

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL**

EDKARLLA SOUSA DANTAS DE OLIVEIRA

BIOCORROSÃO EM CUPONS DE AÇO CARBONO EXPOSTOS À ÁGUA DOCE

**RECIFE
2013**

EDKARLLA SOUSA DANTAS DE OLIVEIRA

BIOCORROSÃO EM CUPONS DE AÇO CARBONO EXPOSTOS À ÁGUA DOCE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Biotecnologia Industrial.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Glícia Maria Torres Calazans e Prof^a. Dr^a. Maria Alice Gomes de A. Lima

**RECIFE
2013**

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Oliveira, Edkarlla Sousa Dantas de

**Biocorrosão em cupons de aço carbono expostos à água doce/
Edkarlla Sousa Dantas de Oliveira– Recife: O Autor, 2013.**

71 folhas : il., fig., tab.

**Orientadores: Glícia Maria Torres Calazans e Maria Alice
Gomes de A. Lima**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Biotecnologia
Industrial, 2013.**

Inclui bibliografia

- 1. Biocorrosão 2. Biofilme 3. Água doce I. Calazans, Glícia Maria
Torres (orientadora) II. Lima, Maria Alice Gomes de A.
(orientadora) III. Título**

620.11223

CDD (22.ED.)

UFPE/CCB- 2013- 074

EDKARLLA SOUSA DANTAS DE OLIVEIRA

***BIOCORROSÃO EM CUPONS DE AÇO CARBONO EXPOSTOS À ÁGUA
DOCE***

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Industrial.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Alice Gomes de Andrade Lima
UFPE

Prof^a. Dr^a. Janete Magali de Araújo
UFPE

Prof^a. Dr^a. Glória Maria Vinhas
UFPE

Recife, 27 de fevereiro de 2013.

Dedico aos meus pais Edson e Maria do
Carmo, e a minha irmã Edgleyse.
Porque família é tudo!

AGRADECIMENTOS

A Deus, o Senhor da minha vida. Obrigado sempre por me abençoar todos os dias e me proporcionar mais uma etapa concluída. Sem ti senhor eu nada seria.

Aos meus pais Edson Luiz Dias de Oliveira e Maria do Carmo Sousa Dantas de Oliveira e à minha irmã Edgleyse Sousa Dantas de Oliveira que são meus amores, meu alicerce, meu maior exemplo como seres humanos. Obrigada por me apoiar em todos os momentos.

Às minhas orientadoras Glícia Maria Torres Calazans e Maria Alice Gomes de Andrade Lima pela dedicação, orientação e amizade acima de tudo.

Aos professores Severino Leopoldino Urtiga Filho, Olga Martins Marques, Glória Maria Vinhas, Sônia Albuquerque e Maria de Los Angeles pelo apoio técnico.

Às técnicas do Laboratório de Microbiologia Maria da Conceição e Márcia Marques pelos conselhos e ajuda técnica.

Às amigas e companheiras de todas as horas Roseana Florentino, Karinne Vieira, Pulkra Silva e Sara Horácio pelos momentos dedicados aos experimentos, amizade e apoio incondicional.

Aos amigos biocorrosivos Gustavo Vieira, Jéssica Simões, Thiago Antônio, Thiago Cardoso, Hedmun e Marcos pelo auxílio diário e compreensão.

Aos colegas de turma da Pós-Graduação, em especial à Rebeqa Cristiane, Mariana Lucena, Danilo Cavalcante, Glêzia Renata e Gustavo Bartolomeu pelos momentos de alegria e descontração vivenciados.

Aos amigos Larissa Valgueiro, Erika Temóteo, Danilo Luna, Mayara Barros, Tereza Domingos, João Menezes, Keliane Lima, Elayne Santana, Aline Medeiros, Monique Ferraz, Gabriela Caldas, Kairy Bernardo e Larissa Oliveira pela amizade de todos esses anos, que ela seja eterna.

Ao meu cunhado e amigo Douglas Mendes pelo carinho e apoio.

Aos amigos de Condado Mairla Carvalho, Magnólia Barbosa, Manoel Neto, Ceillyane Gomes e Lidiane Nogueira pelo carinho e amizade sincera.

Aos amigos do Departamento de Mecânica Magda Vieira e Diniz Ramos pela ajuda tão valiosa.

Aos técnicos Sérgio do Laboratório de Microscopia (Departamento de Física - UFPE) e Ronaldo do Laboratório de Saneamento Ambiental (CTG – UFPE) pela disponibilidade nas análises.

À Companhia Hidro Elétrica do São Francisco (CHESF) pela disponibilidade da captação da água do rio São Francisco.

À GALVANISA pelo tratamento da superfície dos corpos-de-prova.

À FACEPE pelo apoio financeiro.

RESUMO

A Biocorrosão, também denominada Corrosão Microbiologicamente Induzida (CMI) está associada à participação dos micro-organismos e seus metabólitos corrosivos na deterioração de diversos materiais. Estas espécies microbianas podem acelerar reações parciais, favorecer ou modificar mecanismos de corrosão através da formação de biofilmes. Estes biofilmes são causadores de graves danos e prejuízos em sistemas que ficam em contato direto com água, tais como, hidrelétricas, tratamento e transporte de água, indústrias alimentícias e de papel, entre outros. Com base na relevância do tema, foram estabelecidos como objetivos desse trabalho, avaliar a microbiota de amostra de água doce proveniente do complexo hidrelétrico Paulo Afonso - BA, isolando-se e quantificando-se os principais grupos de micro-organismos envolvidos no processo de biocorrosão metálica. O estudo foi realizado por um período de 90 dias, em sistema estático utilizando cupons de aço carbono SAE 1010, submersos em amostras de água do rio. A cada 15 dias foram analisadas as concentrações celulares dos principais grupos microbianos presentes no biofilme, a perda de massa e a taxa de corrosão. A superfície metálica foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raio X (DRX). Os resultados mostraram que as bactérias aeróbias heterotróficas e bactérias precipitantes do ferro foram os grupos microbianos que apresentaram maior concentração celular nos biofilmes formados. Também foram encontradas bactérias heterotróficas anaeróbias, *Pseudomonas sp.* e fungos filamentosos, nos tubérculos associados à corrosão. A taxa de corrosão dos cupons em contato com água doce “*in natura*” foi maior em relação aos cupons controle. Os biofilmes foram caracterizados por concentrações crescentes de proteínas, com redução dos carboidratos em 60 dias de experimento. Através da microscopia eletrônica de varredura foram visualizadas bactérias e material de corrosão nos biofilmes formados na superfície dos cupons durante 30 dias de exposição à água doce. Nas análises por difração de raio X, os produtos de corrosão lepidocrocita e pirrotita estavam presentes em todas as amostras analisadas. Através dos resultados obtidos pode-se observar a influencia dos micro-organismos na deterioração dos cupons de aço carbono.

Palavras-chave: Água doce. Corrosão Microbiologicamente Induzida. Biofilme. SAE 1010.

ABSTRACT

Biocorrosion, also known as Microbiologically Induced Corrosion (MIC) is associated with the participation of micro-organisms and their metabolites in corrosive deterioration of various materials. These microbial species can accelerate partial reactions, favor or modifying corrosion mechanisms through the formation of biofilms. These biofilms are causing serious damages to systems that are in direct contact with water such as hidropower, treatment and transport of water, food and paper industries, among others. Based on the relevance of the topic, were established as objective of this study was to evaluate the microbiota of freshwater sample from the hydroelectric complex Paulo Afonso - BA, isolating and quantifying the main groups of microorganisms involved in biocorrosion metal. The study was conducted for a period of 90 days in static system using coupons carbon steel SAE 1010, submerged in water samples from the river. Every 15 days were analyzed the cellular concentrations of main microbial groups present in biofilm weight loss and corrosion rate. The metal surface was evaluated by Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-Ray Diffraction (XRD). The results showed that aerobic heterotrophic bacteria and precipitating iron bacteria were microbial groups with the highest cell concentration in biofilms. We have also found anaerobic heterotrophic bacteria, *Pseudomonas sp.* and filamentous fungi related to corrosion in the tubers. The corrosion rate of coupons in contact with "*in nature*" freshwater was higher than in the control coupons. Biofilms were characterized by increasing concentrations of proteins, carbohydrates with a reduction in 60 days experiment. By scanning electron microscopy were viewed material corrosion and bacteria in biofilms formed on the surface of the coupons for 30 days of exposure to freshwater. In the analyzes by X-ray diffraction corrosion products lepidocrocite and pyrrhotite were present in all samples. The results obtained can observe the influence of micro-organisms in the deterioration of carbon steel coupons.

Key-words: Freshwater. Microbiologically Induced Corrosion. Biofilm. SAE 1010.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Corrosão eletroquímica sem a influência de micro-organismos ..	4
Figura 3.2	Mapa de enquadramento do rio São Francisco, com indicação do complexo de Paulo Afonso-BA	9
Figura 3.3	Processos que governam a formação do biofilme	12
Figura 3.4	Substância polimérica extracelular em diferentes dimensões	14
Figura 3.5	Ciclo do enxofre com atuação das bactérias oxidantes do enxofre e redutoras do sulfato	17
Figura 3.6	Diagrama esquemático da relação entre aeróbios, anaeróbios heterotróficos e bactéria redutora de sulfato nos biofilmes na superfície do metal.....	19
Figura 3.7	Esquema dos processos eletroquímicos e biológicos envolvendo as bactérias oxidantes do ferro	20
Figura 3.8	Vias metabólicas propostas para explicar o envolvimento de diatomáceas no comportamento eletroquímico do aço inoxidável	23
Figura 4.1	Cupons metálicos nas dimensões (A) 30x25x3 mm e (B) 30x10x3 mm	28
Figura 4.2	Cupons metálicos após tratamento por jateamento	28
Figura 4.3	(A) Biorreator 1 e (B) Biorreator 2	30
Figura 4.4	Recipientes para quantificação de micro-organismos sésseis. (A) Micro-organismos aeróbios e (B) Micro-organismos anaeróbios	31
Figura 4.5	Etapas do preparo da amostra. (A) Recipiente submetido a ultrassom por 15 s e (B) Raspagem do cupom com espátula estéril	31

Figura 4.6	(A) Série de diluição dos meios anaeróbios e (B) Inoculação no meio caldo vermelho de fenol	32
Figura 4.7	Caldo nutriente. (A) Meio sem inóculo e (B) Meio turvo devido o crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias totais	33
Figura 4.8	Colônias de <i>Pseudomonas sp.</i>	34
Figura 4.9	Meio citrato férrico amoniaca. (A) Meio sem inóculo e (B) Meio apresentando precipitado de óxido de ferro indicando crescimento das bactérias precipitantes do ferro	35
Figura 4.10	(A) Solução redutora; Meios de cultura para micro-organismos anaeróbios - (B) Caldo vermelho de fenol, (C) Meio Postgate E modificado e (D) Meio fluido tioglicolato	36
Figura 4.11	Meio fluido tioglicolato. (A) Meio sem inóculo; (B) Meio turvo indicando crescimento das bactérias heterotróficas anaeróbias totais; (C) Inoculação no meio com seringas descartáveis	37
Figura 4.12	Caldo vermelho de fenol. (A) Meio sem inóculo e (B) Meio amarelo devido a produção de ácidos pelas bactérias	38
Figura 4.13	Colônias de fungos	39
Figura 5.1	Concentração celular das bactérias heterotróficas aeróbias totais (A) e precipitantes do ferro (B) em células/cm².....	47
Figura 5.2	Concentração celular das <i>Pseudomonas sp. sésseis</i> (A) e fungos (B) em UFC/cm².....	48
Figura 5.3	Concentração celular das bactérias produtoras de ácidos anaeróbias (A) e bactérias heterotróficas anaeróbias totais (B) em células/cm².....	48
Figura 5.4	Biofilme formado na superfície do aço carbono SAE 1010 após 30 dias de exposição ao fluido	49
Figura 5.5	Cupons de aço carbono SAE 1010 expostos à água doce. (A) Sem formação de biofilmes – imersão imediata no fluido e (B)	

	Após 24 horas de exposição	52
Figura 5.6	Cupons de aço carbono SAE 1010 expostos à água doce após (A) 15 dias, (B) e (C) 30 dias	52
Figura 5.7	Taxa de corrosão dos cupons de aço carbono SAE 1010	53
Figura 5.8	Cupom de aço carbono exibindo corrosão uniforme após a remoção do biofilme com espátula estéril	54
Figura 5.9	Microscopia eletrônica de varredura dos biofilmes formados em cupons de aço carbono SAE 1010 exibindo bactérias (seta) após 30 dias de exposição à água doce (A, B, C e D)	58
Figura 5.10	Difração de Raio X dos produtos de corrosão em: (A) 30 dias, (B) 60 dias e (C) 90 dias de exposição à água doce	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Valores máximos para águas doces classe II segundo CONAMA 357/05	10
Tabela 4.1	Composição do meio caldo nutriente	33
Tabela 4.2	Composição do meio <i>Pseudomonas</i> Isolation Agar	33
Tabela 4.3	Composição do meio citrato férrico amoniacal	34
Tabela 4.4	Composição do caldo vermelho de fenol	35
Tabela 4.5	Composição da solução redutora	36
Tabela 4.6	Composição do meio fluido tioglicolato	36
Tabela 4.7	Composição do meio Postgate E modificado	37
Tabela 4.8	Composição do meio Sabouraud	38
Tabela 4.9	Composição química da solução stock de carbono	39
Tabela 4.10	Composição química da solução stock de azoto e fósforo	39
Tabela 4.11	Composição do tampão cacodilato de sódio	40
Tabela 4.12	Composição da solução de glutaraldeído	40
Tabela 4.13	Classificação da corrosividade	41
Tabela 5.1	Análises físico-químicas da água de entrada	44
Tabela 5.2	Análises microbiológicas da água doce no biorreator teste	45
Tabela 5.3	Caracterização bioquímica dos biofilmes em diferentes períodos estudados	55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 GERAL	3
2.2 ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 CORROSÃO	4
3.2 TIPOS DE CORROSÃO	5
3.3 CORROSÃO MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA (CMI)	5
3.4 ÁGUA - AÇÃO CORROSIVA	6
3.5 BIOFILMES	10
3.5.1 FORMAÇÃO DE BIOFILMES	11
3.5.2 SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES (EPS)	13
3.6 MICRO-ORGANISMOS ENVOLVIDOS NA BIOCORROSÃO	16
3.6.1 BACTÉRIAS OXIDANTES DO ENXOFRE	16
3.6.2 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (BRS)	18
3.6.3 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE ÁCIDOS	19
3.6.4 BACTÉRIAS PRECIPITANTES DO FERRO E MANGANÊS	20
3.6.5 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE EXOPOLÍMEROS	21
3.6.6 FUNGOS	22
3.6.7 ALGAS	22
3.6.8 MECANISMOS GERAIS DA BIOCORROSÃO	24
3.7 PREVENÇÃO E CONTROLE DA BIOCORROSÃO	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 CORPOS-DE-PROVA	28
4.2 FLUIDO DO PROCESSO	29
4.3 BIORREATORES	30
4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	30
4.4.1 BACTÉRIAS AERÓBIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS - CALDO NUTRIENTE 33	
4.4.2 <i>Pseudomonas</i> sp. SÉSSEIS - PSEUDOMONAS ISOLATION AGAR	33
4.4.3 BACTÉRIAS PRECIPITANTES DO FERRO - CITRATO FÉRRICO AMONIACAL	34
4.4.4 BACTÉRIAS AERÓBIAS PRODUTORAS DE ÁCIDOS - CALDO VERMELHO DE FENOL	35
4.4.5 SOLUÇÃO REDUTORA	35

4.4.6 BACTÉRIAS ANAERÓBIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS - MEIO FLUIDO TIOGLICOLATO	36
4.4.7 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO - MEIO POSTGATE E MODIFICADO	37
4.4.8 BACTÉRIAS ANAERÓBIAS PRODUTORAS DE ÁCIDOS - CALDO VERMELHO DE FENOL	38
4.4.9 FUNGOS FILAMENTOSOS - MEIO SABOURAUD	38
4.4.10 SOLUÇÃO STOCK DE NUTRIENTES	39
4.4.11 SOLUÇÃO TAMPÃO CACODILATO DE SÓDIO	40
4.4.12 SOLUÇÃO DE GLUTARALDEÍDO	40
4.5 PERDA DE MASSA E TAXA DE CORROSÃO	40
4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES	41
4.6.1 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS	42
4.6.2. ANÁLISE DE PROTEÍNAS	42
4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	42
4.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 ANÁLISES DA ÁGUA DOCE	44
5.2 CONCENTRAÇÃO CELULAR	47
5.3 TAXA DE CORROSÃO	52
5.4 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS BIOFILMES	55
5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS BIOFILMES FORMADOS NOS CUPONS METÁLICOS SAE 1010	57
6. CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

A biocorrosão ocorre sinergicamente devido a interações entre consórcios de micro-organismos no biofilme formado, liberação de produtos do metabolismo microbiano no meio, e a relação destes com a superfície do metal, ocorrendo em aerobiose e/ou anaerobiose (BEECH e SUNNER, 2004).

Várias espécies microbianas produzem metabólitos agressivos que influenciam no processo de corrosão. Dentre elas destacamos as bactérias oxidantes do enxofre como *Acidithiobacillus thiooxidans* (oxidam o enxofre a sulfato e ácido sulfúrico) que são produtoras de ácido e *Clostridium aceticum* (produz ácido acético); Bactérias redutoras de sulfato pertencentes ao gênero *Desulfovibrio* e *Desulfotomaculum* (reduzem sulfato a sulfeto); Bactérias oxidantes do ferro tais como *Gallionella*, *Leptothrix* e *Sphaerotilus* (oxidam o ferro a íon férrico); Bactérias oxidantes do manganês tais como *Leptothrix discophora*; Além das bactérias produtoras de hidrogênio (LEWANDOWSKI e BOLTZ, 2011; VIDELA, 2003).

Estes metabólitos podem acelerar as taxas de reações do processo corrosivo ou mudar o mecanismo da corrosão, e não são responsáveis por um único tipo de corrosão. Eles podem causar a corrosão localizada, principalmente na forma de pites, abertura de fendas em estruturas metálicas, surgimento de células de aeração diferencial, além do aumento da corrosão galvânica (LITTLE e WAGNER, 1997; LITTLE e LEE, 2007).

Além de bactérias, outros tipos de micro-organismos podem estar presentes no biofilme, tais como fungos, algas e protozoários (GONÇALVES, 2002). Segundo Sutherland (2001) os biofilmes são ambientes dinâmicos que abrigam micro-organismos, substâncias poliméricas como polissacarídeos e proteínas, além de água. A maior fração do biofilme é constituída por água (97%) contendo também nutrientes absorvidos, metabólitos, produtos de lise celular e partículas oriundas do ambiente circundante.

O desenvolvimento do biofilme sofre interferências de parâmetros de acordo com as características do substrato, do meio aquoso, das propriedades genéticas das células, nutrientes e materiais particulados que estão presente no meio, a força iônica, como também da presença de agentes microbianos (VIANA, 2009). A formação de biofilmes nos equipamentos metálicos principalmente de aço carbono,

quando submersos em água, são os responsáveis por causar problemas em muitas unidades geradoras de energia elétrica (MARANGONI, 2010).

Os custos relacionados à corrosão têm importância significativa na economia nacional de um país podendo atingir cerca de 4% do PIB (Produto Interno Bruto) em alguns países. Cerca de 10 bilhões de dólares são gastos a cada ano na indústria de geração de energia elétrica dos Estados Unidos. Estes custos podem aumentar quando a corrosão é ignorada afetando o meio ambiente, a saúde e a segurança da população (JAVAHERDASHTI, 2008).

As indústrias mais afetadas pela corrosão são a de geração de energia, produção de óleo, transporte, estocagem e distribuição de água. Nas hidrelétricas, os biofilmes podem causar diversas dificuldades operacionais através da formação de *biofouling* (acúmulo de biofilmes) em tubos, que levam a perda de eficiência nos radiadores e trocadores de calor, assim como a diminuição de sua vida útil (BEECH, 2004; MATTÊA *et al.*, 2002).

O crescente interesse na corrosão induzida por micro-organismos decorre do fato de serem inúmeros os ambientes onde os mesmos podem se desenvolver, gerando vários problemas. Para se ter um bom entendimento do processo corrosivo se faz necessário o isolamento e identificação dos micro-organismos envolvidos no mesmo. E a partir deste conhecimento propor métodos para prevenir e controlar a ação microbiana no local (CORREIA *et al.*, 2010). O combate à corrosão pode ser realizado através da limpeza mecânica por *pigs*, métodos químicos (uso de biocidas), variação do pH, uso de revestimentos, inibição dos micro-organismos e consequentemente da formação de biofilme, entre outros.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar a microbiota da água doce e sua influência na corrosão de cupons metálicos de aço carbono SAE 1010.

