. (Ed.), *The Uhlig Corrosion Handbook*, 2nd Edition. Wiley, New York, pp. 439–460, 2000.

HAMILTON, W. A. Sulphate reducing bacteria and anaerobic corrosion. *Annual Review of Microbiology*, v. 39, 195–217, 1985.

HARRIGAN, W. F; McCAMCE, N. E. *Laboratory methods in microbiology*. London, Academic Press, 1977.

HEITZ, E.; FLEMMING, H.C.; SAND, W. *Microbially Influenced Corrosion of Materials*, Springer-Verlag, Berlin. p-6, 1996.

IKEDA, A.; UEDA, M. In: Predicting CO₂ corrosion in the oil and gas Industry. Working party report. London: Institute of Materials, 1994.

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

JACK, T. R. Biological Corrosion Failures. *Failures analysis and Prevention*, v.11, p.881-890, 2002.

JEFFREY, R.; MELCHERS, R. E. Bacteriological influence in the development of iron sulphide species in marine immersion environments. *Corrosion Science*, v. 45, p. 693-714, 2003.

KUANG, F.; WANG, J.; YAN, L.; ZHANG, D.; Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel. *Electrochimica Acta*, v. 52, p. 6084-6088, 2007.

LITTLE, B. J.; LEEB, J. S.; RAYC, R. I.; The influence of marine biofilms on corrosion: A concise review. *Electrochimica Acta*, v. 54, p. 2-7, 2008.

LITTLE, B. J.; WAGNER, P. A.; MANSFELD, F. Corrosion Testing Made Easy. *Microbiologically influenced corrosion*, v. 5, NACE, 1997.

LUTTERBACH, M. T. S.; FRANÇA, F. P. Biofilm formation on brass coupons exposed to cooling water. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 14, n. 1, São Paulo, 1997.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Microbiologia de Brock. Ed. Artmed, 12ª edição, 2010.

MAGOT, M.; OLLIVIER, B.; PATEL, B.K.C. Microbiology of Petroleum Reservoirs. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 77, p. 103-116, 2000.

MANSFELD, F.; The interaction of bacteria and metal surfaces. *Electrochimica Acta*, v. 52, p. 7670–7680, 2007.

MARANGONI, P, R, D. Caracterização de biofilmes formados em superfícies metálicas e biocorrosão. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Paraná, 2010.

MARIANO, N. A.; PIRES, A. C.; MUROLO, J. P.; KURI, S. E. Avaliação da resistência à corrosão em aço inoxidável martensítico do tipo Cr-Ni em meio marinho sintético simulando atividades em águas profundas. *Metalurgia e Materiais*, v. 59, p. 135-139, 2006.

MARQUIS, F. D. S. Strategy of macro and microanalysis in microbial corrosion. In: Sequeira, C.A.C., Tiller, A.K. (Eds.), *Microbial Corrosion-1*. Elsevier Applied Science, London, p. 125–151, 1989.

MILLER, A. Z.; LAIZ, L.; DIONÍSIO, A.; MACEDO, M. F.; SAIZ-JIMENEZ, C. Growth of phototrophic biofilms from limestone monuments under laboratory conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 63, p. 860-867, 2009.

MIRANDA, E.; BETHENCOURT, M.; BOTANA, F.J.; CANO, M.J.; SÁNCHEZ-AMAYA, J.M.; CORZO, A.; LOMAS, J. G.; FARDEAU, M. L.; OLLIVIER, B. Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. *Corrosion Science*, v 48, p. 2417–2431, 2006.

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

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

OLIVEIRA, A. C. C. Efeito de nitrato/nitrito na biocompetição entre bactéria redutora de sulfato (BRS e bactéria redutora de nitratp (BRN) para redução de gás sulfídrico. Dissertação de mestrado- Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

PAGNIN, S. Formação de biofilmes em aço superduplex UNS S32750 em sistema dinâmico – Dissertação de mestrado – Pontifícia Universidade Católica, 2008.

PENNA, M. O. Avaliação de bases ativas biocidas para controle de micro-organismos em sistemas de recuperação secundária de petróleo. Dissertação de mestrado – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2004.

PENNA, M. O.; OLIVEIRA, H.B.; SILVA, E.D. Avaliação da atividade metabólica (produção de H₂S) de culturas mistas de bactérias redutoras de sulfato (BRS). *Boletim Técnico Petrobras*, v. 46, p. 208-219, 2003.

PÉREZ, E. J.; CABRERA-SIERRA, R.; CONZÁLEZ, I.; RAMÍREZ-VIVES, F. Influence of *Desulfovibrio* sp. biofilm on SAE 1018 carbon steel corrosion in synthetic marine médium. *Corrosion Science*, v. 49, p. 3580–3597, 2007.

POSTGATE, J.R, The sulphate-reducing bacteria. 2^a ed., Cambridge University Press, Cambridge, England, 1984.