2.2 ESPECÍFICOS

- Quantificação dos principais grupos de micro-organismos (sésseis e planctônicos);
- Avaliar a formação de biofilmes em sistema estático em cupons de aço carbono SAE 1010;
- Determinar as taxas de corrosão por perda de massa em cupons de aço carbono;
- Extração e quantificação das proteínas e carboidratos presentes nos biofilmes microbianos;
- Análise das superfícies dos cupons metálicos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raio X (DRX).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

É difícil determinar os custos econômicos relacionados à biocorrosão, que é oriunda da ação dos micro-organismos, em especial das bactérias. Este mecanismo vem sendo encontrado em diversos ambientes como: a exposição de metais à água do mar, água doce, água destilada ou desmineralizada, processos químicos, solo, combustíveis, óleo, plasma humano, entre outros (LITTLE e LEE, 2007).

3.1 CORROSÃO

Beech e Sunner (2004) definem a corrosão eletroquímica como uma reação química que ocorre no metal quando inserido em um meio agressivo, essa interação físico-química gera transferência de elétrons entre as regiões catódica e anódica do metal fragilizando este substrato. A Figura 3.1 a seguir descreve as reações e as interações durante a corrosão dos metais. No anodo o ferro é oxidado a íon ferroso, no cátodo há formação de íons hidroxila. Estes íons reagem formando o hidróxido ferroso. O hidróxido ferroso quando presente em ambientes aerados sofre reação com o oxigênio formando o hidróxido ferroso que é um produto de corrosão de coloração alaranjada ou castanho-avermelhada. Quando o ambiente tem pouca ou nenhuma oxigenação o hidróxido ferroso forma o óxido férrico que é outro produto de corrosão de coloração preta (GENTIL, 2011).

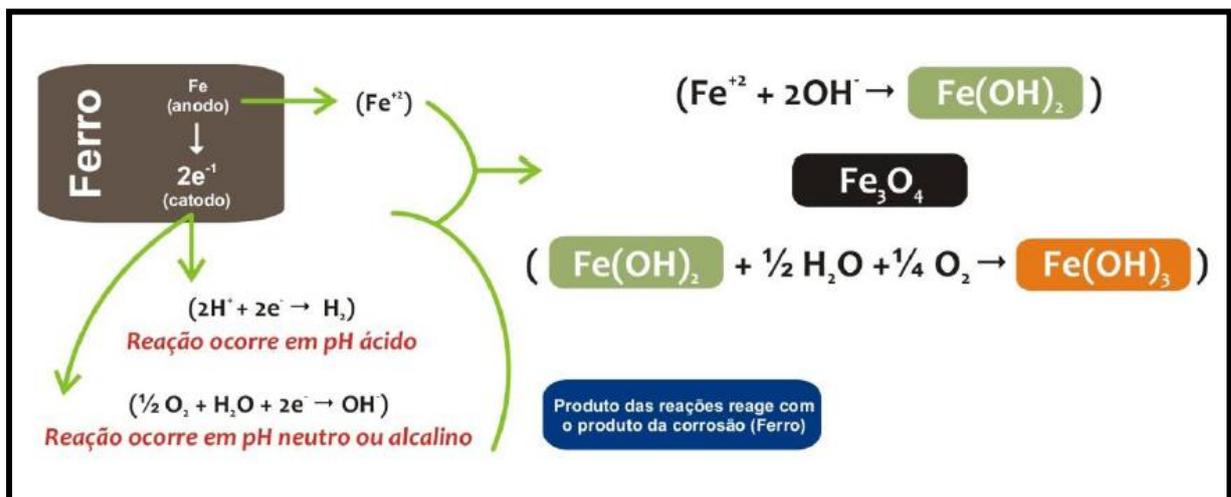


Figura 3.1 – Corrosão eletroquímica sem a influência de micro-organismos.
 (Fonte: MARANGONI, 2010).

A corrosão ocorre tanto em materiais metálicos como não-metálicos (concreto, borracha, madeira, polímeros, etc.) podendo ser influenciados ou acelerados pela ação mecânica (GENTIL, 2011).

3.2 TIPOS DE CORROSÃO

A corrosão pode ser dividida em dois grandes grupos principais: corrosão uniforme e corrosão localizada (VIDELA, 2003). A corrosão uniforme deteriora toda a superfície levando a perda de espessura do metal. Entretanto, a corrosão localizada se processa em sítios específicos, em que a profundidade da corrosão é maior do que o diâmetro do pite gerando maior dissolução do metal (GENTIL, 2011). Estes grupos podem ainda ser subdivididos de acordo com sua morfologia, mecanismos, fatores mecânicos, meio corrosivo e a localização do ataque.

Segundo Gentil (2011) as subdivisões dos grupos citados acima são as seguintes:

- 1) A morfologia da corrosão pode ser uniforme, por placas, alveolar, puntiforme, intergranular, intragranular, filiforme, por esfoliação, grafítica, dezincificação, em torno do cordão de solda e empolamento por hidrogênio;
- 2) Os mecanismos corrosivos ocorrem através da aeração diferencial, eletrolítica, galvânica, sob tensão fraturante, fragilização pelo hidrogênio, entre outros;
- 3) Os fatores mecânicos estão relacionados à fadiga, tensão, atrito ou associada à erosão;
- 4) A localização do ataque da corrosão por ser por pite, uniforme (em toda a superfície), intergranular (dentro do grânulo), transgranular (ao redor do grânulo), entre outros.

A corrosão localizada é o tipo de corrosão mais fortemente influenciada pelos micro-organismos e produz vários outros tipos de corrosão: corrosão por pites, frestas, fendas, por depósitos, entre outros (LITTLE e LEE, 2007).

3.3 CORROSÃO MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA (CMI)

A biocorrosão ou corrosão microbiologicamente induzida envolve três componentes fundamentais: metal, solução e micro-organismos. Ou seja, refere-se a

capacidade dos micro-organismos em iniciar, acelerar ou facilitar as reações de corrosão no meio através de seus metabolitos ativos (JAVAHERDASHTI, 2008; MIRANDA *et al.*, 2006).

Os produtos originados do metabolismo microbiano podem ser enzimas, exopolímeros, ácidos orgânicos e inorgânicos, bem como compostos voláteis como amônia e sulfeto de hidrogênio (BEECH e GAYLARDE, 1999). Estes produtos afetam as reações anódicas e catódicas, havendo formação de biofilmes, que causam uma aeração diferencial com conseqüente dissolução do metal (VIDELA, 2003). Dentre os micro-organismos que influenciam a biocorrosão, as bactérias aeróbias e anaeróbias merecem destaque por serem as maiores influenciadoras deste fenômeno (GENTIL, 2011; LITTLE e LEE, 2007).

3.4 ÁGUA - AÇÃO CORROSIVA

Diversos meios podem ser corrosivos, como a atmosfera, águas naturais, solo, produtos químicos, alimentos, madeira, plásticos, solventes orgânicos e substâncias fundidas. Dentre estes destacamos a ação corrosiva da água por ser componente do estudo (GENTIL, 2011).

A água é um dos principais veículos que favorece a corrosão em metais por apresentar impurezas e contaminantes. Os materiais metálicos quando estão em contato com estes fluidos (água potável, água doce, água do mar, água de resfriamento e água de geração de vapor) iniciam seus processos corrosivos de acordo com a substância contaminante presente. De acordo com Gentil (2011) as variáveis que afetam a corrosividade na água são:

- 1) Sais dissolvidos (cloretos, carbonato de sódio, magnésio, bicarbonatos);
- 2) Gases dissolvidos (oxigênio, nitrogênio, gás sulfídrico, dióxido de carbono, óxidos de enxofre, SO₂ e SO₃, amônia e cloro);
- 3) Matéria orgânica;
- 4) Sólidos suspensos;
- 5) Crescimento biológico (bactérias, algas e fungos).

O cloreto de sódio na água do mar favorece o processo de corrosão, por ser um eletrólito forte, aumentando a corrosividade deste ambiente. Outros sais como bicarbonato de cálcio (Ca(HCO₃)₂) e sulfato de magnésio (MgSO₄) podem atuar

como inibidores da corrosão ao reagirem com íons hidroxilas (OH^-) no cátodo formam produtos insolúveis de carbonato de cálcio e hidróxido de magnésio que se depositam sobre o metal protegendo-o (GENTIL, 2011).

O oxigênio é um forte agente corrosivo ao aço-carbono por participar da reação eletroquímica despolarizando o cátodo. Essa ação corrosiva é proporcional a concentração de oxigênio na água, sendo influenciados pela temperatura e pressão. Entretanto, há situações em que o oxigênio é essencial para formar películas passivadoras (Al_2O_3 ou Cr_2O_3) nos metais, é o caso do alumínio e suas ligas de aços inoxidáveis (SOUZA, 2007; GENTIL, 2011).

O dióxido de carbono (CO_2), gás sulfídrico (H_2S), cloro gasoso (Cl_2) ao ser solubilizado na água forma o ácido carbônico (H_2CO_3), ácido sulfídrico e ácido clorídrico (HCl), respectivamente, que desta forma, influencia na ação agressiva da água por apresentarem baixo valor de pH. A amônia em contato com a água forma o hidróxido de amônio que tem pH alcalino, podendo corroer materiais de cobre (GENTIL, 2011).

Os sólidos suspensos na água podem ter origens diversas, tais como poluentes atmosféricos, pós de óxidos (alumínio e cálcio), além de matéria orgânica. Estes compostos se depositam em tubulações afetando seu desempenho causando a corrosão sob depósito (GENTIL, 2011).

As águas usadas em processos industriais não são estéreis, sendo capazes de formar biofilmes causando danos em diversos ambientes (COETSER e CLOETE, 2005). A água doce é composta por uma microbiota bastante diversificada representada por quatro regiões denominadas zonas. A zona litorânea é a região próxima a margem, no qual possui vegetação enraizada e a luz penetra facilmente. A zona limnética consiste na área aberta longe da costa. Nesta zona encontram-se principalmente algas fotossintéticas, espécies de *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Caulobacter* e *Hyphomicrobium*. Em águas mais profundas denominadas zonas hipolíminias e bênticas a concentração de oxigênio e luz é reduzida. Nestas regiões são encontradas bactérias anaeróbias como *Desulfovibrio*, bactérias produtoras de metano, além de espécies de *Clostridium* (TORTORA *et al.*, 2000).

Nas centrais hidrelétricas, a matéria prima utilizada é a água das bacias hidrográficas de rios, sendo acumuladas em reservatórios. Por ser uma água sem tratamento (água bruta) abrigam micro-organismos, substâncias em suspensão e

matéria orgânica que causam entupimentos, prejudicam as trocas térmicas favorecendo a ação corrosiva nos metais dos equipamentos (MATTÊA *et al.*, 2002).

Os sistemas de resfriamento são ambientes favoráveis a corrosão induzida por micro-organismos. Neste local o crescimento de micro-organismos é facilitado pelas seguintes condições: oxigenação da água, exposição da água à luz solar, pH entre 7,0-8,0 com temperatura variando entre 27-80 °C (GENTIL, 2011). Em hidrelétricas, o sistema de resfriamento é formado geralmente por radiadores e trocadores de calor que são produzidos por materiais de aço carbono, aço inoxidável, latão, cobre, ferro fundido, entre outros (MATTÊA *et al.*, 2002).

Os aços são ligas de ferro-carbono que podem conter outros elementos. Os tipos mais comuns são classificados de acordo com a concentração de carbono presente em baixo (<0,25%), médio (entre 0,25-0,60%) e alto teor (entre 0,6-1,4%) de carbono. O aço carbono SAE 1010 é um aço com baixo teor de carbono (CALLISTER JR., 2002).

As ligas de baixo teor de carbono são ligas relativamente moles e fracas, porém apresentam uma excelente ductilidade e tenacidade. Sua aplicabilidade é frequente em formas estruturais (vigas, canaletas e ferros angulados) e chapas usadas em tubulações, edificações, pontes, entre outros. Dependendo do ambiente em que estão em contato (água doce, água do mar, solo, atmosfera, entre outros) o aço carbono pode ser agredido por processos que causam corrosão (CALLISTER JR., 2002).

Os padrões de qualidade da água no Brasil são regulamentados pela Resolução CONAMA N° 357, de 18/03/2005. Esta Resolução estabelece a classificação dos corpos d'água em águas doces (salinidade $\leq 5\%$), salobras (salinidade $> 0,5\%$ e $< 30\%$) e salgadas (salinidade $\geq 30\%$), com suas respectivas diretrizes para o seu enquadramento. A água do rio São Francisco proveniente do complexo de Paulo Afonso é classificada como água doce de classe II segundo a classificação da Portaria do IBAMA n° 715, de 20 de setembro de 1989. A hidrelétrica de Paulo Afonso fica no trecho III desta Portaria (rio São Francisco, da confluência com o rio Mombaça até a sua foz no Oceano Atlântico). A Figura 3.2 apresenta o mapa com as classes de enquadramento da bacia do rio São Francisco. Os limites dos padrões para água doce de classe II estão listados na Tabela 3.1.

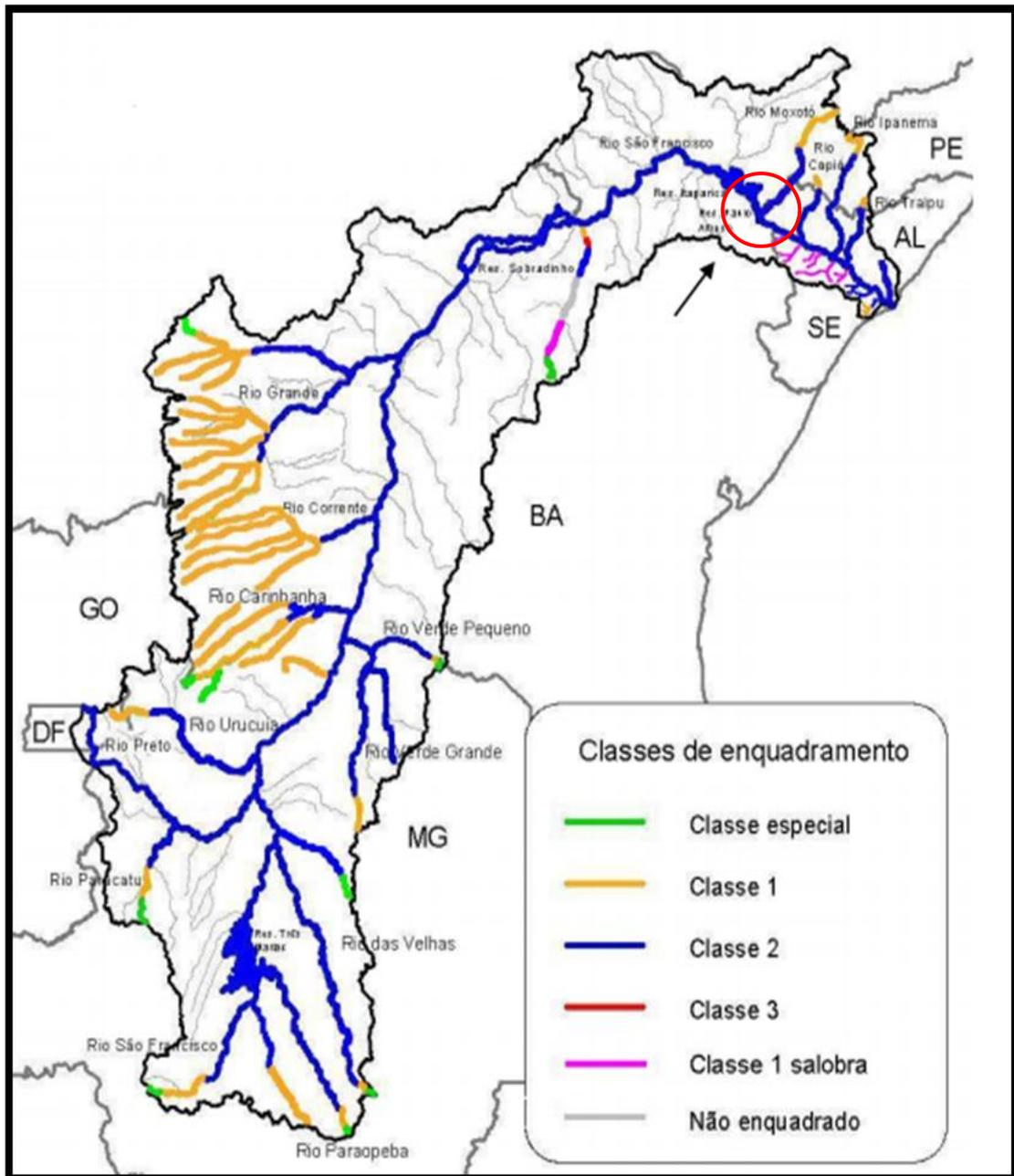


Figura 3.2 – Mapa de enquadramento do rio São Francisco, com indicação do complexo de Paulo Afonso-BA.

(Fonte: IBAMA, 1989).

Tabela 3.1 – Valores máximos para águas doces classe II segundo CONAMA 357/05.

PARÂMETROS	CLASSE II
pH	6,0-9,0
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	*
Cloreto total (mg/L Cl)	250,0
Fósforo total (ambiente lêntico) (mg/L)	0,03
Fósforo total (ambiente intermediário) (mg/L)	0,05
Fósforo total (ambiente lótico) (mg/L)	0,1
Turbidez (NTU)	100
Sólidos dissolvidos totais (mg/L)	500,0
Ferro dissolvido (mg/L Fe)	0,3
DBO 5 dias (mg/L O ₂)	5,0
OD (mg/L O ₂)	≥ 5,0
Nitrito (mg/L N)	1,0
Nitrato (mg/L N)	10,0
Cádmio (mg/L Cd)	0,001
Chumbo (mg/L Pb)	0,01
Cobre (mg/L Cu)	0,009
Cromo Total (mg/L Cr)	0,05
Mercúrio (mg/L Hg)	0,2
Níquel (mg/L Ni)	0,025
Zinco (mg/L Zn)	0,18

*Não Especificado

(Fonte: CONAMA N° 357, 2005).

3.5 BIOFILMES

Flemming e Wingender (2010) conceituam biofilmes como acúmulos de células microbianas na interface sólido/líquido, estabelecendo ao longo de sua formação um gradiente físico-químico. Dentro destes agregados polimicrobianos se formam verdadeiras comunidades sinérgicas, que conduzem processos combinados através da interação célula-célula, onde se favorece a transferência horizontal de genes (FLEMMING e WINGENDER, 2010; WIMPENNY, 1996).

Os biofilmes são constituídos de microconsórcios nos quais podem ser encontradas bactérias, fungos, microalgas, vírus e protozoários (VIANA, 2009). As bactérias constituem o principal grupo na formação dos biofilmes, tendo como principais características: possuírem tamanho reduzido; apresentarem elevada taxa de reprodução; grande capacidade de adaptação e produção de diversas substâncias extracelulares (PEREIRA, 2001). A estrutura da matriz do biofilme varia

de acordo com os micro-organismos que estão presentes, do seu estado fisiológico, nutrientes e condições físicas existentes (SUTHERLAND, 2001).

Menos que 10% da massa seca total do biofilme é constituída pelos micro-organismos e mais de 90% é formada pela matriz celular. Esta matriz é composta na sua maioria por água - 95% a 97% (FLEMMING, 1993; SUTHERLAND, 2001), além de polímeros excretados pelos micro-organismos, micro e macromoléculas (ácidos graxos, lipídeos, proteínas, polissacarídeos e ácidos húmicos) que são adsorvidas na base do substrato. Essa matriz polimérica desempenha funções importantes para a sobrevivência microbiana como proteção contra dessecação, biocidas oxidantes, alguns antibióticos e cátions metálicos, radiação ultravioleta e alguns protozoários (FLEMMING e WINGENDER, 2010).

Segundo Lear *et al.*, (2012) os biofilmes de água doce possuem uma enorme variedade taxonômica. Os pesquisadores afirmam ainda que os exudatos e lisados presentes dentro dos biofilmes em águas doces naturais são nutrientes que servem como fonte de alimentação para espécies bentônicas.

3.5.1 FORMAÇÃO DE BIOFILMES

Em ambientes aquáticos, naturais ou industriais, os processos de adesão microbiana são iniciados imediatamente após a imersão dos metais a este meio, não necessariamente uniforme no tempo ou espaço (CHARACKLIS e MARSHALL, 1990). Esta fase inicial de colonização microbiana é controlada principalmente pela hidrodinâmica (LEWANDOWSKI e STOODLEY, 1995). Em pouco tempo, os micro-organismos produzem exopolissacarídeos resultando no desenvolvimento do biofilme. Como consequência deste processo ocorre a dissolução do metal e formação de produtos de corrosão (VIDELA e HERRERA, 2005).

A formação gradativa do biofilme é responsável por modificar através de reações químicas o substrato metálico estabelecendo uma condição de anaerobiose na base do metal, à medida que os micro-organismos se nutrem e consomem o oxigênio presente (JAVAHERDASHTI, 2008). Importantes modificações nesta interface são observadas após formação, como alteração no valor do pH, no potencial de oxi-redução, nos tipos de íons e até nas variáveis eletroquímicas usadas para avaliar a taxa de corrosão (VIDELA, 1989). Fatores intrínsecos e extrínsecos determinam a estrutura do biofilme. Como característica determinante

intrínseca se destaca o perfil genético das células microbianas. Já as características extrínsecas estão relacionadas ao ambiente físico-químico, gradiente de difusão e transporte do soluto no meio (WIMPENNY, 2000).

As etapas de formação dos biofilmes foram definidas concisamente por Little e Lee (2007) em três estágios: fixação, crescimento e desprendimento. Bryers e Ratner (2004) descreveram com mais detalhes estas etapas, dividindo-as em nove fases de acordo com a Figura 3.3.

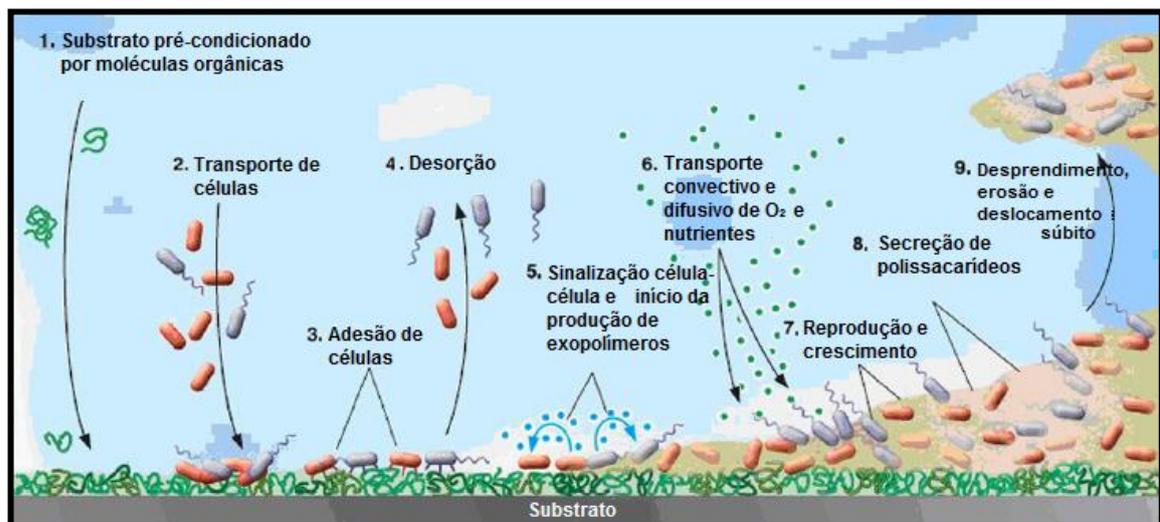


Figura 3.3 – Processos que governam a formação do biofilme.

(Fonte: Extraído e adaptado BRYERS e RATNER, 2004).

1. Macromoléculas existentes na camada fluida são pré-condicionadas ou intencionalmente revestidas sobre esta superfície;
2. Transporte de células planctônicas para a superfície;
3. Adsorção de células por reações específicas e inespecíficas;
4. Dessorção de células que foram reversivelmente adsorvidas;
5. Adsorção irreversível das células bacterianas e produção de substâncias sinalizadoras;
6. Transporte de nutrientes para dentro do biofilme e superfície metálica;
7. Reprodução e desenvolvimento celular;
8. Metabolismo celular e secreção de produtos para fora do biofilme acompanhados por crescimento, reprodução, e produção de exopolímeros;
9. Desprendimento ou deslocamento súbito do biofilme.

O ambiente dos biofilmes é dinâmico, nele constantemente estão ocorrendo mudanças e reações enzimáticas favorecendo a renovação deste sistema. Porém esta matriz pode ser alterada por força de cisalhamento, reações internas ou externas que podem desprender partes do biofilme (SUTHERLAND, 2001).

3.5.2 SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES (EPS)

As substâncias poliméricas extracelulares são biopolímeros de origem microbiana composta por polissacarídeos, proteínas, glicoproteínas, glicolipídeos, substâncias húmicas, DNA extracelular (e-DNA), além de outros. Formam um arcabouço tridimensional nos biofilmes conferindo aos mesmos uma maior coesão, além de aprisionarem os micro-organismos determinando assim as condições de vida neste microambiente (FLEMMING *et al.*, 2007; FLEMMING e WINGENDER, 2010). A Figura 3.4 a seguir mostra em diferentes dimensões as substâncias poliméricas extracelulares. Observa-se em: (a) O modelo de biofilme bacteriano, produção inicial da matriz com ligação de células na superfície metálica; (b) Componentes da matriz – polissacarídeos, proteínas e DNA – são distribuídos entre as células e a criação de diferentes regiões na matriz; (c) Interações físico-químicas fracas e o aprisionamento de biopolímeros que influenciam a estabilidade da matriz de EPS; (d) Uma simulação de modelagem molecular da interação entre o exopolissacarídeo alginato (à direita - filamento) e a enzima extracelular lipase (à esquerda - aglomerado) de *Pseudomonas aeruginosa* em solução aquática.

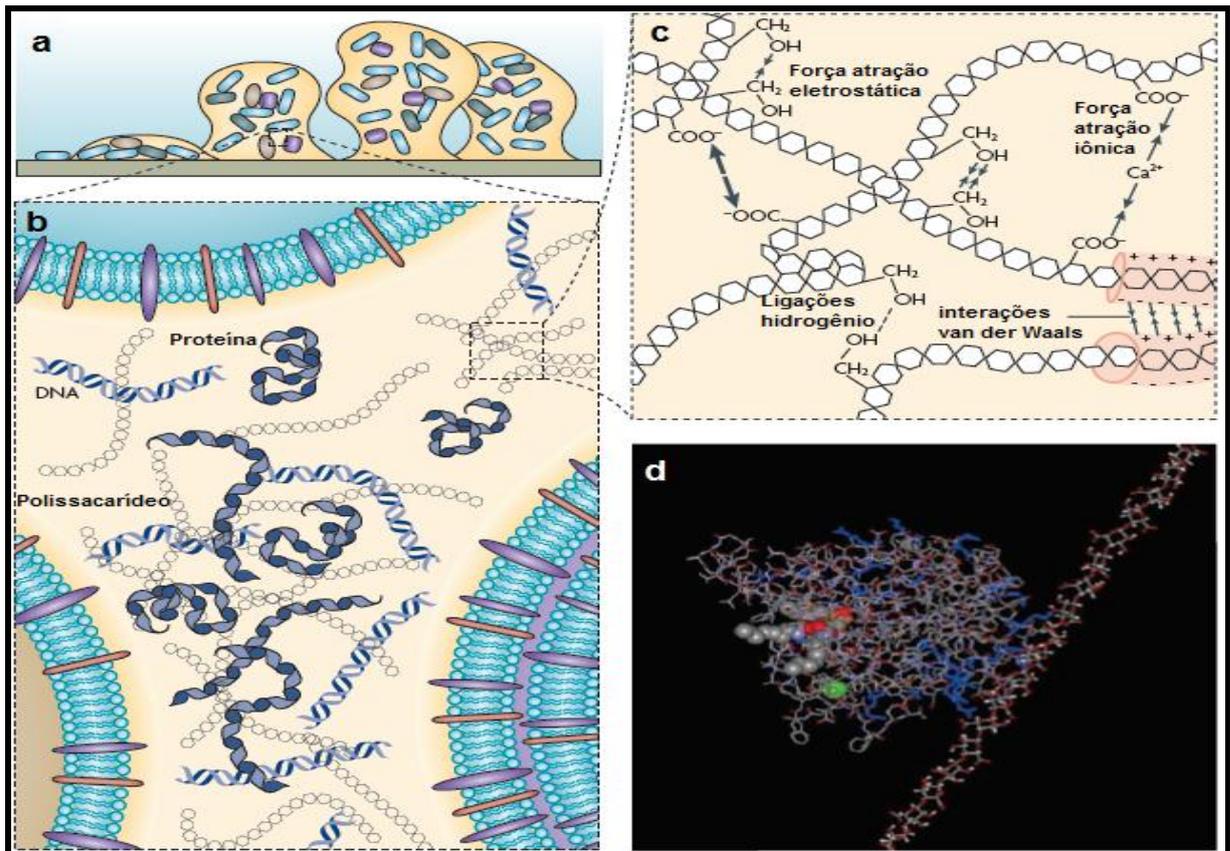


Figura 3.4 – Substância polimérica extracelular em diferentes dimensões.

(Fonte: FLEMMING e WINGENDER, 2010).

Algumas funções importantes para a sobrevivência microbiana são desempenhadas pelas EPS dentro da matriz do biofilme. Flemming e Wingender, (2010) destacam as seguintes funções:

- Adesão em superfícies, facilitando a colonização inicial dos micro-organismos planctônicos;
- Formação de agregados microbianos permitindo a imobilização de células com conseqüente reconhecimento célula-célula, aumentando a densidade entre eles;
- Aumento da coesão dos biofilmes através de uma rede polimérica altamente hidratada;
- Aumento da retenção de água ao redor dos organismos atenuando qualquer efeito de dessecação neste consórcio;
- Proteção contra agentes específicos ou inespecíficos do hospedeiro;
- Sorção de compostos orgânicos favorecendo a desintoxicação do meio ambiente por xenobióticos;

- Promoção da sorção de íons inorgânicos através da formação de um polissacarídeo gel, de íons de troca iônica, como o acúmulo de metais tóxicos;
- Dispersão dos componentes estruturais exógenos e células do biofilme através de sua atividade enzimática;
- Fornecimento de uma fonte de nutrientes (carbono, azoto e fósforo) para os micro-organismos presentes no biofilme;
- Facilitar a troca de informação genética (transferência horizontal de genes) entre as células;
- Permissão da atividade redox na matriz do biofilme;
- Liberação do material celular como resultado de um *turnover* metabólico;
- Acúmulo, retenção e estabilização de enzimas através da interação com polissacarídeos.

Estes biopolímeros são produzidos dinamicamente nos biofilmes por bactérias, arqueas, microalgas e micro-organismos eucarióticos como os fungos. Vale ressaltar que são importantes para a formação e manutenção da estrutura física e espacial da matriz do biofilme (FLEMMING *et al.*, 2007; SUTHERLAND, 2001). Os EPS podem servir como fonte energética para algumas células em caso de carência de nutrientes no meio (SHENG *et al.*, 2010; SUTHERLAND, 2001).

Estes EPS podem prender íons multivalentes como Ca^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{3+} através do grupo funcional presente nos carboidratos e proteínas ocasionando em alguns casos, alterações no potencial padrão de redução na interface metal/biofilme (BEECH e SUNNER, 2004).

É importante lembrar que os polissacarídeos são moléculas longas com massa entre $0,5-2,0 \times 10^6$ daltons, sendo considerada a maior proporção constituinte da matriz polimérica (FLEMMING e WINGENDER, 2010). De acordo com o tipo de carboidrato excretado, a matriz do biofilme pode apresentar maior ou menor fluidez, ser mais ou menos rígidos (SUTHERLAND, 2001). Estes carboidratos podem variar de acordo com a espécie bacteriana, por exemplo: espécies da família *Pseudomonadaceae* e *Enterobacteriaceae* produzem celulose que é um homopolissacarídeo. Já outras espécies produzem heteropolissacarídeos que são carboidratos mistos (WINGENDER *et al.*, 2001).

As enzimas extracelulares são importantes, pois são as proteínas envolvidas na modificação da estrutura polimérica do biofilme. Estas enzimas afetam a propriedade física da matriz através do enfraquecimento das ligações, ocasionando a perda de macromoléculas e células (SUTHERLAND, 2001). A quantidade de proteínas extracelulares no biofilme pode ultrapassar a concentração de polissacarídeos. Estas proteínas podem estar diretamente ligadas à estrutura da matriz ou influenciar o destacamento do biofilme através de sua atividade enzimática. As proteínas de função estrutural podem se ligar a carboidratos na superfície da célula, mantendo estáveis as ligações entre bactérias e EPS (FLEMMING e WINGENDER, 2010).

Através de métodos químicos colorimétricos pode-se determinar a composição polimérica extracelular nos biofilmes. Embora a utilização de equipamentos modernos para a quantificação de carboidratos e proteínas seja freqüente, os métodos tradicionais como fenol-ácido sulfúrico e método de Lowry, respectivamente, ainda são amplamente citados na literatura (SHENG *et al.*, 2010).

3.6 MICRO-ORGANISMOS ENVOLVIDOS NA BIOCORROSÃO

De acordo com a fisiologia microbiana pode-se estabelecer diferentes mecanismos de corrosão. Estes micro-organismos formam consórcios sinérgicos dentro dos biofilmes, nos quais ocorrem os processos corrosivos em sintonia com forças químicas e eletroquímicas do ambiente (BEECH e GAYLARDE, 1999).

Nos ambientes aquáticos e terrestres as primeiras colonizadoras da superfície dos metais são as bactérias, neste grupo destacam-se as bactérias redutoras de sulfato (BRS), bactérias oxidantes do enxofre, bactérias precipitantes do ferro, bactérias oxidantes do manganês e as bactérias produtoras de ácidos orgânicos e exopolímeros (BEECH e SUNNER, 2004). Abaixo está descrito os principais micro-organismos relacionados com a biocorrosão.

3.6.1 BACTÉRIAS OXIDANTES DO ENXOFRE

As bactérias oxidantes do enxofre são capazes de oxidar o enxofre ou compostos de enxofre (sulfito, tiosulfato e tetracionato) a sulfato, e produzem ácido sulfúrico tornando o meio ainda mais corrosivo. Este grupo microbiano cresce em

meios com pH 2,0 ou valores inferiores, a uma temperatura entre 25-30 °C. Dependendo da espécie bacteriana podem ser encontradas em águas de minas de ouro e carvão, águas de esgoto ou águas poluídas. Estas bactérias participam do ciclo do enxofre por serem quimioautotróficas (Figura 3.5) (GENTIL, 2011).

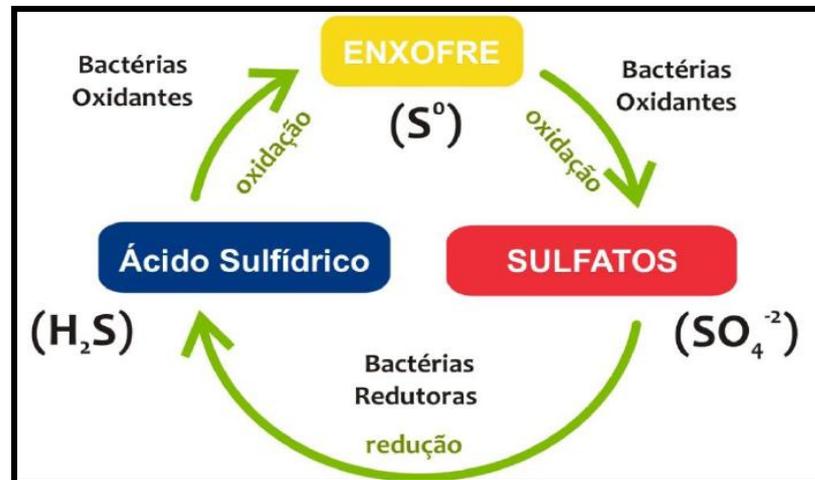


Figura 3.5 – Ciclo do enxofre com atuação das bactérias oxidantes do enxofre e redutoras do sulfato.

(Fonte: MARANGONI, 2010).

As reações químicas que ocorrem neste ciclo são citadas abaixo, de acordo com Gentil (2011). Na presença de enxofre elementar ocorre a seguinte reação pelas oxidantes do enxofre:



Quando gás sulfídrico (ácido sulfídrico) está presente tem-se:



Segundo COETSER e CLOETE (2005) o gênero *Acidithiobacillus* é um grupo de bactérias aeróbias, quimioautotróficas, em que se obtém energia de compostos inorgânicos e através da fixação do CO_2 obtém sua fonte de carbono. Deste grupo destacam-se as espécies *Acidithiobacillus thioparus*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Acidithiobacillus concretivorus* por estarem diretamente relacionadas a processos de corrosão (GENTIL, 2011).

Acidithiobacillus thiooxidans e *A. concretivorus* são conhecidas pela produção de ácido sulfúrico ocasionando graves ataques corrosivos no metal e concreto. *A. ferroxidans* oxidam o ferro além dos compostos de enxofre, tais como o minério pirita

(FeS₂) que quando oxidado a ácido sulfúrico ocasiona a acidez das águas de minérios (COETSER e CLOETE, 2005; GENTIL, 2011).

3.6.2 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (BRS)

As bactérias redutoras de sulfato são quimioheterotróficas, retiram energia para seu metabolismo dos nutrientes orgânicos e também participam do ciclo do enxofre (Figura 3.4) reduzindo compostos de enxofre, como sulfato, sulfito e tiosulfato a sulfeto. São estritamente anaeróbias, embora algumas cepas apresentem tolerância a baixas concentrações de oxigênio (BEECH e GAYLARDE, 1999; MARANGONI, 2010).

O crescimento destas bactérias ocorre na temperatura entre 25-44 °C com pH entre 5,5 e 8,5 (faixa ótima 7,2). Estas bactérias são frequentemente encontradas em água doce, água do mar, no solo e em tanques de estocagem de combustíveis (GENTIL, 2011).

Os gêneros *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* e *Desulfobacter* pertencem ao grupo de bactérias que reduzem o sulfato (SO₄²⁻) a sulfeto (S²⁻), já o gênero *Desulfomonas* além de reduzir o sulfato, também reduz o enxofre elementar (S) para sulfeto (S²⁻) (GENTIL, 2011). A redução do enxofre elementar ou tiosulfato produz sulfeto de hidrogênio que conseqüentemente acidifica o meio, além de catalisar a ação do hidrogênio em aços (LITTLE e LEE, 2007).

A atividade metabólica das BRS nos diversos ambientes libera no meio vários compostos de enxofre (sulfetos, bissulfetos e sulfetos de hidrogênio, tiosulfatos, politionatos) que são corrosivos para o ferro e suas ligas. Esses ânions de enxofre em contato com o aço formam um filme de mackinawita (FeS), sulfeto rico em ferro, mas pouco protetor para a superfície. Esse filme através de reações biológicas e eletroquímicas se transforma em filmes de sulfeto de ferro mais estáveis, tais como greigita (Fe₃S₄), esmetita (Fe_(3+x)S₄), ou pirrotita (Fe_(3+x)S). Termodinamicamente, o tipo de sulfeto mais estável sobre o ferro é a pirita (FeS₂). Em todos os casos, os sulfetos de ferro se caracterizam por causar um marcante efeito catódico de despolarização da reação de redução de hidrogênio, o que induz uma aceleração indireta na velocidade de corrosão por via catódica (VIDELA, 2003).

O principal tipo de corrosão provocado pelas bactérias redutoras de sulfato é a corrosão por pites, em que se observa a deposição de sulfeto de ferro (produto de corrosão de coloração preta) dentro dos pites (HAMILTON, 1985).

As BRS causam corrosão em ferro fundido, aço carbono, aço inoxidável e suas ligas. A biocorrosão causada por estas bactérias é um exemplo de mecanismo que depende da atividade de um grupo específico dentro do biofilme (LEWANDOWSKI e BOLTZ, 2011). Ou seja, se a taxa de respiração aeróbica microbiana dentro do biofilme é maior que a difusão do oxigênio, estabelece uma condição de anaerobiose na base do metal favorecendo a produção de sulfeto pelas bactérias redutoras de sulfato (Figura 3.6) (HAMILTON, 1985).

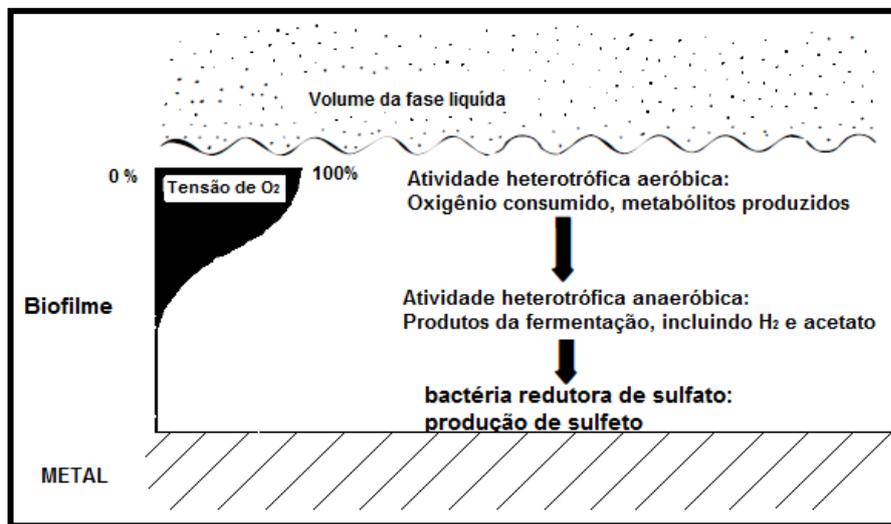


Figura 3.6 – Diagrama esquemático da relação entre aeróbios, anaeróbios heterotróficos e bactéria redutora de sulfato nos biofilmes na superfície do metal. (Fonte: HAMILTON, 1985).

3.6.3 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE ÁCIDOS

As bactérias produtoras de ácidos são micro-organismos heterotróficos que secretam ácidos, os quais promovem a oxidação eletroquímica de metais, tendo ação intensificada quando estes metabólitos aderem na interface metal/solução (LITTLE e LEE, 2007).