RAO, T.S., KORA, A.J., ANUPKUMAR, B., NARASIMHAN, S.V., FESER, R. Pitting corrosion of titanium by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (*Desulfovibrio vulgaris*). *Corrosion Science*, v.47, p.1071-1084, 2005.

RODRÍGUEZ, J. J. S.; HERNÁNDEZ, F. J. S.; GONZÁLEZ, J.E. G. Comparative study of the behaviour of AISI 304 SS in a natural seawater hopper, in sterile media and with SRB using electrochemical techniques and SEM. *Corrosion Science*, v.48, p.1265–1278, 2006.

SAIZ-JIMÉNEZ, C.; XVI International Material Research Congress, Book of Abstract, Cancun - México, 2000.

SILVA, R. C. B.; PONTES, F. T.R. Corrosão do aço carbono em meio sulfato na presença da bactéria *Salmonella anatum*. *Revista Matéria*, v. 13, n. 2, p. 282 – 293, 2008.

STEFANIE, J. W. H.; ELFERINK, O.; VISSER, A.; POL. L. W. H.; STAMS. A. J.M.; Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews*, v.15, p. 119-136. 1994.

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

VIANA, M. G. Avaliação de produtos naturais sobre biofilmes formados em sistema dinâmico. Dissertação de mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, 2009.

VIDELA, H. A. Biocorrosão, Biofouling e biodeterioração de materiais. Editora Edgard Blucher, 2003.

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

VIDELA, H. A.; HERRERA, L. K. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. *International Microbiology*, v. 8, p. 169-180, 2005.

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

VIDELA, H. A.; SALVAREZZA, R. C. Introducción a la Corrosion Microbiológica. Primeira edição. Buenos Aires: Livraria Agropecuária, Argentina. 1994.

VIEIRA, A. A. S., VIEIRA, M. R. S., SILVA, B. N. P., OLIVEIRA, S. H., LIMA, M. A. G. A., VINHAS, G. M., URTIGA, S. L. Estudo de microrganismos com potencial à biocorrosão em superfícies metálicas. 18º CBECIMAT – Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências de Materiais, Porto de Galinhas – PE, 2008.

XU, C.; ZHANG, Y.; CHENG, G.; ZHU, W.; Localized corrosion behavior of 316L stainless steel in the presence of sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria. *Materials Science and Engineering*, v. 443, p. 235-241, 2007.

WEIJMA, J.; STAMS, A. J. M.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. Thermophilic sulphate reduction and methanogenesis with methanol in a high rate anaerobic reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 67, p. 354–363, 2000.

WOLYNEC, S. Técnicas eletroquímicas em corrosão. Editora da Universidade de São Paulo, 2003.

ANEXO - Parte da dissertação desenvolvida foi apresentada no XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ) em Foz do Iguaçu – Paraná de 19 a 23 de Setembro de 2010.



AVALIAÇÃO DA CORROSÃO MICROBIOLÓGICA DO AÇO CARBONO 1020 EM ÁGUA DO MAR SINTÉTICA NA PRESENÇA DE BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO

M. S. de PAULA¹, L. F. SENNA¹, M. M. GONÇALVES¹ e D.C.B. do LAGO¹

¹Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Química
e-mail: maridepaula@click21.com.br

RESUMO – Bactérias redutoras de sulfato (BRS) possuem um papel importante na corrosão de ligas metálicas expostas em habitats marinhos, óleos e solos úmidos. A redução do sulfato por estas bactérias resulta na produção de H₂S, podendo influenciar os processos anódico e catódico na corrosão de materiais. O comportamento da corrosão microbiológica no aço carbono AISI 1020 foi avaliada na presença e na ausência de BRS, isoladas a partir da camada de ferrugem presente numa tubulação submersa da Baía de Guanabara – RJ. Para investigar o mecanismo da corrosão foi utilizado métodos de polarização potenciodinâmica e medidas de perda de massa. Nos ensaios de perda de massa, a taxa de corrosão foi mais agressiva na ausência de BRS, devido à formação de um biofilme na superfície do metal nos ensaios com inóculo. Com 28 dias de ensaio a densidade de corrente de corrosão aumentou significativamente na presença de BRS.

PALAVRAS-CHAVE: corrosão microbiologicamente induzida; bactérias redutoras de sulfato; polarização

1. INTRODUÇÃO

Corrosão é um processo espontâneo que constantemente causa transformações irreversíveis nos materiais, sejam estes metálicos ou não. A corrosão, em suas diversas formas, pode causar danos em pontes, embarcações, plataformas e em oleodutos, que em muitos casos podem ser irreparáveis. Isso ocasiona custos elevados diretos (paradas de produção não programada ou perda da qualidade do produto) ou indiretos (acidentes com perdas de vidas ou danos ambientais) (Gentil, 2007). De acordo com Heitz *et al* (1996), cerca de 20% desses danos é devido à corrosão microbiológica.

Videla (2003) define a corrosão microbiologicamente induzida (CMI), também chamada biocorrosão, como um

processo eletroquímico de dissolução metálica iniciado ou acelerado por micro-organismos e por suas atividades metabólicas. As bactérias produtoras de ácido são as principais responsáveis pela CMI em aços carbono (Mansfeld, 2007). A interação da bactéria e a superfície do metal resulta na formação de biofilmes, que podem afetar severamente a cinética de reações catódicas e/ou anódicas de um processo (Xu *et al.*, 2007). Uma parte significativa deste processo deve-se à corrosão influenciada por bactérias redutoras de sulfato (BRS).

As BRS são o principal grupo de micro-organismos envolvidos nos casos de biocorrosão, seja pela produção de metabólitos corrosivos ou pelo mecanismo de despolarização catódica, acelerando a reação anódica no substrato (Videla, 2003). Estas



bactérias causam corrosão em estruturas metálicas, revestimentos de poços petrolíferos, partes externas de tubulações enterradas, poços de água profundos, sistemas de resfriamento, dentre outros (Gentil, 2007).

Neste trabalho, o processo de corrosão microbiológica do aço carbono 1020, foi avaliado, em água do mar sintética, em condições de anaerobiose, na presença e na ausência de BRS. Parâmetros como pH e crescimento microbiano foram acompanhados ao longo do ensaio, sendo correlacionados com a taxa de corrosão do material metálico, a qual foi investigada por curvas de polarização e por imersão total (perda de massa). Espera-se, dessa forma, contribuir para um entendimento mais aprofundado do processo de corrosão microbiológica do aço no meio em questão.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Meio de Cultura e Fluido do Processo

O agente microbiológico – BRS – foi isolado a partir de uma tubulação enferrujada que se encontrava submersa na Baía de Guanabara (RJ). A camada de ferrugem foi raspada e em seguida inoculada em frascos de 50 mL contendo meio Postgate C modificado (Postgate, 1984). O meio foi preparado em condições anaeróbias, sob purga de nitrogênio, devido ao metabolismo redutor das BRS. O pH do meio foi ajustado para 7,6 com a solução de NaOH 1 mol/L. Os frascos inoculados foram incubados em estufa BOD 411D da nova ética a uma temperatura de 30°C.

O meio corrosivo selecionado para os ensaios foi a água do mar sintética (Pagnin, 2008), o que possibilitou uma constância nas concentrações dos diferentes componentes.

2.2 Preparação dos Corpos de Prova

A avaliação da corrosão microbiológica foi realizada através de ensaios de imersão total e curvas de polarização. Para a realização dos experimentos de imersão total (perda de massa), 12 cupons de aço carbono 1020 com uma área média em torno de 12 cm² foram utilizados (Figura 1A). Os cupons foram polidos (em ambas as faces) com lixas d'água de granulometria de 100 a 600 mesh, lavados com água e álcool etílico, secos com jato de ar quente e em seguida acondicionados em dessecador até o momento de imersão no meio corrosivo.

Para os experimentos de polarização foram confeccionados 20 eletrodos, os quais foram ligados a um fio condutor e embutidos em resina epóxi, a fim de deixar exposta uma área aproximada de 3 cm² (Figura 1B). Estes eletrodos foram polidos e preparados de maneira similar ao que foi verificado anteriormente para os ensaios de imersão total.

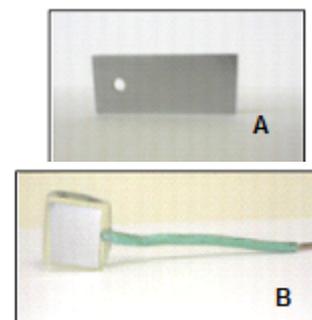


Figura 1- Corpos de prova utilizados nos ensaios de imersão total (A) e polarização (B)

2.3 Procedimento Experimental

Incubação e tempo de exposição ao meio corrosivo: Tanto os experimentos de imersão total, quanto os de polarização foram realizados após a imersão dos corpos de prova



nos meios corrosivos e permanência nestes, por períodos de tempo pré-determinados.

Os ensaios foram conduzidos em frascos de 100 mL de capacidade (reatores), contendo 80 mL de meio inoculado a 10% v/v. Dois cupons, previamente pesados em uma balança analítica BIOPRECISA FA2104N (precisão = 0,1 mg), foram imersos assepticamente em cada frasco para os ensaios de imersão total, sendo fixados no reator através de fios de nylon. No caso dos experimentos de polarização, apenas um eletrodo foi imerso em cada frasco reator. Em ambos os casos, o meio foi purgado com nitrogênio, de modo a garantir baixa concentração de oxigênio dissolvido. O tempo total do experimento foi de 28 dias. Os ensaios de imersão total foram feitos em duplicata e os de polarização em triplicata, à exceção dos ensaios em branco, em que não foram utilizadas replicatas. Para os dois tipos de ensaio, o corpo de prova (na forma de cupons ou de eletrodos) foi imerso em um frasco contendo o meio corrosivo sem inóculo (ensaio em branco), o qual também foi incubado por 28 dias, passando por todas as etapas do processo.