Estas bactérias crescem a 25-30 °C com pH em torno de 2,0, podem secretar ácidos orgânicos (acético, isobutírico, succínico, entre outros) como também ácidos inorgânicos (sulfúrico) (GENTIL, 2011; BORENSTEIN, 1994). Por exemplo, as

bactérias do gênero *Acidithiobacillus spp.* oxidam o enxofre a ácido sulfúrico, promovendo corrosão severa em equipamentos de hidrelétricas e de mineração (BEECH e GAYLARDE, 1999). Alguns fungos aeróbicos causam corrosão através de seus metabólitos ácidos em metais como cobre, ferro e alumínio (GENTIL, 2011).

3.6.4 BACTÉRIAS PRECIPITANTES DO FERRO E MANGANÊS

Os mecanismos corrosivos do ferro são influenciados por bactérias dos gêneros *Gallionella*, *Sphaerotilus*, *Crenothrix*, *Siderocapsa*, *Clonothrix* e *Leptothrix*. Estas bactérias estabelecem associações sinérgicas com outros micro-organismos favorecendo a formação de um ambiente microaerofílico ideal para o crescimento das bactérias precipitantes do ferro (LITTLE e LEE, 2007).

As bactérias deste grupo são aeróbias e podem participar da biodeterioração dos metais de ferro e manganês. As ferrobactérias oxidam íons ferrosos (Fe^{2+}) a íons férricos (Fe^{3+}) formando precipitados insolúveis de óxidos ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ou hidróxidos de ferro ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) (Figura 3.7). Estes tubérculos são depósitos macroscópicos castanho-amarelados ou alaranjados que contêm micro-organismos, além de compostos orgânicos e inorgânicos podendo ser observados em tubulações de água subterrânea (GENTIL, 2011).

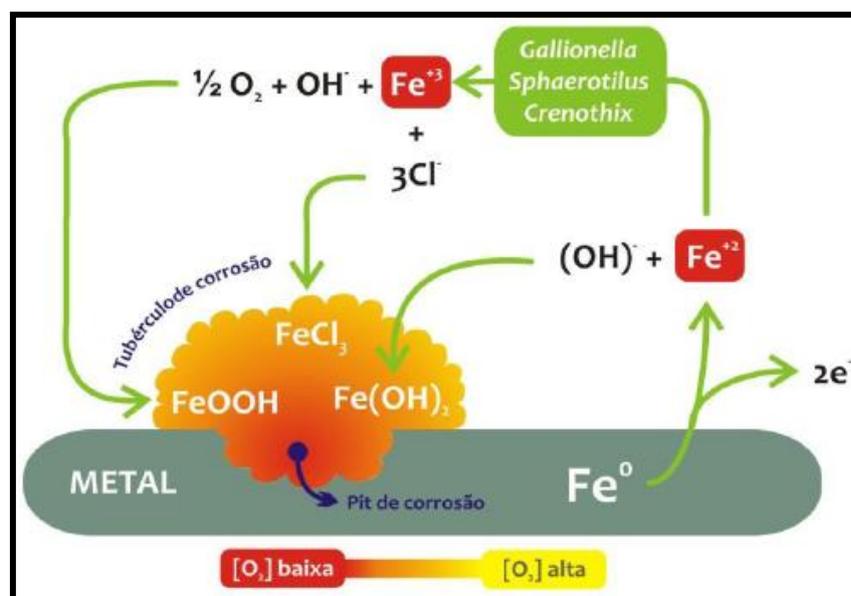


Figura 3.7 – Esquema dos processos eletroquímicos e biológicos envolvendo as bactérias oxidantes do ferro.

(Fonte: MARANGONI, 2010).

As ferrobactérias são encontradas em águas de poços subterrâneos, água doce, água do mar, no solo e em poços de petróleo. Estas bactérias crescem a uma temperatura entre 0-40 °C, como faixa ótima entre 6-25 °C. O pH ótimo para seu desenvolvimento é 6,5 podendo variar entre 5,5 a 8,2 (GENTIL, 2011).

As bactérias oxidantes do manganês oxidam o íon manganoso a íon mangânico com deposição de dióxido de manganês (MnO₂). A espécie *Leptothrix discophora* tem sido encontrada em depósitos ricos em manganês formando revestimentos na superfície de aços inoxidáveis (VIDELA, 2003; DICKINSON *et al.*, 1997). Estes depósitos de dióxido de manganês criam uma zona anaeróbia, que depois pode ser colonizada pelas bactérias redutoras de sulfato (ASHASSI-SORKHABI *et al.*, 2012).

3.6.5 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE EXOPOLÍMEROS

Os polímeros são produzidos pelos micro-organismos após sua adesão nas superfícies metálicas formando uma matriz gel que dá estrutura aos biofilmes. Estes exopolímeros agem na interface metal/solução imobilizando água, aprisionando produtos de corrosão e metais (manganês, cobre, cromo e ferro), como também diminuem a difusão dentro do biofilme (LITTLE *et al.*, 1992).

Alguns micro-organismos que causam corrosão já são conhecidos por produzir exopolímeros nos substratos tais como *Clostridium spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Bacillus spp.*, *Desulfovibrio spp.*, *Desulfotomaculum spp.* e *Pseudomonas spp.* (BEECH e GAYLARD, 1999).

Entre os micro-organismos citados acima as *Pseudomonas sp.* merecem destaque por terem sido investigadas nesta pesquisa.

3.6.5.1 PSEUDOMONAS

Pseudomonas sp. são colonizadoras pioneiras da superfície metálica, consomem o oxigênio do ambiente tornando-o propício para bactérias anaeróbias como as BRS (IVERSON, 1987). Este grupo de bactérias juntamente com *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Aerobacter* e *Bacillus* excretam EPS que formam agregados bacterianos através da formação de biofilmes nos substratos (BORENSTEIN, 1994).

Este gênero tem sido associado à corrosão na indústria de petróleo através da excreção de seus metabólitos ácidos e a redução do íon férrico. Esses compostos atuam rompendo a barreira passivadora de alguns metais aumentando a taxa de corrosão dos mesmos (PEDERSEN *et al.*, 1988). Yuan e colaboradores (2007) relataram a influência da produção de EPS por cepas marinhas de *Pseudomonas* retardando ou comprometendo a proteção natural da película de óxido em ligas de cobre-níquel.

Pseudomonas sp. crescem em pH neutro ou ligeiramente alcalino, a partir da oxidação de compostos orgânicos. Estas bactérias são comuns no solo, plantas e em diversos ambientes naturais (TORTORA *et al.*, 2000).

3.6.6 FUNGOS

Os fungos são organismos eucarióticos formados por estruturas imóveis denominadas micélios. São freqüentes nos solos, mas também podem ser encontrados em ambientes aquáticos (LANE, 2005). Este grupo microbiano normalmente cresce melhor em locais onde o pH é 5,0 (TORTORA *et al.*, 2000). Os fungos podem produzir ácidos orgânicos que favorecem o processo corrosivo em metais de cobre, zinco e ferro (BEECH e GAYLARDE, 1999). Os ácidos acético, cítrico e fórmico são os metabólitos fúngicos mais frequentemente produzidos afetando diversos materiais além dos metais. Os compostos ácidos gerados pelas espécies de *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.* e *Hormoconis sp.* causam a corrosão por pites e a corrosão sob tensão fraturante em aços revestidos utilizados em estruturas de edifícios (LITTLE e STAEHLE, 2001).

Existem fungos que apresentam habilidades para acumular e solubilizar metais causando danos em estruturas metálicas. *Penicillium* pode solubilizar compostos como érbio, cobalto, cobre, zinco, cádmio, alumínio e estanho ocasionando a corrosão por pites (SIEGEL *et al.*, 1983). Colônias de *Penicillium italicum* acumulam o ferro das lâminas de aço inoxidável, incluindo outras ligas resistentes à corrosão (CLARK *et al.*, 1984).

3.6.7 ALGAS

As algas são organismos eucariotos fotossintéticos que em contato com a luz produzem oxigênio e carboidratos. Além disso, apresenta a capacidade de fixar o

CO₂ que posteriormente podem ser utilizados pelos micro-organismos quimioheterotróficos como fonte de energia. São abundantes em água doce ou salgada, no solo e em associações com plantas (TORTORA *et al.*, 2000).

As algas crescem a 18-40 °C, com pH entre 5,5 a 9,0 sendo frequentemente encontradas em águas de piscinas, águas do mar, água doce e torres de resfriamento (GENTIL, 2011).

Há relatos na literatura que estes organismos causam corrosão por aeração diferencial através do consumo de oxigênio do ambiente favorecendo a proliferação de bactérias anaeróbias ou produzindo oxigênio permitindo a co-existência entre micróbios aeróbios e anaeróbios. As algas produzem ácidos orgânicos, que em contato com estruturas de concreto causam deterioração, facilitando o ataque por bactérias oxidantes do enxofre e redutoras de sulfato aos aços presentes no concreto (JAVAHERDASHTI *et al.*, 2009).

Diatomáceas em associação com bactérias promovem a formação de biofilmes na superfície de aço inoxidável quando expostos a ambientes aquosos. De acordo com seu metabolismo, estas algas podem ter uma ação direta (atividade fotossintética e produção de espécies reativas de oxigênio afetando a interface metal/biofilme) ou indireta (produção de metabólitos para as bactérias) influenciando na biocorrosão do aço inoxidável. A Figura 3.8 a seguir descreve as vias metabólicas utilizadas pelas diatomáceas em: (a) via de ação direta, (b) produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e (c) via de ação indireta (LANDOULSI *et al.*, 2011).

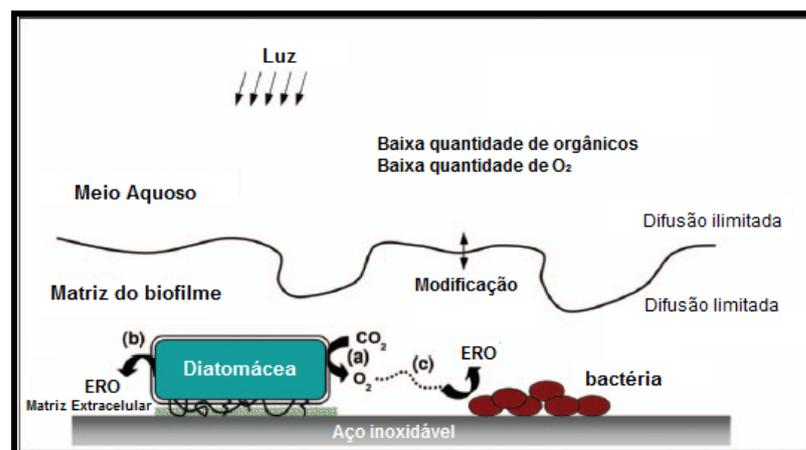


Figura 3.8 – Vias metabólicas propostas para explicar o envolvimento de diatomáceas no comportamento eletroquímico do aço inoxidável.

(Fonte: Extraído e adaptado LANDOULSI *et al.*, 2011).

3.6.8 MECANISMOS GERAIS DA BIOCORROSÃO

Os micro-organismos podem induzir a corrosão através de quatro mecanismos que serão descritos a seguir:

- **Criação de pilhas de aeração diferencial**

As pilhas de aeração diferencial são resultantes da diferença de concentração do oxigênio em regiões adjacentes no metal. É um mecanismo que depende da formação do biofilme. Os micro-organismos após serem aderidos no substrato consomem o oxigênio do local, e iniciam a excreção de seus metabólitos formando o biofilme. Na base do biofilme a concentração de oxigênio é baixa (baixo potencial), neste local então se estabelece a região anódica da pilha. Entretanto, na superfície do biofilme a concentração de oxigênio é alta (alto potencial), sendo assim a região catódica da pilha. Esta diferença de potencial gera fluxo de elétrons do anodo para o catodo (LEWANDOWSKI e BOLTZ, 2011).

- **Corrosão por ação conjunta de bactérias**

O produto gerado pela ação de um grupo de bactérias pode ser utilizado por outras espécies podendo acelerar ainda mais a corrosão nos metais. As BRS reduzem o sulfato a H_2S ou sulfeto. A espécie *Acidithiobacillus thiooxidans* oxida o H_2S a ácido sulfúrico, e a bactéria *Acidithiobacilli* oxida o sulfeto a enxofre elementar (GENTIL, 2011).

A deposição de óxidos de ferro nas tubulações pelas bactérias precipitantes do ferro estabelece uma região anaeróbica abaixo destes precipitados, que posteriormente são colonizadas pelas bactérias redutoras de sulfato que ocasionam a corrosão por pites neste local (GENTIL, 2011).

- **Despolarização catódica**

Bactérias anaeróbicas como as redutoras de nitrato (*Micrococcus denitrificans*), redutoras de CO_2 (*Methanobacterium omeliansky*) e redutoras de sulfato (*Desulfovibrio desulfuricans*) possuem a capacidade de utilizar o hidrogênio livre da

região catódica no seu metabolismo. Diversos pesquisadores afirmam que não só ocorre a despolarização, mas pode haver interação com produtos corrosivos (enxofre, ácidos), formação de precipitados (FeS) e até formação de pilhas de aeração diferencial (GENTIL, 2011).

- **Produção de substâncias corrosivas**

Alguns micro-organismos excretam ácidos orgânicos ou inorgânicos que aceleram a corrosão nos metais. Modificam a interface metal/biofilme, afetando o filme protetor de alguns substratos metálicos (LITTLE e LEE, 2007). Segundo Gentil (2011) as bactérias pertencentes ao gênero *Acidithiobacillus* liberam ácido sulfúrico após metabolizarem o enxofre. A bactéria *Butyribacterium rettgeri* oxida a celulose presente em algumas tubulações enterradas, revestidas por celulose, e produzem ácido acético, butírico e CO₂ que favorecem o ataque corrosivo ao metal (GENTIL, 2011).

3.7 PREVENÇÃO E CONTROLE DA BIOCORROSÃO

O entendimento das condições de operação, dos parâmetros biológicos e abióticos dos sistemas é fundamental para prevenir a biocorrosão e controlar a formação do *biofouling* (depósitos biológicos). Estes parâmetros devem ser monitorados diariamente por dispositivos estratégicos evitando gastos maiores em caso de fraturas por corrosão. O tipo de tratamento que cada sistema ou equipamento recebe está de acordo com a geometria e tipo de material, como também de acordo com a finalidade de uso da água no sistema (VIDELA, 2002).

Os setores que estão diretamente em contato com a água como tubulações, sistemas de distribuição de água, filtração, processos de refrigeração, instalações e usinas hidrelétricas tem seu desempenho afetado negativamente pela formação de depósitos. O controle efetivo desta formação ocasiona a redução dos custos operacionais e da energia gasta no processo (DROR-EHRE *et al.*, 2010; BOTT, 2011). Nas usinas geradoras de energia elétrica são utilizados biocidas, biodispersantes e produtos anticorrosivos nos sistemas de resfriamento com o intuito de controlar a formação de biofilmes sobre os equipamentos (MATTÊA *et al.*, 2002).

O uso de biocidas, limpeza mecânica das estruturas, revestimentos e proteção catódica são métodos comuns utilizados para o tratamento ou prevenção do *biofouling* (VIDELA, 2002). Entretanto, existem outros meios de controle que podem ser usados em associação com os métodos anteriores, de acordo com o sistema industrial, sendo assim também podem ser utilizados (BOTT, 2011):

- Biodispersantes em associação com biocidas;
- Esterilização de líquidos por luz ultravioleta e raios gama;
- Bolas esponjosas em sistemas de águas de resfriamento;
- Utilização de escova e sistema de gaiolas em tubulações;
- Injeção de ar ou gás em tubulações;
- Uso de inserções na indústria de petróleo e em trocadores de calor;
- Tubos flexíveis de plásticos que impedem a fixação de depósitos;
- Plugs de gelo em dutos;
- Uso de ultra-som e fibras poliméricas em trocadores de calor (BOTT, 2001);
- Pré-tratamento da água com nanopartículas cobertas por prata (DROR-EHRE *et al.*, 2010), entre outros.

3.8 ANÁLISES DAS SUPERFÍCIES DOS CORPOS-DE-PROVA

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma das técnicas utilizadas para a avaliação qualitativa dos biofilmes presentes nos metais. A microscopia fornece informações sobre a morfologia de células microbianas e colônias, a distribuição microbiana das colônias na superfície, a presença de EPS e a natureza de produtos de corrosão (cristalina ou amorfa). Também revela o tipo de ataque e as alterações da microestrutura do metal após a remoção do biofilme (BEECH, 2004).

Difração de Raio X (DRX)

Os compostos microbiológicos e depósitos de produtos de corrosão nas superfícies metálicas podem ser analisados e determinados quimicamente por difração de raio X. A partir destas análises percebe-se as reações eletroquímicas

envolvidas no biofilme que influenciam na deterioração do metal. As análises por DRX são amplamente utilizadas para se obter informações elementares sobre os produtos de corrosão presentes nos substratos metálicos. Entretanto, o DRX tem uma aplicação limitada em estudos de biocorrosão, uma vez que não possui alta resolução para detectar ataque localizado (BEECH, 2004).

A composição e estrutura dos depósitos de corrosão formados em tubulações de ferro e aço em sistemas de distribuição de água dependem de fatores que apresentam características únicas de cada local. Parâmetros da qualidade da água como o valor de pH, alcalinidade, efeito tampão, concentração de matéria orgânica natural influenciam na formação destas camadas. Outros fatores como o fluxo da água, flutuações sazonais de temperatura, atividade microbiológica, uso de inibidores de corrosão podem influenciar a formação e o crescimento destes depósitos (SARIN *et al.*, 2004).

Taxa de Corrosão

A taxa de corrosão do metal é verificada após a análise da perda de massa do cupom através da subtração do peso final do corpo-de-prova (pós remoção do biofilme) subtraindo-se o peso inicial (antes do ensaio) (GENTIL, 2011). Inicialmente os valores de taxa de corrosão são altos havendo redução nos tempos seguintes, devido à formação de depósitos que favorecem o aumento da resistência à reação de corrosão (SARIN *et al.*, 2004).

É importante o monitoramento sistemático da taxa de corrosão nas centrais hidrelétricas, tendo em vista, as características químicas dos produtos injetados na água de resfriamento e da atividade metabólica de micro-organismos nos processos corrosivos em equipamentos (MATTÊA *et al.*, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CORPOS-DE-PROVA

No ensaio foram utilizados cupons metálicos de aço carbono SAE (*Society of Automotive Engineers*) 1010 nas dimensões 30x25x3 mm, com área de 18,1371 cm². Para as análises por MEV as dimensões dos cupons foram 30x10x3 mm, com área de 8,4 cm² (Figura 4.1). A composição química percentual do aço carbono foi de: 0,430 Mn; 0,010 Si; 0,016 P; 0,008 S; 0,010 Cr; 0,060 Al; 0,010 Cu; 0,001 V; 0,100 C e remanescente de Fe.

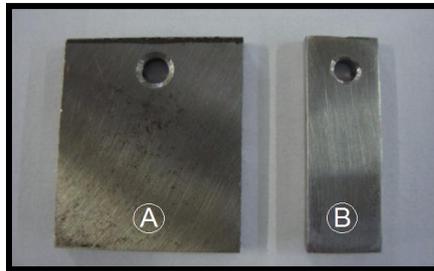


Figura 4.1 – Cupons metálicos nas dimensões (A) 30x25x3 mm e (B) 30x10x3 mm. (Fonte: Autora).

Os cupons de aço carbono foram tratados antes de serem colocados dentro dos sistemas, através de jateamento com microesferas de vidro para remover impurezas e incrustações (Figura 4.2). Depois foram lavados com álcool isopropílico para desengordurar a superfície, e posteriormente banhados em acetona para remoção da matéria orgânica. Em seguida, os cupons foram secos com jatos de ar seco por 1 minuto e levados a dessecador por 20 minutos. Após esse período, os cupons metálicos foram pesados em balança analítica e colocados nos biorreatores (DANTAS, 1988).



Figura 4.2 - Cupons metálicos após tratamento por jateamento. (Fonte: Autora).

Os cupons foram expostos ao fluido de processo (água doce) por 90 dias havendo a adição de solução nutriente (item 4.4.10) a cada 15 dias para a manutenção da viabilidade dos micro-organismos presentes na água doce (CHAVES, 2004).

4.2 FLUIDO DO PROCESSO

Para os experimentos foi coletada uma amostra com 50 L de água doce em bombonas de plástico, na Unidade Geradora de Energia Elétrica de Paulo Afonso II em Paulo Afonso – BA. A amostra de água foi captada no leito do rio São Francisco que abastece a hidrelétrica de Paulo Afonso II. O traslado desta amostra foi de 6 horas, sendo analisada imediatamente após sua chegada ao laboratório. A presença de contaminantes (micro-organismos, partículas em suspensão, material orgânico, entre outros) neste fluido favorece a formação de depósitos em equipamentos que estão em contato direto com esta água. Estes acúmulos de depósitos causam entupimentos, além de dificultar a troca térmica em trocadores de calor e radiadores nas hidrelétricas. Daí a importância de analisá-la microbiologicamente e físico-quimicamente em períodos pré-estabelecidos.

Após a captação da água foram realizadas as análises microbiológicas e físico-químicas, sendo posteriormente depositadas nos biorreatores analisados.

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Centro de Tecnologias e Geociências e no Laboratório de Análises de Minerais de Solos e Águas (LAMSA) do Departamento de Engenharia Química, ambos situados na Universidade Federal de Pernambuco. Os parâmetros físico-químicos analisados foram: pH, Condutividade, Dureza Total, Cálcio, Magnésio, Alcalinidade de Carbonatos (CaCO_3 e CO_3), Alcalinidade de Bicarbonatos (CaCO_3 e HCO_3), Alcalinidade de Hidróxidos (CaCO_3), Cloretos, Sulfatos, Nitritos, Nitratos, Ferro Total, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio num período de 5 dias (DBO_5), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Fixos (SSF), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF) e Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV), de acordo com o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005).

4.3 BIORREADORES

Os dois biorreatores (sistemas estáticos abertos) utilizados foram construídos em vidro apresentando as seguintes dimensões (Figura 4.3):

- ✓ Biorreator 1 – 50cm x 25cm x 30cm (volume útil de 34 L);
- ✓ Biorreator 2 - 29,3cm x 16,5cm x 30cm (volume útil de 11,4 L).

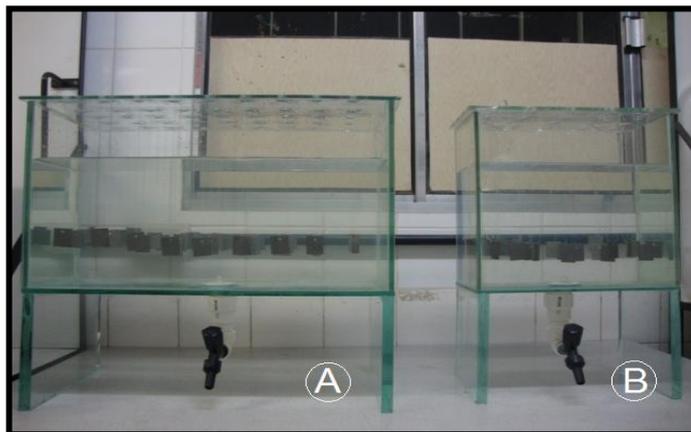


Figura 4.3 - (A) Biorreator 1 e (B) Biorreator 2.

(Fonte: Autora).

No biorreator 1 (sistema teste) os cupons metálicos foram expostos à água doce “*in natura*”. No biorreator 2 (sistema controle) os cupons metálicos foram expostos à água doce esterilizada em autoclave, em seguida foi adicionado 0,75% de azida sódica com o intuito de garantir a ausência de micro-organismos que influenciam na corrosão do aço carbono SAE 1010 (TORRES, 2005). Os cupons foram aprisionados por fios de nylon e posicionados na mesma altura dentro dos biorreatores.

4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas durante 90 dias com quantificação dos micro-organismos sésseis a cada 15 dias. A cada análise foram retirados quatro cupons do biorreator. Dois cupons foram colocados em recipiente contendo 30 mL de água destilada estéril para análise dos micro-organismos aeróbios, e os outros dois cupons colocados em recipiente contendo 30 mL de solução redutora para análise dos micro-organismos anaeróbios (Figura 4.4). Em seguida, os recipientes para a quantificação celular foram submetidos a ultra-som

por 15 segundos, para garantir a remoção e dispersão dos micro-organismos sésseis. Posteriormente, os cupons foram raspados com espátula estéril, nas soluções apropriadas (Figura 4.5).

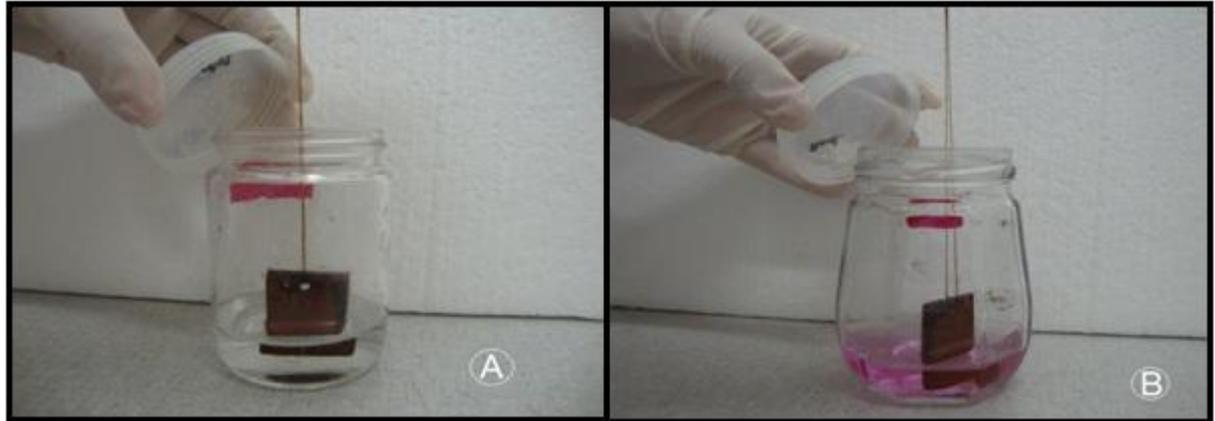


Figura 4.4 – Recipientes para quantificação de micro-organismos sésseis. (A) Micro-organismos aeróbios e (B) Micro-organismos anaeróbios.

(Fonte: Autora).

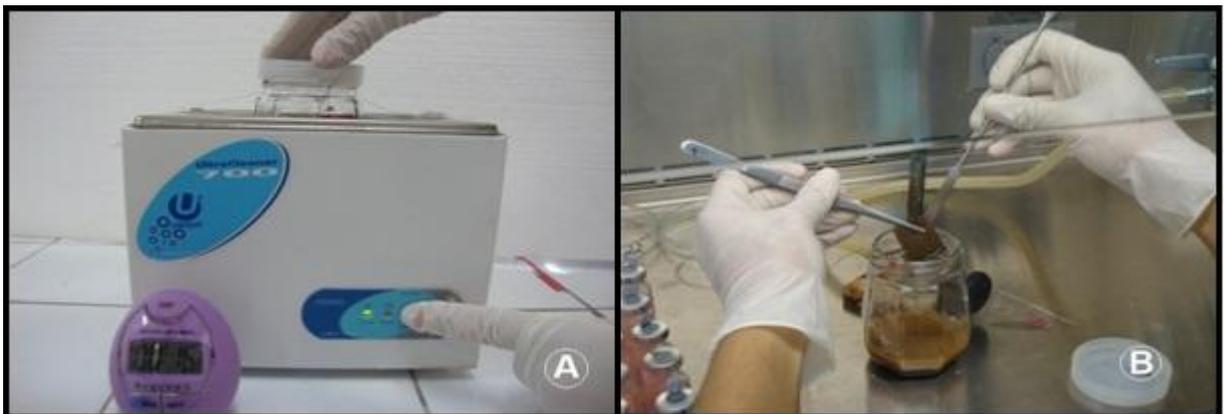


Figura 4.5 – Etapas do preparo da amostra. (A) Recipiente submetido a ultra-som por 15 s e (B) Raspagem do cupom com espátula estéril.

(Fonte: Autora).

Através da Técnica de Número Mais Provável (NMP) (*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 2005) foram quantificados os seguintes grupos de micro-organismos: bactérias aeróbias e anaeróbias - heterotróficas totais e produtoras de ácidos, bactérias precipitantes do ferro, bactérias redutoras de sulfato. Todos estes grupos foram incubados a 30 ± 1 °C variando apenas o período de 48 horas para as bactérias aeróbias (heterotróficas totais e produtoras de ácidos), de 14 dias para as bactérias precipitantes do ferro e 28 dias para as bactérias anaeróbias (heterotróficas totais, produtoras de ácidos e redutoras de sulfato)

(SILVA *et al.*, 2005; CETESB, 1992; TORRES, 2005). Para os micro-organismos aeróbios foram utilizadas diluições seriadas contendo 10 tubos de ensaio, em triplicata. Para os micro-organismos anaeróbios foram utilizadas diluições seriadas contendo 7 frascos de penicilina, em triplicata (Figura 4.6 A). Cada tubo de ensaio e frasco de penicilina contendo 9 mL de meio de cultura e 1 mL de inóculo. A Figura 4.6 B a seguir mostra a inoculação no meio caldo vermelho de fenol para quantificação de bactérias produtoras de ácidos aeróbias.

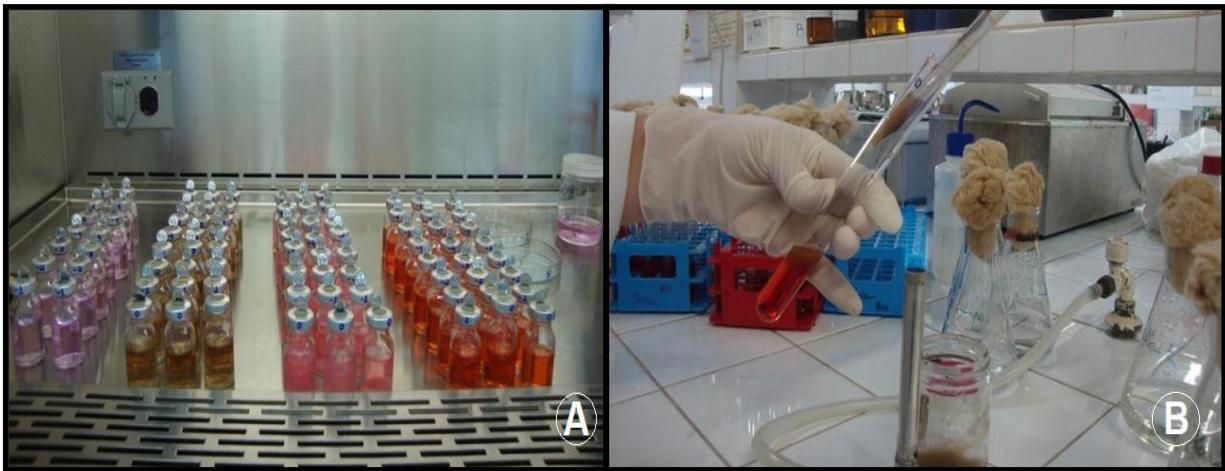


Figura 4.6 – (A) Série de diluição dos meios anaeróbios e (B) Inoculação no meio caldo vermelho de fenol.

(Fonte: Autora).

Pseudomonas sp. e os fungos filamentosos foram quantificados pela Técnica Unidade Formadora de Colônia (UFC) usando a técnica “*pour-plate*” (TORTORA *et al.*, 2000). Foi utilizada uma série de diluição contendo 5 placas de Petri, em triplicata. Cada placa contendo 12 mL de meio de cultura e 1 mL de inóculo. *Pseudomonas sp.* foram incubadas a 35 ± 1 °C por 48 horas e os fungos filamentosos foram incubados a 30 ± 1 °C por 5-7 dias (SILVA *et al.*, 2005).

Os meios de culturas utilizados para quantificar os micro-organismos citados anteriormente e as soluções nutrientes estão descritos a seguir.

4.4.1 BACTÉRIAS AERÓBIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS - CALDO NUTRIENTE

O meio caldo nutriente foi preparado de acordo com a Tabela 4.1. Após o preparo do meio foi ajustado o pH para 7,0 e autoclavado à 1 atm, 121 °C por 20 minutos (SILVA *et al.*, 2005).

Tabela 4.1 – Composição do meio caldo nutriente.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Peptona de carne	5 g
Extrato de carne	3 g
Sacarose	20 g
Água destilada	1000 mL

A turvação do meio após a incubação é causada pela presença de células e metabólitos indicando que houve crescimento microbiano, de acordo com a Figura 4.7 a seguir.

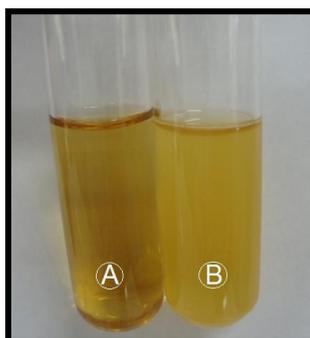


Figura 4.7 – Caldo nutriente. (A) Meio sem inóculo e (B) Meio turvo devido o crescimento de bactérias aeróbias heterotróficas totais.

(Fonte: Autora).

4.4.2 *Pseudomonas sp.* SÉSSEIS - PSEUDOMONAS ISOLATION AGAR

A Tabela 4.2 descreve a composição do meio *Pseudomonas* isolation agar. Após o preparo do meio foram esterilizados em autoclave a 1 atm, 121 °C por 15 minutos.

Tabela 4.2 – Composição do meio *Pseudomonas* Isolation Agar.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Meio de isolamento <i>Pseudomonas</i>	45 g
Glicerol	20 mL
Água destilada	1000 mL

A presença de *Pseudomonas sp.* se dá pelo crescimento através da formação de colônias circulares, creme com brilho, conforme mostra a Figura 4.8.

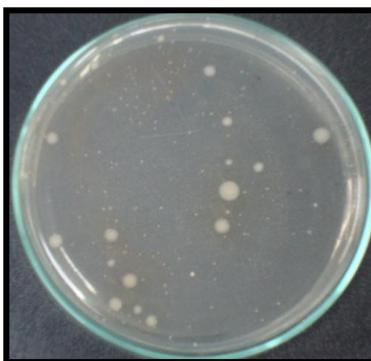


Figura 4.8 – Colônias de *Pseudomonas sp.*

(Fonte: Autora).

4.4.3 BACTÉRIAS PRECIPITANTES DO FERRO - CITRATO FÉRRICO AMONIACAL

O meio citrato férrico amoniacal foi preparado de acordo com a Tabela 4.3 abaixo. O pH foi ajustado para $6,6 \pm 2$, em seguida, autoclavado a 1atm, 121°C, por 20 minutos.

Tabela 4.3 – Composição do meio citrato férrico amoniacal.

COMPONENTES	QUANTIDADE
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g
CaCl ₂ . 6 H ₂ O	0,2 g
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,5 g
NaNO ₃	0,5 g
Citrato Férrico Amoniacal	10 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
Água destilada	1000 mL

Estas bactérias foram incubadas em ausência de luz. A formação de óxidos de ferro de coloração ferruginosa caracteriza o crescimento microbiano (Figura 4.9) (CETESB, 1992).

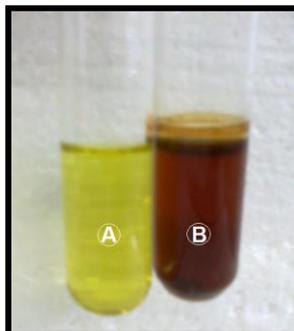


Figura 4.9 – Meio citrato férrico amoniacal. (A) Meio sem inóculo e (B) Meio apresentando precipitado de óxido de ferro indicando crescimento das bactérias precipitantes do ferro.

(Fonte: Autora).

4.4.4 BACTÉRIAS AERÓBIAS PRODUTORAS DE ÁCIDOS - CALDO VERMELHO DE FENOL

A composição do caldo vermelho de fenol está descrito na Tabela 4.4. Após o preparo do meio o pH foi ajustado para 7,2 e esterilizado em autoclave a 1 atm, 121 °C, por 20 minutos. A mudança de coloração do meio de vermelho para amarelo caracteriza a produção de ácidos pelas bactérias indicando crescimento das mesmas (TORRES, 2005).

Tabela 4.4 – Composição do caldo vermelho de fenol.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Sacarose	10 g
Triptona	10 g
Extrato de carne bovina	1 g
Vermelho de fenol	0,018 g
Água destilada	1000 mL

4.4.5 SOLUÇÃO REDUTORA

A solução redutora foi preparada de acordo com a Tabela 4.5, em seguida, o pH foi ajustado para 7,6. O meio foi purgado com nitrogênio por 20 minutos, posteriormente foi distribuído 9 mL da solução em frascos de penicilina (capacidade de 10 mL) tampados com borracha e lacrados com lacre de alumínio. Foram esterilizados em autoclave a 1 atm, 121 °C, por 20 minutos. Nesta solução foram

preparadas as respectivas diluições para inocular nos meios anaeróbios (Figura 4.10).

Tabela 4.5 – Composição da solução redutora.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Tioglicolato de sódio	0,124 g
Ácido ascórbico	0,1 g
Solução de resazurina de 0,025%	4 mL
Água destilada	1000 mL

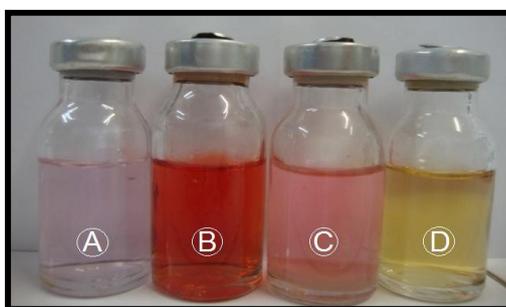


Figura 4.10 – (A) Solução redutora; Meios de cultura para micro-organismos anaeróbios - (B) Caldo vermelho de fenol, (C) Meio Postgate E modificado e (D) Meio fluido tioglicolato.

(Fonte: Autora).

4.4.6 BACTÉRIAS ANAERÓBIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS - MEIO FLUIDO TIOGLICOLATO

A composição do meio fluido tioglicolato está na Tabela 4.6. O meio foi purgado com nitrogênio por 20 minutos para expulsar todo o oxigênio livre presente, em seguida foi colocado 9 mL do meio em frascos de penicilina vedados com tampa de borracha e lacre. Posteriormente foi esterilizado em autoclave a 1 atm, 121 °C, por 20 minutos.

Tabela 4.6 – Composição do meio fluido tioglicolato.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Meio fluido tioglicolato	30 g
Água destilada	1000 mL

O crescimento celular microbiano e a excreção de metabólitos evidenciados pela turvação do meio conforme a Figura 4.11.



Figura 4.11 – Meio fluido tioglicolato. (A) Meio sem inóculo; (B) Meio turvo indicando crescimento das bactérias heterotróficas anaeróbias totais; (C) Inoculação no meio com seringas descartáveis.

(Fonte: Autora).

4.4.7 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO - MEIO POSTGATE E MODIFICADO

O meio Postgate E modificado está descrito na Tabela 4.7 (POSTGATE, 1984). Este meio foi preparado da mesma forma que o meio fluido tioglicolato, devido a necessidade de se estabelecer um ambiente anaeróbio para o crescimento das BRS. Após o preparo, o pH foi ajustado para 7,6, em seguida, autoclavados à 1 atm, 121 °C, por 20 minutos.

Tabela 4.7 – Composição do meio Postgate E modificado.

COMPONENTES	QUANTIDADE
KH ₂ PO ₄	0,5 g
NH ₄ Cl	1 g
Na ₂ SO ₄	1 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,67 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,68 g
Lactato de sódio	7 mL
Extrato de lêvedo	1 g
Ácido ascórbico	0,1 g
Ágar-agar	1,9 g
Solução de resazurina a 0,025%	4 mL
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
Água destilada	1000 mL

Após o período de incubação, o escurecimento do meio confirma o crescimento das BRS. A coloração negra é consequência da formação de depósitos de sulfeto de ferro.

4.4.8 BACTÉRIAS ANAERÓBIAS PRODUTORAS DE ÁCIDOS - CALDO VERMELHO DE FENOL

A composição do meio caldo vermelho de fenol apresentado na Tabela 4.4 foi igualmente utilizada para as bactérias anaeróbias produtoras de ácidos, tendo como adicional a purga de nitrogênio por 20 minutos. Após a incubação, a produção de ácidos pelas bactérias modifica a coloração do meio de vermelho para amarelo como apresentado na Figura 4.12 abaixo.



Figura 4.12 – Caldo vermelho de fenol. (A) Meio sem inóculo e (B) Meio amarelo devido a produção de ácidos pelas bactérias.

(Fonte: Autora).

4.4.9 FUNGOS FILAMENTOSOS - MEIO SABOURAUD

A Tabela 4.8 mostra a quantidade do meio Sabouraud. Após o preparo foi aferido o pH entre 4,0-5,0, em seguida autoclavado a 1 atm, 121 °C, por 20 minutos.

Tabela 4.8 – Composição do meio Sabourand.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Meio Sabouraud	65 g
Água destilada	1000 mL

A presença dos fungos filamentosos se dá pela formação de colônias brancas ou pretas, algodinosas com bordas lisas como mostrado na Figura 4.13.



Figura 4.13 – Colônias de fungos.

(Fonte: Autora).

4.4.10 SOLUÇÃO STOCK DE NUTRIENTES

A cada 14 dias, o sistema teste foi suplementado com uma solução nutriente rica em carbono, azoto e fósforo, de modo que as células microbianas permanecessem viáveis. Foram preparados 100 mL das soluções stock, no qual foi ajustado o pH para 7,0 com NaOH 1M, em seguida esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Posteriormente foram adicionados a partir deste preparo 2,9 mL de solução stock de carbono com concentração de 104 g C/L e 4 mL de solução stock de azoto e fósforo com concentração de 15 g N/L e 1,48 g P/L para 26,25 L de água doce presente no biorreator teste. As composições químicas das soluções stock de nutrientes estão detalhadas nas Tabelas 4.9 e 4.10 (CHAVES, 2004).