Quantificação celular: A quantificação das BRS foi realizada no fluido do processo (bactérias planctônicas) através da técnica do número mais provável (NMP) em meio de cultura Postgate E modificado (Postgate, 1984). O método em questão segue uma série de diluições seriadas que fornece uma estimativa do número de organismos vivos capazes de se multiplicar em meios líquidos (Postgate, 1984). Em todos os casos, a presença de BRS em tubos e frascos é avaliada pela formação do precipitado escurecido de sulfeto ferroso (FeS), conforme mostra a Figura 2. A alíquota para a quantificação celular era retirada a cada 7 dias, antes de cada determinação dos ensaios de imersão total.



Figura 2 – Exemplificação do método de quantificação por NMP: os frascos escurecidos indicam a presença de BRS nas diversas diluições

Ensaio de imersão total: A perda de massa referente à corrosão do aço carbono nos meios corrosivos (contendo ou não os micro-organismos) foi avaliada a cada 7 dias. Antes de cada pesagem final, os cupons foram tratados com solução de Clark para eliminar os produtos da corrosão aderidos à superfície do metal. Os resultados da diferença de massa foram utilizados no cálculo da taxa de corrosão, em mm/ano. Após pesagem final, os corpos de prova foram observados e fotografados em microscópio estereoscópico Olympus TL3.

Ensaio de polarização: Os ensaios de polarização do aço carbono nos meios corrosivos (contendo ou não os micro-organismos) foram realizados 2 horas após imersão ($t = 0$ dia) e a cada 7 dias. Para isto, empregou-se um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT302N e uma célula contendo três eletrodos: o próprio eletrodo de aço exposto ao meio em questão (eletrodo de trabalho), o eletrodo de referência de calomelano saturado, e um contra-eletrodo de platina, como mostra a Figura 3. As curvas de polarização foram determinadas em uma faixa de potencial de $-1.2 V_{ECS}$ a $0 V_{ECS}$ com uma velocidade de varredura de 20 mV/s.



Figura 3 – Célula de ensaio com 14 dias de experimento com BRS

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do Crescimento Microbiano

A Figura 4 ilustra o processo de crescimento das BRS planctônicas monitoradas ao longo dos 28 dias de ensaio.

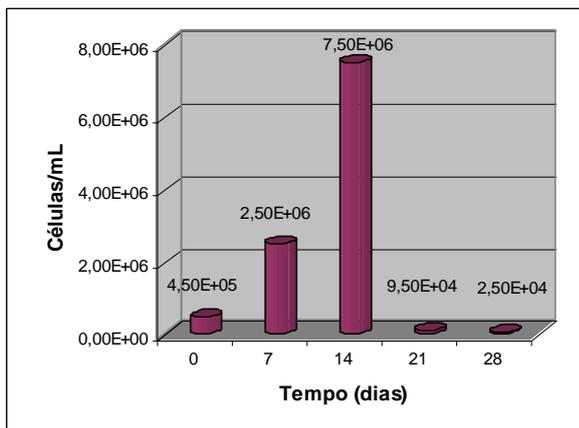


Figura 4 – Colonização de BRS planctônicas ao longo de 28 dias de ensaio

O gráfico mostra que, decorridos 7 dias, houve um aumento considerável no número de células planctônicas de BRS. No 14º dia de ensaio a população de BRS alcançou o seu valor máximo ($7,5 \times 10^6$ células/mL), sendo observado um intenso enegrecimento no fluido do processo, devido à formação do precipitado de FeS. A partir desse estágio pode-se notar um decréscimo significativo do

número de células planctônicas. Vale ressaltar que, visualmente, a espessura do biofilme aderido à superfície do metal aumentou no 21º dia de ensaio. Esse fato pode estar relacionado à capacidade das células planctônicas em aderir e colonizar superfícies sólidas, aumentando o número de bactérias aderidas à superfície do metal e diminuindo o número de células em solução. Além disso, a falta de nutrientes e/ou a geração biogênica do sulfeto de hidrogênio podem ter contribuído pela redução do número de BRS planctônicas. Uma vez que o produto do metabolismo das BRS, o sulfeto de hidrogênio, é também considerado um inibidor de crescimento quando presente em concentrações elevadas (Gonçalves, 2001).

O acompanhamento do pH dos meios, antes e depois da imersão dos cupons metálicos, a cada 7 dias mostrou um aumento do pH para ambas as condições, embora o efeito em presença das BRS tenha sido muito mais significativo, como mostra a Figura 5.