Tabela 4.9 – Composição química da solução stock de carbono.

SOLUÇÃO STOCK DE CARBONO	
COMPONENTES	QUANTIDADE
$C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$	176,20 g
C_2H_5OH	35,80 g
C_3H_6O 98%	30,10 g
$C_3H_6O_2$	72,90 g
Água destilada	1000 mL

Fonte: CHAVES, 2004.

Tabela 4.10 – Composição química da solução stock de azoto e fósforo.

SOLUÇÃO STOCK DE AZOTO E FÓSFORO	
COMPONENTES	QUANTIDADE
KNO_3	108,30 g
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	8,53 g
Água destilada	1000 mL

Fonte: CHAVES, 2004.

4.4.11 SOLUÇÃO TAMPÃO CACODILATO DE SÓDIO

Esta solução foi preparada segundo Mota (2009) a uma concentração de 0,1 M e pH 7,6, sendo utilizada como tampão, auxiliando no preparo da solução de glutaraldeído. A Tabela 4.11 descreve a composição desta solução.

Tabela 4.11 – Composição do tampão cacodilato de sódio.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Cacodilato de sódio PA	15,998 g
Água destilada	1000 mL

4.4.12 SOLUÇÃO DE GLUTARALDEÍDO

A solução de glutaraldeído foi preparada a 5% com adição de solução tampão cacodilato de sódio 0,1 M como apresentado na Tabela 4.12, guardada em geladeira ao abrigo da luz até a sua utilização. Esta solução atua como fixador do material biológico na superfície dos cupons permitindo a visualização dos espécimes microbianos em microscópio eletrônico de varredura (MOTA, 2009).

Tabela 4.12 – Composição da solução de glutaraldeído.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Glutaraldeído 25%	200 mL
Cacodilato de sódio 0,1 M	800 mL

4.5 PERDA DE MASSA E TAXA DE CORROSÃO

Para o cálculo da perda de massa os cupons foram pesados antes de serem colocados dentro dos biorreatores e após a retirada do biofilme para análise microbiológica. Após a raspagem dos cupons com espátula estéril, os mesmos foram tratados por decapagem ácida. Os corpos-de-prova foram imersos em ácido clorídrico 26% inibido com tiouréia por 5 segundos, lavados em água corrente, neutralizados com NaOH a 10% (p/v) durante 5 segundos e, novamente lavados em água corrente. Em seguida, imersos em álcool isopropílico e acetona por 5 segundos cada. Os cupons metálicos foram secos por jatos de ar seco por 1 minuto

e deixados em dessecador por 20 minutos até atingirem peso constante. Após os 20 minutos, foi efetuada a pesagem final (DANTAS, 1988).

A taxa de corrosão foi avaliada a partir do cálculo da perda de massa efetuada após a decapagem dos cupons metálicos, segundo as equações abaixo:

$$\text{Perda de massa (mm)} = \frac{\text{perda de massa em (g/cm}^2\text{)} \times 10}{d \text{ (g/cm}^3\text{)}} \quad (4)$$

$$\text{Taxa corrosão uniforme (mm/ano)} = \frac{\text{mm} \times 365}{t} \quad (5)$$

d = densidade do aço carbono (7,86 g/cm³);

t = tempo do experimento;

Para avaliar a perda de massa dos cupons de aço carbono foi adotada a Norma NACE-RP-07-75 (1999) que estabelece os níveis de corrosividade para o aço carbono:

Tabela 4.13 – Classificação da corrosividade.

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

(Fonte: Norma NACE-RP-07-75, 1999).

4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES

Os cupons de aço carbono foram recepcionados em frascos contendo 15 mL de solução de NaCl a 0,85%, em seguida, levados a ultra-som por 15 segundos. Foi efetuada a raspagem do biofilme com espátula estéril, sendo posteriormente centrifugados a 10.000 rpm (7825 g) por 10 minutos. Após a centrifugação foi filtrado em membranas Millipore (0,2 µm) com o intuito de separar a massa sólida da solução. Foram retiradas alíquotas de 1 mL para análise de carboidratos e de 0,2 mL para análise de proteínas (CHONGDAR *et al.*, 2005). Estas análises bioquímicas foram realizadas a cada 30 dias.

4.6.1 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS

Foram retiradas amostras de 1 mL em triplicata para quantificação dos exopolissacarídeos. Adicionado 1 mL de fenol a 5% com homogeneização em vórtex. Posteriormente foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado nos tubos, colocados em banho de gelo. As amostras foram retiradas do banho de gelo e deixadas a temperatura ambiente por 10 minutos. Foram efetuadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro UV/visível com comprimento de onda em 490 nm. Os resultados foram comparados a uma curva padrão de glicose com concentração entre 0 µg/mL e 100 µg/mL (DUBOIS *et al.*, 1956; CHONGDAR *et al.*, 2005).

4.6.2. ANÁLISE DE PROTEÍNAS

Foram retiradas amostras de 0,2 mL em triplicata para quantificação das proteínas. Adicionado 1 mL de uma solução contendo: 10 mL de solução Na₂CO₃ a 2% em NaOH 0,1 N, 0,1 mL de CuSO₄ a 1% e 0,1 mL de tartarato de sódio e potássio a 2%. As amostras foram homogeneizadas em vórtex e deixadas em repouso por 10 minutos. Após os 10 minutos foram adicionadas 0,1 mL de reagente Folin-Ciocalteu (Merck) diluído 1 N, posteriormente deixados em repouso por 30 minutos. As leituras das absorvâncias foram efetuadas em espectrofotômetro UV/Visível com comprimento de onda em 750 nm. Os resultados foram comparados a uma curva padrão de albumina sérica bovina com concentração entre 0 e 300 µg/mL (LOWRY *et al.*, 1951; MARTELLI e PANEK, 1968).

4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Após 30 dias de exposição à água doce, os cupons foram retirados do sistema teste. Em seguida, foram imersos em recipiente contendo solução de glutaraldeído 5% em tampão cacodilato de sódio à temperatura ambiente, durante 24 horas em ausência de luz. Após este período, foram efetuadas lavagem dos cupons em cacodilato de sódio 0,1M por 30 minutos. Em seguida, foram submetidos à desidratação em acetona nas concentrações entre 30 e 100% (v/v), deixados em

dessecador por no mínimo 3 dias. As amostras foram metalizadas com ouro, em seguida analisados por MEV (PENNA, 2002; MOTA, 2009).

As imagens foram analisadas no microscópio JEOL JSM – 5900, a 10 kV com ampliações de 2.700x, 5.500x, 14.000x e 15.000x, no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Caracterização de Materiais do DLCM – Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco.

4.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A cada 30 dias de exposição ao fluido de processo os cupons foram removidos do biorreator, deixados em dessecador por 5 dias, antes de serem analisados em difratômetro (Rigaku). O difratômetro operou a 40 kv/20 mA) usando uma fonte de Cu. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Materiais do Instituto Tecnológico de Pernambuco – ITEP.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES DA ÁGUA DOCE

A qualidade da água dos reservatórios em hidrelétricas é influenciada diretamente por suas características físico-químicas e microbiológicas. A partir deste conhecimento pode-se efetuar um controle mais eficaz da formação do *biofouling*, além de sistematizar as paradas das instalações para a manutenção dos equipamentos. Abaixo estão descritos os resultados obtidos na análise físico-química (Tabela 5.1) e microbiológica (Tabela 5.2) da água doce coletada para os experimentos.

Tabela 5.1 – Análises físico-químicas da água doce.

PARÂMETROS ANALISADOS	RESULTADOS
pH	7,41
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	62,50
Cloretos (mg/L)	10,00
Sulfatos (mg/L)	0,00
Nitrito (mg/L)	< 0,01
Nitrato (mg/L)	0,23
Ferro Total (mg/L)	0,17
Dureza Total (mg/L em CaCO_3)	20,00
Cálcio (mg/L em Ca)	4,81
Magnésio (mg/L em Mg)	1,94
Alcalinidade de Carbonatos (mg/L em CaCO_3)	8,00
Alcalinidade de Bicarbonatos (mg/L em CaCO_3)	74,00
Alcalinidade de Hidróxidos (mg/L em CaCO_3)	0,00
Alcalinidade de Carbonatos (mg/L em CO_3)	4,80
Alcalinidade de Bicarbonatos (mg/L em HCO_3)	90,23
DBO ₅ (mg/L)*	1,86
DQO (mg/L)**	1,0
Sólidos Totais (mg/L)	81,00
Sólidos Totais Fixos (mg/L)	60,00
Sólidos Totais Voláteis (mg/L)	21,00
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	15,00
Sólidos Suspensos Fixos (mg/L)	11,00
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L)	4,00
Sólidos Dissolvidos Totais (mg/L)	66,00
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg/L)	49,00
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg/L)	17,00

*Demanda Bioquímica de Oxigênio num período de 5 dias.

**Demanda Química de Oxigênio.

Tabela 5.2 – Análises microbiológicas da água doce no biorreator teste.

MICRO-ORGANISMOS	TEMPO			
	zero	19 dias	42 dias	100 dias
Aeróbias heterotróficas totais (NMP/mL)	$6,00 \times 10^3$	$1,40 \times 10^6$	$1,40 \times 10^4$	$1,40 \times 10^8$
Precipitantes do ferro (NMP/mL)	$4,00 \times 10^4$	$1,40 \times 10^3$	$4,50 \times 10^3$	$1,10 \times 10^4$
<i>Pseudomonas sp.</i> (UFC/mL)	$3,67 \times 10^1$	$1,33 \times 10^0$	$2,00 \times 10^0$	$2,35 \times 10^1$
Fungos (UFC/mL)	$7,00 \times 10^0$	$2,00 \times 10^0$	$2,50 \times 10^0$	$2,00 \times 10^1$
Anaeróbias heterotróficas totais (NMP/mL)	$1,40 \times 10^3$	$2,50 \times 10^1$	$6,50 \times 10^1$	$6,50 \times 10^1$
Anaeróbias produtoras de ácidos (NMP/mL)	$1,15 \times 10^2$	-	-	-

Correlacionando os valores de pH (7,41), nitrito (<0,01 mg/L), nitrato (0,23 mg/L), DBO (1,86 mg/L) e sólidos dissolvidos totais (66,0 mg/L) encontrados no fluido de processo estudado com os valores padrões para água doce de classe II, observa-se que os valores encontrados estão de acordo com a Resolução CONAMA n° 357/05. A água doce estudada apresenta pH próximo da alcalinidade, o que diminui a ação agressiva deste ambiente aos equipamentos metálicos. O controle do pH da água utilizada em sistemas de resfriamentos não deve ter valores inferiores a 7,0, pois quanto menor o valor deste pH maior será a ação corrosiva nos equipamentos. Em ambientes ácidos a formação da película protetora de Cu_2O em materiais de cobre é impossibilitada pelo baixo pH (GENTIL, 2011). Este pH pode ser corrigido para alcalino pela adição de hidróxido de sódio a 50% nas tubulações em hidrelétricas, impossibilitando a formação de complexos com o ferro (MATTÊA *et al.*, 2002). Ukpaka e colaboradores (2011) compararam as características físico-químicas da água doce e salgada influenciando na corrosão de cupons de zinco. Os parâmetros analisados e valores encontrados pelos pesquisadores para água doce e salgada, respectivamente foram: pH (9,82 e 6,70), íons cloreto (3,8 e 1.560,0 mg/L), íons sulfato (0,02 e 0,10 mg/L), ferro (0,24 e 1,08 mg/L), dureza total (2,6 e 4,6 mg/L), DBO (19 e 280 mg/L), DQO (135 e 500 mg/L), sólidos suspensos totais (8 e 100 mg/L) e sólidos dissolvidos totais (186 e 530 mg/L). A água salgada foi mais

corrosiva que a água doce por apresentar uma maior concentração de sais e valor de pH ácido.

Outras características físico-químicas importantes das águas são determinadas pela presença de íons cloreto, sulfato, cálcio e magnésio. De acordo com Souza (2007) os íons cloreto (Cl^-) e sulfato (SO_4^{2-}) são corrosivos, enquanto que os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} responsáveis pela dureza da água formam precipitados que se aderem às superfícies minimizando o efeito agressivo da água. O grau de agressividade da água está diretamente relacionado com a dureza e alcalinidade. O teor de alcalinidade favorece a formação de carbonato de cálcio (CaCO_3), gerando um efeito tampão controlando o pH (GENTIL, 2011). A água estudada apresentou concentrações de 10 mg/L de íons cloreto, ausência de sulfato, 4,81 mg/L de cálcio, 1,94 mg/L de magnésio, como dureza total de 20 mg/L em CaCO_3 .

A existência de sólidos suspensos como argila, lodo, hidróxido de alumínio, óxido férrico hidratado, óxido de manganês IV, e alguns outros produtos de corrosão na água impedem a difusão do oxigênio até a base superficial dos metais favorecendo a corrosão por aeração diferencial ou corrosão sob depósito (GENTIL, 2011; SOUZA, 2007). Foi encontrada na água doce estudada uma concentração de 15 mg/L de sólidos suspensos totais, além de 11 mg/L de sólidos suspensos fixos e 4 mg/L de sólidos suspensos voláteis. A Resolução CONAMA 357/05 não especifica valores máximos para os seguintes parâmetros: sólidos suspensos totais, sólidos suspensos fixos e sólidos suspensos voláteis, entre outros.

A Tabela 5.2 apresenta os principais grupos de micro-organismos planctônicos (livres no fluido) encontrados na água doce nos tempos zero, 19, 42 e 100 dias de exposição ao fluido. Observa-se que as bactérias aeróbias heterotróficas totais foi o grupo microbiano que apresentou maior concentração, seguido das bactérias precipitantes do ferro. As bactérias heterotróficas obtiveram concentração máxima de $1,40 \times 10^8$ NMP/mL em 100 dias de experimento. Também estavam presentes em menor concentração as *Pseudomonas sp.*, fungos filamentosos, bactérias anaeróbias heterotróficas totais e bactérias anaeróbias produtoras de ácidos. As bactérias anaeróbias produtoras de ácidos estavam presentes no tempo zero, mas morreram nos tempos seguintes. As bactérias redutoras de sulfato e as bactérias aeróbias produtoras de ácidos não foram detectadas no fluido estudado.

As bactérias aeróbias e anaeróbias heterotróficas totais, as precipitantes do ferro, as *Pseudomonas sp.*, as anaeróbias produtoras de ácidos e os fungos também foram encontrados nos biofilmes (estado sésil). As análises referentes a estes grupos microbianos estão apresentadas no item 5.2.

5.2 CONCENTRAÇÃO CELULAR

Nos ambientes aquosos é freqüente a adsorção de bactérias nas superfícies formando filmes gelatinosos a partir da excreção de substâncias poliméricas extracelulares. As atividades microbianas dentro dos biofilmes alteram as condições físico-químicas dos substratos metálicos levando a aceleração ou inibição da corrosão (LEWANDOWSKI e BOLTZ, 2011; BEECH e SUNNER, 2004).

As bactérias de acordo com o pH, fluxo do meio, variação de oxigênio e nutrientes da matriz polimérica podem alternar entre os estados planctônicos e sésseis. Os biofilmes abrigam comunidades multicelulares densas com diferentes exigências nutricionais, no qual se estabelece uma comunicação entre si através de materiais excretados durante a formação do biofilme (WOOD *et al.*, 2011; VIDELA e HERRERA, 2005).

Nas Figuras 5.1, 5.2 e 5.3 podem ser observadas as concentrações celulares dos principais grupos de micro-organismos envolvidos na biocorrosão de cupons de aço carbono SAE 1010, nos períodos de 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de exposição à água doce.

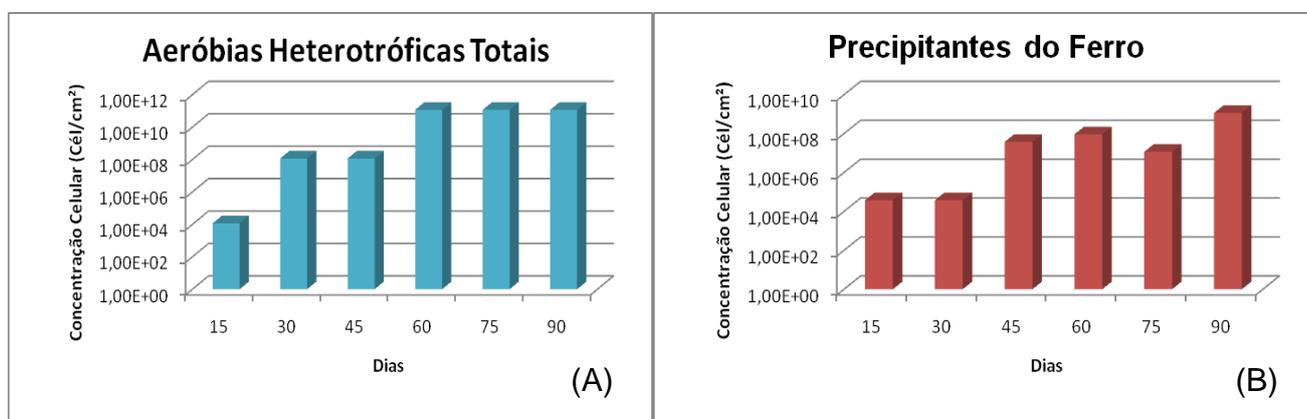


Figura 5.1 – Concentração celular das bactérias aeróbias heterotróficas totais (A) e precipitantes do ferro (B) em células/cm².

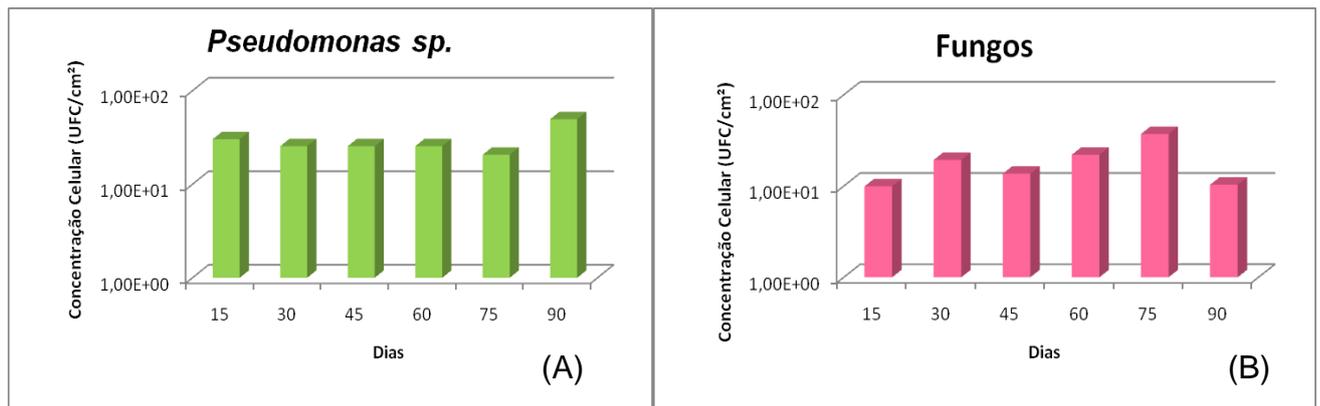


Figura 5.2 - Concentração celular das *Pseudomonas sp.* sésses (A) e fungos (B) em UFC/cm².

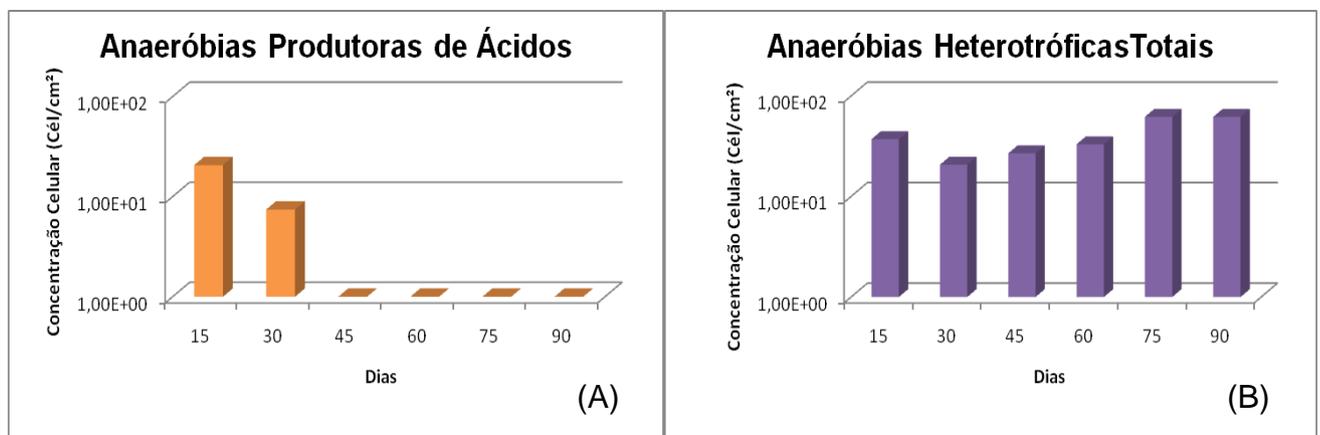


Figura 5.3 - Concentração celular das bactérias anaeróbias produtoras de ácidos (A) e bactérias anaeróbias heterotróficas totais (B) em células/cm².

Os gráficos da Figura 5.1 (A e B) apresentam a concentração de bactérias aeróbias heterotróficas totais e bactérias precipitantes do ferro. Dentre os microorganismos estudados, as bactérias aeróbias heterotróficas totais foi o grupo microbiano que atingiu maior concentração celular nos biofilmes seguido das bactérias precipitantes do ferro. As bactérias precipitantes do ferro são importantes nos processos de biocorrosão, por produzirem tubérculos de óxido ou hidróxido de ferro causando a perda de eficiência e/ou falhas mecânicas em sistemas de resfriamento (GENTIL, 2011). Além disto, estes precipitados facilitam o desenvolvimento de bactérias anaeróbias por dificultarem a difusão do oxigênio até o substrato metálico, como pode ser observado na Figura 5.4 que mostra a formação de depósitos no corpo-de-prova teste.



Figura 5.4 – Biofilme formado na superfície do aço carbono SAE 1010 após 30 dias de exposição ao fluido.

(Fonte: Autora).

Marangoni (2010) isolou e identificou os micro-organismos causadores da biocorrosão em corpos de prova metálicos, que permaneceram em contato direto com a água doce de duas centrais hidrelétricas, situadas nas regiões Norte e Sul do Brasil. Nos biofilmes avaliados foram encontradas bactérias oxidantes do ferro, bactérias redutoras de sulfato, bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas (pertencente às famílias Enterobacteriaceae e Vibrionaceae, aos gêneros *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, bacilos Gram-positivos não esporulados e bacilos Gram-positivos pleomórficos) e fungos. O pesquisador encontrou elevada quantidade de *Pseudomonas sp.*, que segundo Yuan e colaboradores (2007) são as primeiras bactérias a colonizar as estruturas metálicas estando associadas à biocorrosão.

Starosvetsky *et al.*, (2007) investigaram a perda da eficiência em um trocador de calor de aço carbono presente em uma unidade de osmose reversa. Através das análises dos tubérculos formados na superfície do aço verificaram a incidência de bactérias aeróbias heterotróficas, precipitantes do ferro e redutoras de sulfato. As bactérias heterotróficas e precipitantes do ferro estavam em maior concentração nos biofilmes estudados ($4,5 \times 10^9$ UFC/g e $4,9 \times 10^7$ UFC/g, respectivamente). A deposição de íons ferrosos nos trocadores pode ter sido favorecida pela alta taxa de corrosão do aço carbono. Os íons ferrosos são transferidos para a água, sendo utilizados como fonte de energia pelas bactérias precipitantes do ferro. Estas bactérias se nutrem, e liberam nos meios aquosos precipitados insolúveis que contribuem para a corrosão do aço.

Dantas (2009) ao estudar a formação de biofilmes em cupons de aço carbono SAE 1008 em água do mar também verificou a predominância de bactérias aeróbias heterotróficas totais e bactérias precipitantes do ferro ao longo de 90 dias. A concentração celular das bactérias anaeróbias heterotróficas totais variou durante o experimento apresentando maior concentração com 90 dias de exposição à água do mar, enquanto as BRS apresentaram crescimento ascendente atingindo máxima concentração com 75 dias de exposição.

A Figura 5.2 (A e B) mostram as concentrações celulares das bactérias *Pseudomonas sp.* e dos fungos filamentosos. Verifica-se que a concentração das *Pseudomonas sp.* e dos fungos foi praticamente constante, com pouca variação nos tempos estudados. As bactérias *Pseudomonas sp.* e os fungos atingiram concentração celular máxima de $4,96 \times 10^1$ UFC/cm² (com 90 dias de exposição) e $3,72 \times 10^1$ UFC/cm² (com 75 dias de exposição), respectivamente.

Dantas (2009) avaliando corpos-de-prova de aço carbono imersos em água do mar, observou que a concentração máxima para *Pseudomonas sp.* foi de $7,9 \times 10^2$ UFC/cm² com 30 dias, enquanto os fungos apresentaram concentração constante de $1,6 \times 10^1$ UFC/cm² ao longo dos 90 dias de experimento. Oliveira (2010) estudando cupons de aço carbono SAE 1010 expostos à água do mar em sistema estático encontrou uma concentração de *Pseudomonas sp.* de $8,9 \times 10^5$ UFC/cm² após 30 dias de exposição ao fluido. Com relação à concentração dos fungos filamentosos a água do mar estudada não favoreceu o crescimento deste grupo de micro-organismo. Os resultados encontrados pelas pesquisadoras referentes à concentração celular de *Pseudomonas sp.* foram superiores aos encontrados no experimento, demonstrando que o ambiente salino foi mais propício ao crescimento deste grupo de bactérias que o ambiente de água doce.

Correia e colaboradores (2010) encontraram os gêneros fúngicos *Curvularia spp.* e *Penicillium spp.* nos biofilmes presentes em estruturas metálicas corroídas expostas à água doce de uma unidade geradora de energia elétrica na região Amazônica. Também foram encontradas bactérias pertencentes às famílias Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Bacillaceae, Corynebacteriaceae e Streptococcaceae possivelmente influenciando alguns mecanismos de corrosão. Os fungos juntamente com as bactérias dentro dos consórcios microbianos têm sido identificados como agentes facilitadores da biocorrosão em metais. Este mecanismo

envolve a produção de ácidos oxálicos, lácticos, acéticos e cítricos no meio, a partir da absorção de substâncias orgânicas pelos fungos (LITTLE e LEE, 2007).

Na Figura 5.3 (A e B) são apresentados os crescimentos celulares das bactérias anaeróbias - produtoras de ácidos e bactérias heterotróficas totais. As bactérias anaeróbias produtoras de ácidos inicialmente estavam presentes no fluido de processo, porém provavelmente não sobreviveram devido a sua baixa concentração inicial na água doce. Já as bactérias anaeróbias heterotróficas totais apresentaram um crescimento praticamente constante ao longo dos 90 dias.

As bactérias redutoras de sulfato e as bactérias aeróbias produtoras de ácidos não estavam presentes na água doce. A ausência de BRS pode ser atribuída a ausência de sulfato na água doce (Tabela 5.1), já que estas bactérias utilizam este composto para obtenção de energia (BEECH e GAYLARDE, 1999). Embora nesta pesquisa não tenha sido encontrada bactérias redutoras de sulfato causando problemas de corrosão, na maioria das pesquisas relacionadas ao tema, estes micro-organismos geralmente estão presentes. Através de técnicas moleculares Marangoni (2010) isolou e identificou, em biofilmes provenientes de corpos-de-prova metálicos em água doce, cinco cepas pertencentes ao grupos das bactérias redutoras de sulfato – *Desulfovibrio sp.*, *Desulfosarcina sp.*, *Desulfococcus sp.*, *Desulfonema sp.* e *Desulfobulbus sp.*. Odokuma e Ugboma (2012) isolaram bactérias redutoras de sulfato, ferrobactérias e bactérias de enxofre em cupons de aço carbono, aço médio e aço inoxidável em contato com água doce.

Os micro-organismos presentes na água doce contribuíram para aumentar o processo de corrosão através da formação dos biofilmes na superfície do metal. A formação dos biofilmes é um processo ordenado, porém complexo, que depende da resposta das células aos estímulos ambientais. Resumidamente compreendem em motilidade microbiana até a superfície, adesão, formação de aglomerados, desenvolvimento e diferenciação de estruturas e dispersão. Estes estágios podem ainda ser afetados por diversas variáveis (WOOD *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2010).

A adesão microbiana inicia-se através do transporte de micro-organismos da interface de acordo com os seguintes mecanismos: transporte difusivo devido ao movimento Browniano, transporte convectivo devido ao fluxo do líquido e o movimento ativo das bactérias móveis próximo a interface (LEWANDOWSKI e STOODLEY, 1995). As Figuras 5.5 e 5.6 apresentam algumas etapas (A – cupons sem biofilme, B – início da formação dos biofilmes nos cupons, C – cupom

praticamente coberto por biofilme, D e E – cupons totalmente cobertos por biofilme) da formação do biofilme nos corpos-de-prova metálicos.

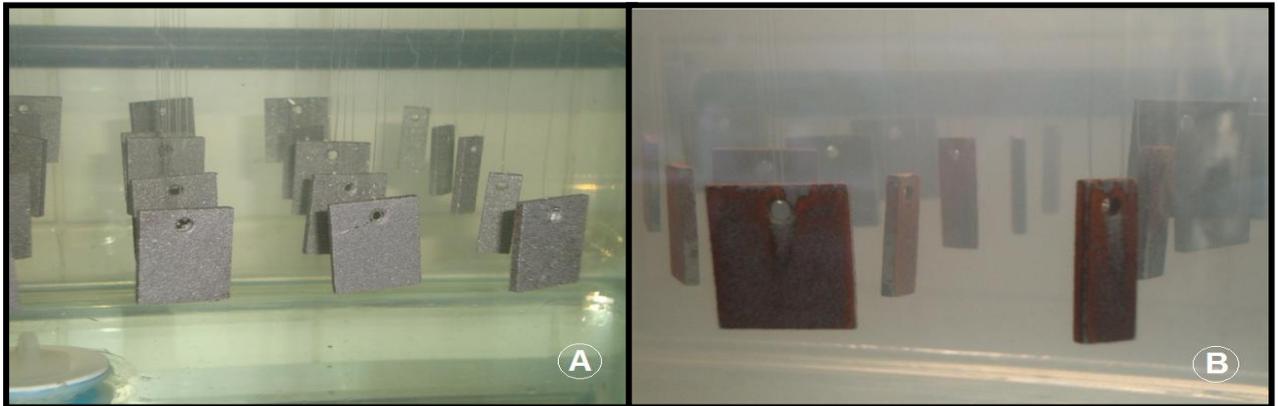


Figura 5.5 – Cupons de aço carbono SAE 1010 expostos à água doce. (A) Sem formação de biofilmes – imersão imediata no fluido e (B) Após 24 horas de exposição. (Fonte: Autora).



Figura 5.6 – Cupons de aço carbono SAE 1010 expostos à água doce após (A) 15 dias, (B) e (C) 30 dias.

(Fonte: Autora).

5.3 TAXA DE CORROSÃO

A partir dos valores de taxa de corrosão de um determinado material pode-se determinar a agressividade de um meio corrosivo, como também estimar a vida útil de um equipamento. Estes valores de taxa são influenciados por características químicas (gases dissolvidos, salinidade, pH), físicas (velocidade, temperatura e pressão) ou biológicas (micro-organismos e macro-organismos) do meio (GENTIL, 2011).

As taxas de corrosão, por perda de massa, dos cupons metálicos SAE 1010 estão apresentadas na Figura 5.7 abaixo. Os corpos-de-prova dos sistemas controle e teste foram expostos ao fluido de processo nos tempos de 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias.

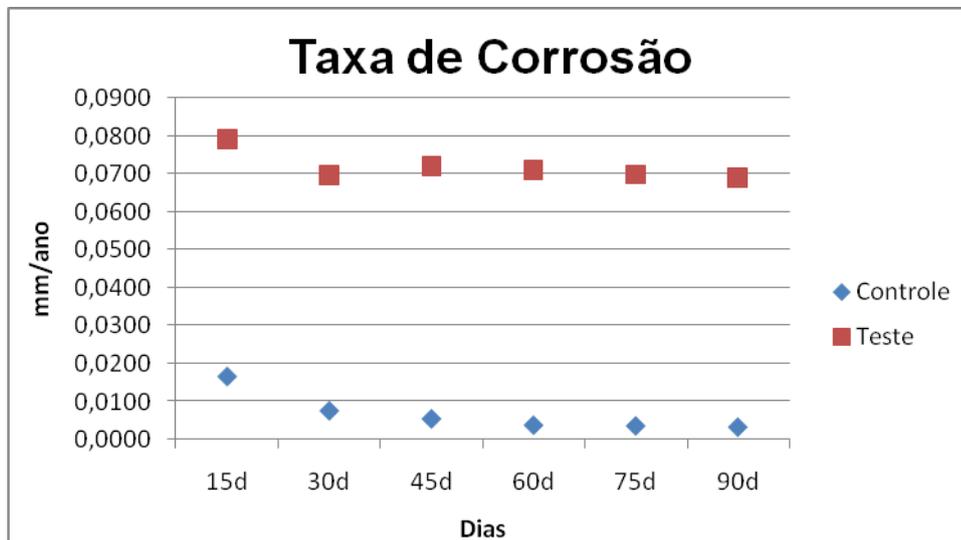


Figura 5.7 – Taxa de corrosão dos cupons de aço carbono SAE 1010.

Os valores de taxa de corrosão observados na Figura 5.7 foram comparados com os níveis de corrosividade de acordo com a Norma NACE-RP-07-75 (Tabela 4.11). A taxa de corrosão dos cupons teste foi 0,069 mm/ano com 90 dias, sendo considerada de moderada corrosividade. Enquanto que a taxa de corrosão dos cupons controle (sem micro-organismos) foi de 0,0034 mm/ano também com 90 dias, apresentando uma baixa corrosividade. Os cupons testes apresentaram uma taxa de corrosão de aproximadamente 95,1% maior que a taxa de corrosão dos cupons controle. Este aumento no valor da taxa de corrosão foi ocasionado pela ação de metabólitos microbianos agressivos que alteram a interface metal/solução contribuindo para acelerar a corrosão nos metais. Macroscopicamente observa-se que a corrosão foi uniforme em ambos os sistemas, podendo também ter ocorrido a corrosão por pites (Figura 5.8). Para melhor esclarecimento do tipo de corrosão se faz necessária análise microscópica das superfícies dos corpos-de-prova após remoção do biofilme, o que não foi realizado nesta pesquisa. Segundo Rossum (2000) a corrosão por pites em água doce é frequente, entretanto quando a água doce apresenta valor de pH inferior a 7,0 favorece geralmente a corrosão uniforme.



Figura 5.8 – Cupom de aço carbono exibindo corrosão uniforme após a remoção do biofilme com espátula estéril.

(Fonte: Autora).

Comportamento semelhante foi encontrado por Rao e colaboradores (2000). Os pesquisadores correlacionaram o crescimento de bactérias oxidantes do ferro com a taxa de corrosão de cupons de aço carbono em contato com água doce no resfriamento de reatores nuclear. A taxa de corrosão, por perda de massa do sistema estéril, foi inferior (1.75 ± 0.62 mm/ano) a taxa de corrosão do sistema teste (entre 3-13,5 mm/ano). Além disto, foram encontradas bactérias redutoras de sulfato, bactérias aeróbias heterotróficas e *Pseudomonas aeruginosa* nos tubérculos presentes na superfície dos corpos-de-prova induzindo a corrosão microbiológica dos mesmos.

Dantas (2009) verificou a taxa de corrosão de corpos-de-prova de aço carbono SAE 1008 em água do mar no período de 90 dias. Ao longo deste período foi observada uma taxa de corrosão de 0,0561 mm/ano nos cupons teste, enquanto os corpos-de-prova controle (sem micro-organismos) apresentaram uma taxa de 0,0632 mm/ano. A taxa de corrosão do sistema controle foi superior à taxa do sistema teste, devido a formação dos biofilmes nas superfícies dos cupons que contribuíram para a proteção do metal contra o ataque corrosivo. O resultado encontrado por Dantas (2009) apresentou um comportamento oposto ao encontrado neste experimento.

Odokuma e Ugboma (2012) avaliaram em água doce, do rio Ndoni na Nigéria, no período de um ano a taxa de corrosão, por perda de massa, de cupons de aço carbono, aço médio e aço inoxidável. O estudo mostrou que o aço carbono apresentou a maior taxa de corrosão (44 g/ano), em relação ao aço médio (27 g/ano) e ao aço inoxidável (0.64 g/ano).

Através dos cálculos de perda de massa, medidas de profundidade do pite e resistência de polarização linear, Lee e colaboradores (2011) avaliaram a taxa de corrosão de cupons de aço carbono em contato direto com água doce durante três anos. Nos cálculos por perda de massa foi observado que a taxa de corrosão permaneceu constante (entre 20-30 mg/ano) em todos os locais durante todo o experimento. Entretanto, a taxa de corrosão não foi linear quando medida pela profundidade dos pites, sendo maior no primeiro ano de exposição do que nos anos seguintes. As medições por resistência de polarização linear também não foram lineares devido a influência da temperatura variando de acordo com o clima da região em determinado período do ano.

Ilhan-Sungur *et al.*, (2007) estudando a taxa de corrosão em cupons de aço galvanizado em água doce contendo BRS (*Desulfovibrio sp.*) verificaram que a ação desta bactéria causou um aumento na perda de massa dos cupons. O valor máximo de perda de massa foi de 0,677 mg/cm² após 360 horas de exposição, enquanto os valores de taxa de corrosão reduziram progressivamente ao longo dos 744 horas de incubação.

5.4 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS BIOFILMES

A composição das EPS extraídas pode variar de acordo com a cultura, fase de crescimento, parâmetros do processo, tipo de biorreator, método de extração e ferramenta analítica usada (SHENG *et al.*, 2010).

A Tabela 5.3 apresenta a caracterização bioquímica dos biofilmes no período de 30, 60 e 90 dias de contato com água doce avaliando-se os carboidratos e as proteínas.

Tabela 5.3 – Caracterização bioquímica dos biofilmes em diferentes períodos estudados.

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA	PERÍODOS		
	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
CARBOIDRATOS (µg)/cm ²	11,3±2,2	*	11,0±0,2
PROTEÍNAS (µg)/cm ²	4,8±3,7	12,0±0,3	20,9±4

*Não Determinado

A concentração dos carboidratos em 30 e 90 dias de experimento foi praticamente a mesma. No período de 60 dias não foi possível ser determinada, devido aos valores de transmitância estar acima da faixa de leitura (30-70%). Isto pode ser atribuído ao destacamento do biofilme para o meio aquoso e/ou ter sido utilizado como fonte de nutriente para os micro-organismos, diminuindo a concentração dos carboidratos aderidos ao metal. Segundo Lear *et al.*, (2012) a atividade de enzimas extracelulares associadas as EPS, presentes nos biofilmes em água doce, proporciona a decomposição da matéria orgânica que pode ser utilizada como nutrição pelas bactérias. Com relação a concentração das proteínas totais no biofilme os valores encontrados foram crescentes ao longo dos 90 dias de experimento.

Ilhan-Sungur *et al.*, (2007) caracterizaram através da metodologia de Dubois *et al.*, (1956) os carboidratos formados nos biofilmes de cupons de aço galvanizado expostos à bactéria *Desulfovibrio sp.* em água doce. As análises evidenciaram que as concentrações dos carboidratos variaram durante as 744 horas de incubação, apresentando valor máximo de concentração ($38,21 \pm 2,26 \text{ mg/cm}^2$) após 96 horas de exposição às BRS. A variação nos valores de concentração dos carboidratos foi inversamente proporcional à perda de massa dos cupons, ou seja, a atividade das BRS favoreceu a corrosão do aço galvanizado.

Silva (2011) avaliou em água do mar as EPS formadas nos cupons de aço carbono SAE 1010 em diferentes ciclos com Sulfato de Tetrakis (Hidroximetil) Fosfônio (THPS) e xantana. Ao comparar os valores de carboidratos e proteínas sem biocida ($9,4 \pm 1,2 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$ e $5,7 \pm 3,1 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$, respectivamente) encontrados por Silva (2011), com os valores de carboidratos e proteínas de 30 dias ($11,3 \pm 2,2 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$ e $4,8 \pm 3,7 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$, respectivamente) observa-se que os valores foram próximos, apesar dos ensaios terem sido realizados em ambientes aquosos diferentes.