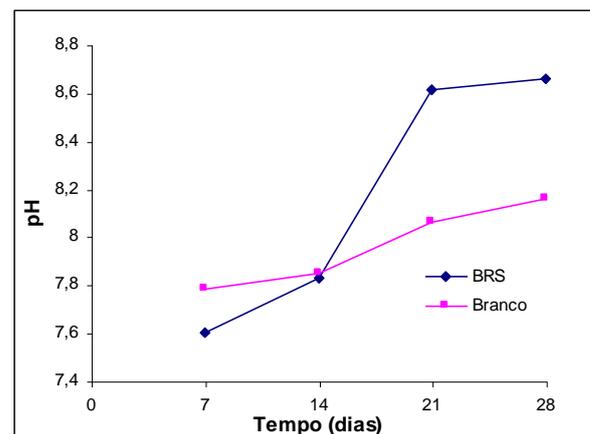


Figura 5 – Variação do pH de acordo com o tempo de imersão

O valor de pH ideal para o desenvolvimento das BRS está compreendido na faixa entre 7,0 e 7,8. Valores fora dessa faixa podem limitar o crescimento destas bactérias (Magot *et al.*, 2000). Com o aumento da produção de H₂S, a fração de H₂S não dissociada (H₂S_{solúvel}) diminui, ocasionando um aumento no pH do sistema.



Sendo $H_2S_{solúvel}$ a forma considerada mais tóxica, pois a molécula neutra pode permear a membrana celular (Oude Elferink *et alli*, 1994). O fato do pH do meio ter aumentado após o 14º dia indica que a redução do número de células planctônicas pode não estar relacionada à geração do H_2S , e sim ao processo de colonização dos cupons metálicos.

3.2 Imersão Total dos Cupons Metálicos

Analisando as taxas de corrosão nas condições estudadas, nota-se que os ensaios em branco foram mais agressivos aos cupons metálicos do que os ensaios com BRS, como mostra a Figura 6. Adicionalmente, a Figura 7 apresenta as fotografias superficiais dos corpos de prova submetidos a este ensaio após 21 e 28 dias de imersão, em meios com e sem inóculo.

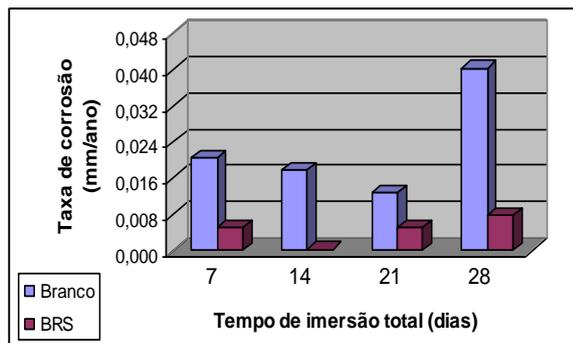


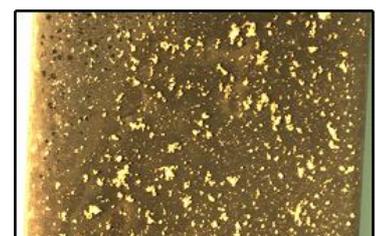
Figura 6 – Variação da média da taxa de corrosão ao longo de 28 dias

O meio Postgate C utilizado foi preparado em água do mar sintética, a qual é um meio agressivo ao aço carbono. Assim, o que se observou nestes ensaios foi a presença de produtos de corrosão, provavelmente óxidos de ferro, na superfície do metal imerso no meio sem bactérias, desde o início dos experimentos. Como é possível notar na Figura 7A, em 21 dias de ensaio verifica-se uma deposição uniforme desses produtos na superfície do corpo de prova. No 28º dia (Figura 7E), houve um aumento bastante significativo da taxa de corrosão, pois se

formaram camadas espessas de óxidos na parte exposta já corroída do metal. As fotografias confirmam então que quanto maior a exposição ao meio corrosivo, maior é a taxa de corrosão.

Seria esperado, então, que a presença das BRS neste meio, com sua comprovada capacidade corrosiva, viesse a aumentar ainda mais a corrosão do aço. Contudo, verifica-se pela Figura 6 que a taxa de corrosão é bem menor que no meio sem o microrganismo. Para estes ensaios, o comportamento observado pode ser atribuído ao biofilme formado na superfície do metal, que inicialmente protege o corpo de prova contra a corrosão. As Figuras 7C e 7G confirmam isso, pois mostram a presença de um biofilme preto na superfície dos corpos de prova, característico, provavelmente, da presença de sulfeto ferroso. De acordo com Cetin *et al.* (2009), os íons Fe^{2+} produzidos na reação anódica do aço reagem com os íons S^{2-} metabolizados pelas BRS, produzindo sulfetos de ferro (FeS_x). Neste caso, então, o biofilme impede a deposição de produtos de corrosão no metal fazendo com que a perda de massa não seja tão significativa.

É válido ressaltar, também, que a taxa de corrosão medida por ensaios de imersão total refere-se à perda de massa superficial por corrosão generalizada (Gentil, 2007). Porém, segundo Castaneda e Benetton (2008) o tipo de corrosão provocado por BRS é por pites (corrosão localizada). Nesta forma de corrosão, a perda de massa superficial é pequena, mas o dano estrutural é muito maior que no caso da corrosão generalizada. Desse modo, o resultado obtido corrobora com o que foi evidenciado na literatura. A formação de pites profundos nos corpos de prova expostos ao meio com inóculo foi observada a partir do 21º dia de ensaio (Figura 7H).



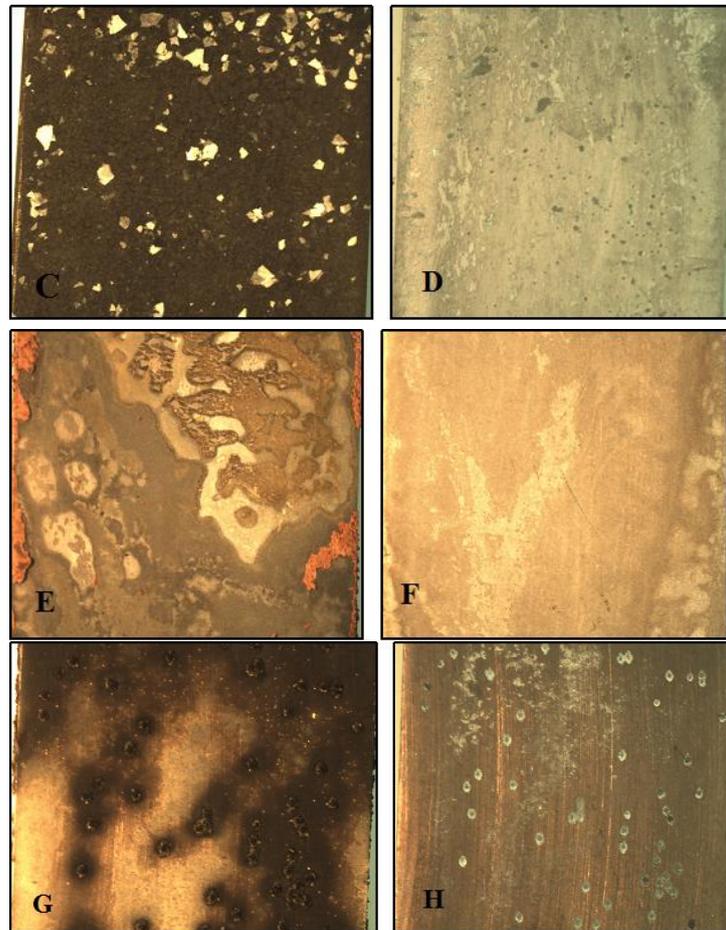


Figura 7 - Superfície dos corpos de prova de aço carbono 1020 ao final dos ensaios de imersão total: A) 21 dias na ausência de BRS sem decapar; B) 21 dias na ausência de BRS após decapagem; C) 21 dias na presença de BRS sem decapar; D) 21 dias na presença de BRS após decapagem; E) 28 dias na ausência de BRS sem decapar; F) 28 dias na ausência de BRS após decapagem; G) 28 dias na presença de BRS sem decapar; H) 28 dias na presença de BRS após decapagem



3.3 Análise das Curvas de Polarização

As análises eletroquímicas foram determinadas através das curvas de polarização anódica e catódicas relacionando

o potencial versus a densidade de corrente. A Figura 8 apresenta as curvas de polarização do aço carbono 1020 no meio Postgate C na ausência e presença de BRS.

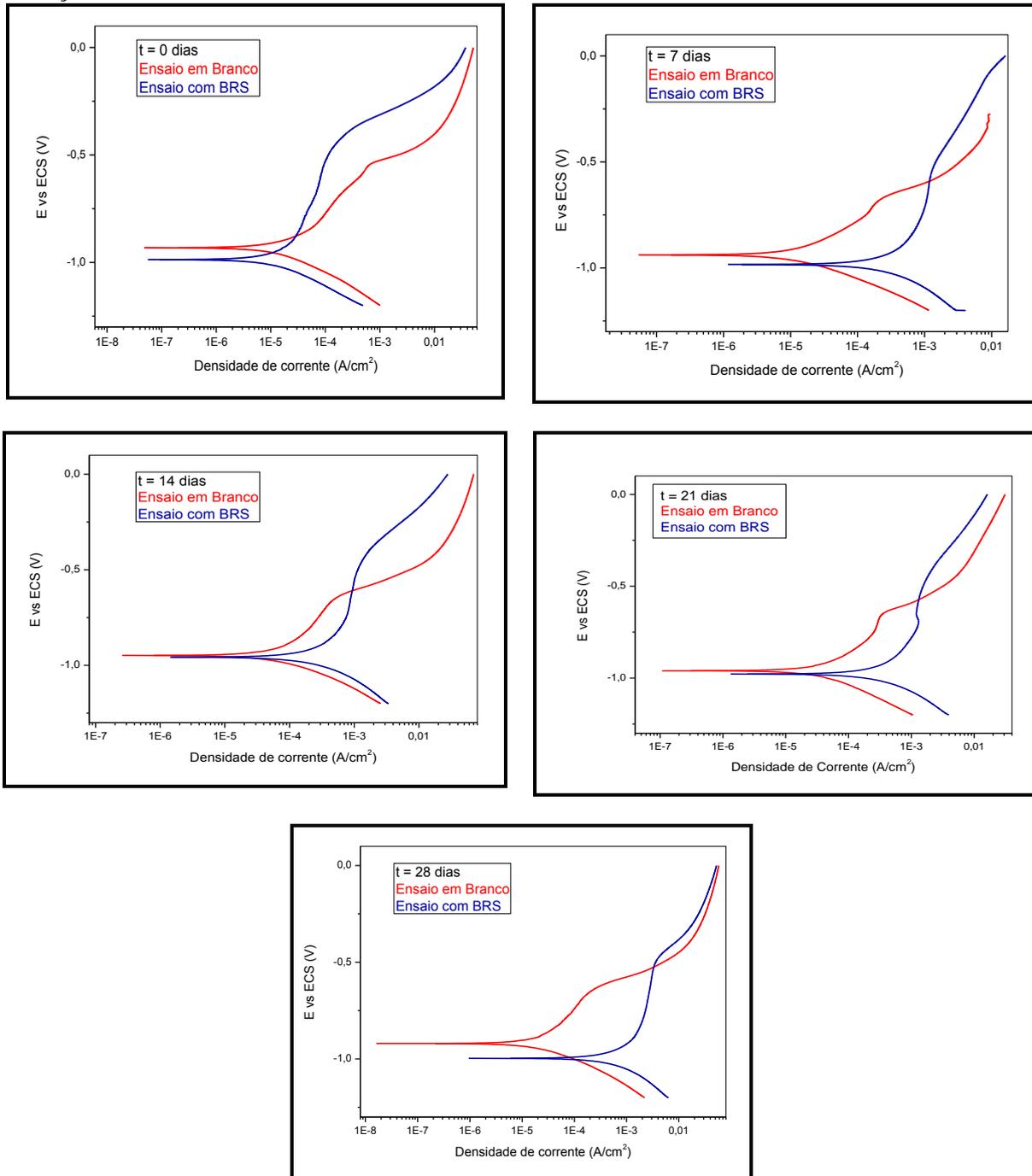


Figura 8 – Curvas de polarização do aço carbono 1020 no meio Postgate C na ausência e presença de BRS.



É possível observar na Figura 8 que a presença de BRS no meio Postgate C ocasionou o deslocamento do potencial de corrosão para valores mais negativos em todos os tempos de ensaio estudados, indicando um aumento no processo de corrosão. Nota-se ainda, que não há mudanças significativas na forma das curvas anódicas e catódicas do aço carbono 1020 na ausência e presença de BRS. Esse resultado sugere que os mecanismos dos processos anódicos e catódicos no referido aço não mudam essencialmente nos sistemas contendo BRS. Comportamento similar pode ser visto no trabalho de Kuang *et al.* (2007).

Os parâmetros eletroquímicos correspondentes ao potencial de corrosão e a densidade de corrente de corrosão, obtida da extrapolação das retas de Tafel, são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono 1020 na presença e ausência de BRS.

Tempo (dias)	Ensaio com BRS		Ensaio em Branco	
	E_{corr} (V)	I_{corr} A/cm ²	E_{corr} (V)	I_{corr} A/cm ²
0	-0,994	4,18 E-06	-0,932	4,01 E-06
7	-0,982	1,26 E-04	-0,934	5,55 E-06
14	-0,957	1,18 E-04	-0,948	1,68 E-05
21	-0,977	1,44 E-04	-0,96	1,12 E-05
28	-0,997	3,78 E-04	-0,92	1,29 E-06

Verifica-se na Tabela 1 que a adição de micro-organismos ao sistema aumenta a densidade de corrente de corrosão, mostrando que, realmente, os micro-organismos possuem um efeito catalítico na oxidação do aço carbono. É interessante notar que esse aumento já ocorre após 7 dias de imersão. Os potenciais de corrosão, todos mais negativos que o branco, variaram pouco ao longo do tempo do experimento. Comportamento similar foi encontrado por Cetin e Aksu (2009) para corrosão de aços de baixa liga em presença da bactéria do gênero *Desulfotomaculum*.

Estes resultados podem ser melhor

evidenciados na Figura 9, onde se constata que a condição mais agressiva para os corpos de prova foi sempre obtida na presença das BRS, aumentando intensamente com o tempo de exposição.

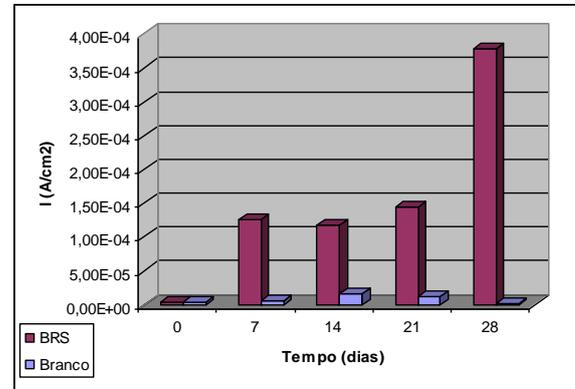


Figura 9 – Variação da densidade de corrente de corrosão com o tempo (dias).

4. CONCLUSÕES

O valor máximo alcançado pela população de BRS foi $7,5 \times 10^6$ células/mL, no 14º dia de ensaio, sendo observada uma intensa formação de precipitados de FeS.

Nos ensaios de imersão total, a perda de massa detectada para o aço no meio sem bactérias foi maior que no meio com bactérias, em função da corrosão do aço carbono 1020 no meio com BRS ser do tipo localizada por pites. Após a estabilização do biofilme na superfície do corpo de prova, a perda de massa do aço no meio com inóculo aumentou, embora ainda fosse bem menor que no ensaio em branco. A taxa máxima de corrosão do aço carbono 1020 encontrada para o ensaio sem inóculo foi de 0,0404 mm/ano, após 28 dias de ensaio. Segundo a Norma NACE RP-07-75 (1999) esta taxa é considerada como moderada. Nos ensaios com inóculo a taxa máxima foi de 0,0078 mm/ano, considerada como baixa.

A densidade de corrente de corrosão foi sempre mais elevada no meio com BRS em comparação ao ensaio em branco, especialmente em maiores tempos de imersão,



comprovando que a presença das BRS intensifica o processo corrosivo do aço carbono, comprometendo a vida útil do metal.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem: à UERJ, à FAPERJ, à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro; aos técnicos do LEC/UERJ Antônio Vitor de Castro e Camilla Pinheiro, pelo apoio e auxílio na execução dos experimentos; ao Prof^o Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa, por ceder o laboratório para os experimentos microbiológicos; e ao aluno Márcio Franklin pela ajuda na fotografia das imagens. D. C. B. do Lago e L. F. Senna agradecem também ao programa Prociência/UERJ.

6. NOMENCLATURA

BRS – Bactérias redutoras de sulfato

7. REFERÊNCIAS

CASTANEDA, H.; BENETTON, X.D. SRB-biofilm influence in active corrosion sites formed at the steel electrode interface when exposed to artificial seawater conditions. *Corrosion Science*, v.50, p.1169-1183, 2008.

CETIN, D.; AKSU, M, L.; Corrosion behavior of low-alloy steel in the presence of *Desulfotomaculum* sp. *Corrosion Science*, v 51, p. 1584-1588, 2009.

DUAN, J.; WU, S.; ZHANG, X.; HUANG, G.; DU, M.; HOU, B.; Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater. *Electrochimica Acta*, v. 54, p. 22-28, 2008.

GALVÃO, M. M.; Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida. Dissertação de

mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

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

GONÇALVES, M. M. M. Remoção de metais pesados de efluentes em biorreator anaeróbio empregando fontes de carbono alternativas. Tese de doutorado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.

HEITZ, E.; FLEMMING, H.C.; SAND, W. Microbially Influenced Corrosion of Materials. p-6, 1996.

KUANG, F.; WANG, J.; YAN, L.; ZHANG, D.; Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel. *Electrochimica Acta*, v. 52, p. 6084-6088, 2007.

MAGOT, M.; OLLIVIER, B.; PATEL, B.K.C. Microbiology of Petroleum Reservoirs. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 77, p. 103-116, 2000.

MANSFELD, F.; The interaction of bacteria and metal surfaces. *Electrochimica Acta*, v. 52, p. 7670-7680, 2007.

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

PAGNIN, S. Formação de biofilmes em aço superduplex UNS S32750 em sistema dinâmico. Dissertação de mestrado – Pontifícia Universidade Católica, 2008.

POSTGATE, J.R, The sulphate-reducing bacteria. 2ª ed., Cambridge University Press, Cambridge, England, 1984.



STEFANIE J.W.H.; ELFERINK, O.;
VISSER, A.; POL. L. W. H.; STAMS. A.
J.M.; Sulfate reduction in methanogenic
bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews*,
v.15, p. 119-136. 1994.

VIDELA, H. A. Biocorrosão, Biofouling e
biodeterioração de materiais. Editora Edgard
Blucher, 2003.

XU, C.; ZHANG, Y.; CHENG, G.; ZHU, W.;
Localized corrosion behavior of 316L
stainless steel in the presence of sulfate-
reducing and iron-oxidizing bacteria.
Materials Science and Engineering, v. 443, p.
235-241, 2007.