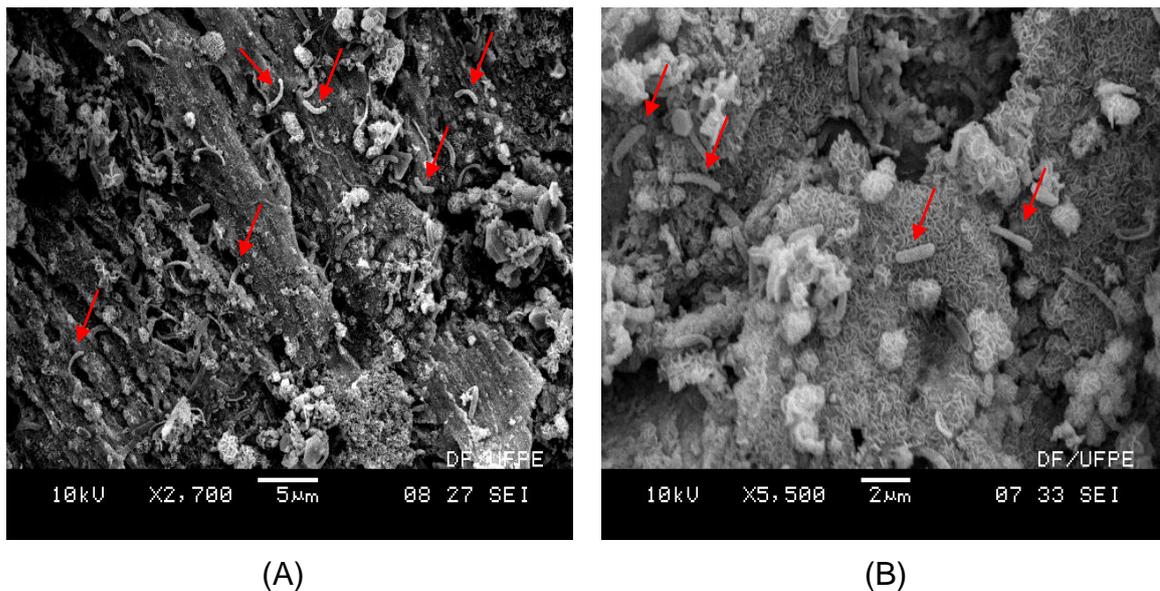
Oliveira (2010) analisou em sistema turbulento laminar as proteínas e carboidratos formados em biofilmes de corpos-de-prova metálicos expostos à água do mar com hipoclorito de sódio e xantana. Correlacionando os valores de concentração dos carboidratos e proteínas de 30 dias ($11,3 \pm 2,2 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$ e $4,8 \pm 3,7 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$, respectivamente) com os valores encontrados por Oliveira (2010) para carboidratos e proteínas ciclo sem biocida ($8,8 \pm 0,05 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$ e $4,3 \pm 1,5 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$,

respectivamente) verifica-se que apresentam valores aproximados mesmo sendo realizados em ambientes aquosos diferentes.

Gerbersdorf e colaboradores (2009) analisaram as EPS (carboidratos e proteínas) formadas em sedimentos de água doce no período de três anos. As concentrações de carboidratos por peso seco variaram entre 0,1-1,8 mg/g (carboidratos em suspensão) e 1,3-6,7 mg/g (carboidratos aderidos), e as proteínas variaram entre 0,4-12,9 mg/g ao longo do experimento. Neste estudo foi observado que as maiores concentrações de EPS estavam relacionadas com períodos de maior concentração de biomassa em microalgas e células bacterianas.

5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS BIOFILMES FORMADOS NOS CUPONS METÁLICOS SAE 1010

A Figura 5.9 apresenta as micrografias dos cupons metálicos em água doce no período de 30 dias de exposição. Em todas as micrografias são observadas presença de bactérias (bastonetes) envolvidas por substâncias poliméricas, partículas cristalinas e materiais de corrosão. Resultado semelhante foi encontrado por Rao e colaboradores (2000), no qual identificaram por MEV bactérias oxidantes do ferro causando a corrosão em cupons de aço carbono em contato com água doce. As bactérias presentes no biofilme estavam envolvidas por produtos de corrosão (óxidos e hidróxidos de ferro).



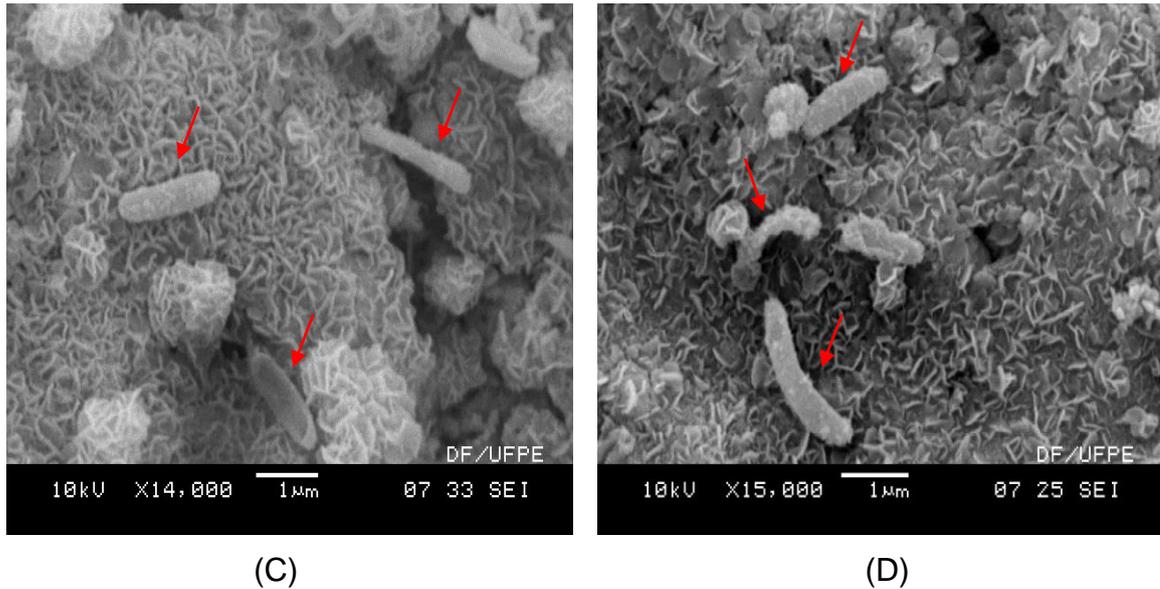


Figura 5.9 – Microscopia eletrônica de varredura dos biofilmes formados em cupons de aço carbono SAE 1010 exibindo bactérias (seta) após 30 dias de exposição à água doce (A, B, C e D).

Marconnet *et al.*, (2008) observaram micro-organismos e biomacromoléculas através da análise por MEV da superfície de corpos de prova de aço inoxidável AISI 304 L, AISI 316L e 254SMO imersos em água doce. Dentre os micro-organismos encontrados nos biofilmes foram visualizadas algumas bactérias e em maior quantidade diatomáceas. Como também foram identificados silício nas diatomáceas, e outras substâncias como manganês, cromo e ferro nos corpos-de-prova testados.

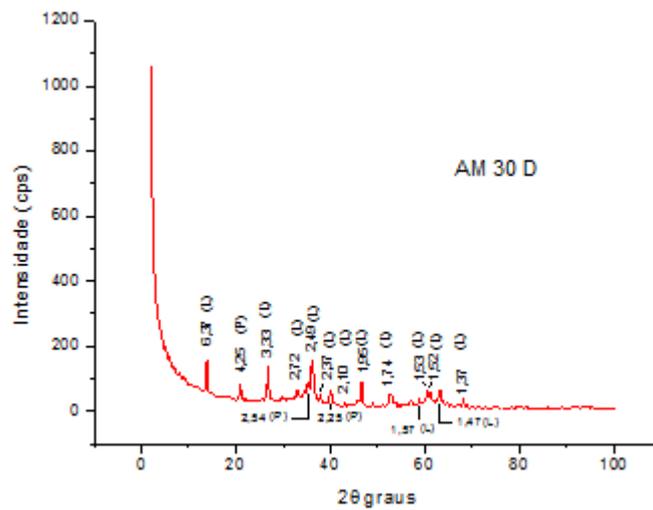
Maluckov (2012) relatou a influencia de bactérias redutoras de sulfato causadoras da biocorrosão em aços através de micrografias eletrônicas. A fragilização das estruturas de aço pode ser identificada por análises químicas, eletroquímicas e microscópicas dos produtos de corrosão e componentes microbiológicos presentes.

Starosvetsky *et al.*, (2007) analisando os biofilmes formados em trocador de calor de aço carbono em água doce por MEV encontraram duas morfologias diferentes de depósitos de corrosão. Uma morfologia compacta com partículas densas e outra com depósitos porosos com inclusões orgânicas.

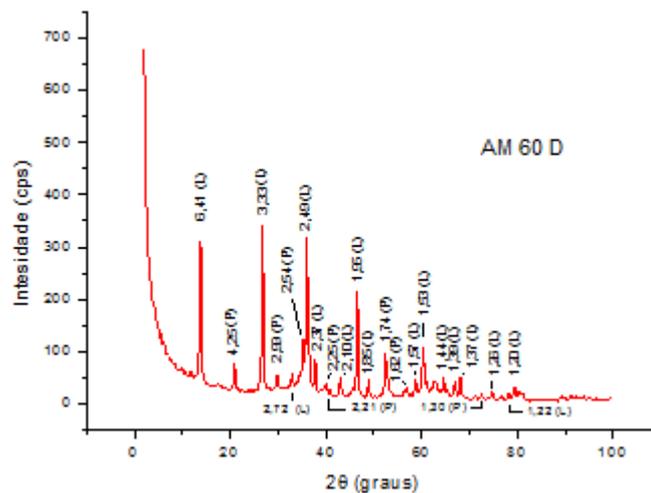
5.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

O processo de corrosão se inicia com a oxidação do ferro metálico liberando ferro no meio ou produtos de corrosão em camadas. Inicialmente, as taxas de corrosão dos metais são elevadas. Com o desenvolvimento dos produtos de corrosão essa taxa sofre redução, pois estas camadas proporcionam aumento da resistência nas reações de corrosão (OBRECHT e POURBAIX, 1967).

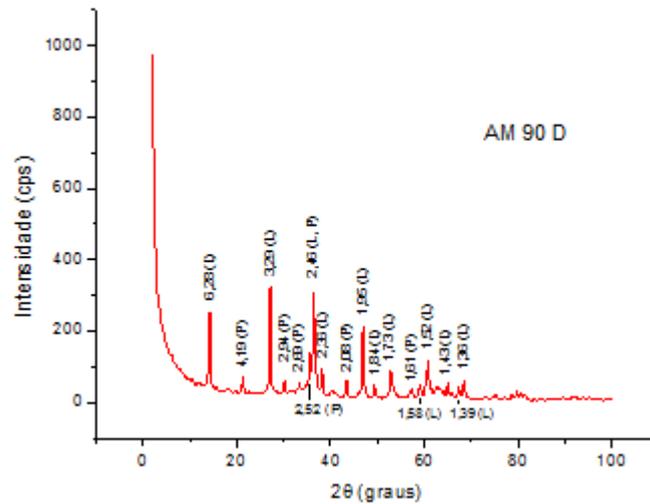
A Figura 5.10 (A, B e C) evidencia os difratogramas dos produtos de corrosão formados nos corpos-de-prova SAE 1010 em 30, 60 e 90 dias de exposição à água doce.



(A)



(B)



(C)

Figura 5.10 – Difração de Raio X dos produtos de corrosão em: (A) 30 dias, (B) 60 dias e (C) 90 dias de exposição à água doce.

Os picos observados na Figura 5.10 A indicam as substâncias: Lepidocrocita (γ -FeOOH: picos 6,37; 3,33; 2,72; 2,49; 2,37; 2,10; 1,95; 1,74; 1,57; 1,53; 1,52; 1,47; 1,37) e Pirrotita ($\text{Fe}_{0,875-1}\text{S}$: picos 4,25; 2,54; 2,25).

Os picos observados na Figura 5.10 B indicam as substâncias: Lepidocrocita (γ -FeOOH: picos 6,41; 3,33; 2,72; 2,49; 2,37; 2,10; 1,95; 1,85; 1,57; 1,53; 1,44; 1,39; 1,37; 1,26; 1,22; 1,20) e Pirrotita ($\text{Fe}_{0,875-1}\text{S}$: picos 4,25; 2,99; 2,54; 2,21; 2,25; 1,74; 1,62; 1,30).

Os picos observados na Figura 5.10 C indicam as substâncias: Lepidocrocita (γ -FeOOH: picos 6,28; 3,29; 2,46; 2,36; 1,95; 1,84; 1,73; 1,58; 1,52; 1,43; 1,39; 1,36) e Pirrotita ($\text{Fe}_{0,875-1}\text{S}$: picos 4,19; 2,94; 2,69; 2,08; 2,52 (L e P); 1,61).

Em todas as amostras analisadas foram encontradas as fases cristalinas lepidocrocita e pirrotita. Segundo Cornell e Schwertmann (1996) a formação da lepidocrocita ocorre a partir da rápida oxidação de hidróxidos ferrosos. A pirrotita é uma das camadas de sulfetos que podem ser formadas após modificações causadas por reações biológicas e eletroquímicas quando o aço é exposto a ânions de enxofre (VIDELA, 2003). Como no experimento não houve BRS (item 5.2), a pirrotita formada na superfície do aço foi proveniente de reações eletroquímicas.

Huttunen-Saarivirta *et al.*, (2012) estudando os biofilmes formados em trocadores de calor de aço inoxidável AISI 304 em água doce identificaram duas

fases cristalinas em análises de DRX. A principal fase cristalina encontrada foi austenita, e α -ferrita estava presente em menor proporção.

Rao *et al.*, (2000) encontraram as seguintes fases cristalinas de corrosão γ - Fe_2O_3 , Fe_2PO_5 , FePS_3 , $\text{Fe}(\text{PO}_3)_3$ e BaFeO_{3-x} nos biofilmes formados em cupons de aço carbono em contato com água doce nos sistemas de resfriamento. Com predominância do composto $\text{Fe}(\text{PO}_3)_3$.

Teng e colaboradores (2008) avaliaram a influencia dos biofilmes na formação dos produtos de corrosão em cupons de ferro fundido em sistema de água potável. Os produtos de corrosão foram determinados por técnicas de difração de raio-X e espectroscopia de elétrons excitados por raio-X. Maghemita (γ - Fe_2O_3), calcita e aragonita (ambas CaCO_3) estavam presentes em todas as amostras (com e sem biofilme), exceto na amostra de 30 dias (sem biofilme). Goetita (α - FeOOH) estava em todas as amostras com biofilmes e também na amostra de 15 dias (sem biofilme). Já o composto óxido hidróxido de ferro (FeOOH) foi encontrado apenas nas amostras sem biofilmes de 7 e 30 dias de exposição à água potável. A formação dos biofilmes sobre os cupons contribuiu para uma variedade de fases cristalinas sobre os substratos metálicos.

Silva (2011) identificou compostos semelhantes aos encontrados nas amostras pesquisadas em 30, 60 e 90 dias, estudando o efeito do biocida Sulfato de Tetrakis (Hidroximetil) Fosfônio (THPS) e da xantana como controle da biocorrosão em cupons de aço carbono SAE 1010 em água do mar. As análises de DRX evidenciaram a presença de pirrotita ($\text{Fe}_{0,875-1}\text{S}$), goetita (α - FeOOH), akaganeita (β - FeOOH) e hematita (α - Fe_2O_3) em todas as amostras, exceto a hematita que estava ausente no ciclo THPS com xantana. Lepidocrocita (γ - FeOOH) estava presente no ciclo controle, e no ciclo com a xantana isolada. Mackinawita ($\text{FeS}_{0,93-0,96}$) estava no ciclo com THPS, e no ciclo THPS mais o biodispersante xantana. O composto magnetita (Fe_3O_4) estava apenas no ciclo com THPS isoladamente.

Os produtos de corrosão, também chamados de camadas de corrosão podem afetar e influenciar na qualidade da água em sistemas de distribuição de água potável. Sarin *et al.*, (2001) identificaram as fases cristalinas lepidocrocita (γ - FeOOH), goetita (α - FeOOH) e magnetita (Fe_3O_4) em dois sistemas antigos de distribuição de água potável constituídos de tubos de aço/ferro. Os compostos presentes em cada sistema analisado apresentaram diferenças de porosidade e densidade provavelmente devido as diferenças nos parâmetros (qualidade da água,

fluxo de água e crescimento de micro-organismos). Pesquisa semelhante foi investigada por Yang e colaboradores (2012), no qual identificou vários produtos de corrosão nas tubulações com características aparentemente diferentes. Magnetita (Fe_3O_4) e goetita ($\alpha\text{-FeOOH}$) foram os principais minerais de ferro presentes em 70 % das amostras. Outros óxidos de ferro como lepidocrocita ($\gamma\text{-FeOOH}$), siderita (FeCO_3), ferrugem verde ($\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}\text{CO}_3$), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), akaganeita ($\beta\text{-FeOOH}$), hidróxido de carbonato ferro hidratado ($\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), honessite ($\text{Ni}_6\text{Fe}_2^{+3}(\text{SO}_4)(\text{OH})_{16} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e pirita (FeS_2) também foram identificados. Entretanto, compostos cuja origem não era proveniente da corrosão do ferro estavam presentes nas tubulações tais como: quartz (SiO_2), calcita (CaCO_3), albita ($(\text{Na,Ca})\text{Al}(\text{Si,Al})_3\text{O}_8$), microclina ($\text{K}(\text{AlSi}_3)\text{O}_8$), gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

6. CONCLUSÕES

- As bactérias aeróbias heterotróficas totais foi o grupo microbiano que apresentou maior concentração celular, seguido das bactérias precipitantes do ferro;
- *Pseudomonas sp.*, bactérias anaeróbias heterotróficas totais e os fungos filamentosos também ocorreram nos biofilmes estudados, porém em baixas concentrações;
- As bactérias anaeróbias produtoras de ácidos estavam presentes na água doce, mas não sobreviveram após 30 dias de experimento;
- Os corpos-de-prova metálicos do sistema teste apresentaram maior taxa de corrosão em relação aos corpos-de-prova do sistema controle. De uma forma geral, as superfícies dos corpos-de-prova apresentaram corrosão uniforme;
- As concentrações dos carboidratos nos biofilmes foram praticamente iguais nos períodos de 30 e 90 dias;
- As concentrações das proteínas nos biofilmes foram crescentes ao longo dos 90 dias de experimento;
- As micrografias eletrônicas de varredura na amostra de 30 dias de exposição à água doce apresentaram bactérias, partículas cristalinas e materiais de corrosão;
- Os difratogramas apresentaram os produtos de corrosão lepidocrocita (γ -FeOOH) e pirrotita ($\text{Fe}_{0,875-1}\text{S}$) em todas as amostras analisadas por difração de raio X.

REFERÊNCIAS

- ASHASSI-SORKHABI, H.; MORADI-HAGHIGHI, M.; ZARRINI, G.; JAVAHERDASHTI, R. Corrosion behavior of carbon steel in the presence of two novel iron-oxidizing bacteria isolated from sewage treatment plants. ***Biodegradation*, v. 23, n. 1, p. 69-79, 2012.**
- American Public Health Association (APHA); American Water Works Association; Water Environment Federation. ***Standard methods For The Examination of Water and Wastewater***. 21st edition, Washington, DC, Centennial Edition, 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 & Biodegradation*, v. 53, p. 177-183, 2004.**
- BEECH, I. B.; SUNNER, J. Biocorrosion: Towards understanding interactions between biofilms and metals. ***Current Opinion in Biotechnology*, v. 15, p. 181–186, 2004.**
- BEECH, I. B.; GAYLARDE, C. C. Recent advances in the study of biocorrosion – An overview. ***Revista de Microbiologia*, v. 30, p. 177-190, 1999.**
- BORENSTEIN, S. W. ***Microbiologically influenced corrosion handbook***. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, 1994.
- BOTT, T. R. ***Biofouling Control***. Industrial Biofouling, 4 chapter, p. 81-153, 2011.
- BOTT, T. R. Potential physical methods for the control of biofouling in water systems. ***Chemical Engineering Research and Design*, v. 79, n. 4, p. 484-490, 2001.**
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União nº 53 de 30 de julho. Brasília, p. 58-63, 2005.
- BRASIL. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Portaria nº 715, de 20 de setembro de 1989. De enquadramento e nível de qualidade de água (classe) do rio São Francisco e tributários. Diário Oficial nº 513, 1989.
- BRYERS, J. D.; RATNER, B. D. Bioinspired implant materials befuddle bacteria. ***ASM News - American Society for Microbiology*, v. 70, n. 5, p. 232–237, 2004.**
- CALLISTER JR., W. D. ***Ciência e Engenharia dos Materiais: Uma introdução***. LCT - Livros Técnicos e Científicos Editora S. A. 5ª Edição. Rio de Janeiro, 2002.
- CETESB. ***Contagens de colônias de bactérias que precipitam o ferro***. Norma L5.207, p. 1-11, 1992.

CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. **Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach**. In: Characklis, W. G.; Marshall, K. C. (Eds.), *Biofilms*. Wiley Interscience, New York, p. 3-15. 1990.

CHAVES, L. C. D. **Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contato com água potável**. 2004, 156p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente) – Universidade do Minho – Uminho, Portugal.

CHONGDAR, S.; GUNASEKARAN, G.; KUMAR, P. Corrosion inhibition of mild steel by aerobic biofilm. ***Electrochimica Acta*, v. 50, p. 4655-4665, 2005.**

CLARCK, K. E.; SIEGEL, S. M.; SIEGEL, B. Z. Bio-corrosion: A note on fungal solubilization of iron from stainless steels. ***Water, Air & Soil Pollution*, v. 21, n. 1-4, p. 435-437, 1984.**

COETSER, S. E.; CLOETE, T. E. Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. ***Critical Reviews in Microbiology*, v. 31, p. 213-232, 2005.**

CORNELL, R. M.; SCHWERTMANN, U. **The Iron Oxides: Structure, Properties, reactions, Occurrence and uses**. VCH Publishers, Weinheim, 1996.

CORREIA, A. F.; SEGOVIA, J. F. O.; BEZERRA, R. M.; GONÇALVES, M. C. A.; ORNELAS, S. S.; SILVEIRA, D.; CARVALHO, J. C. T.; DINIZ, S. P. S. S. & KANZAKI, L. I. B. Aerobic and facultative microorganisms isolated from corroded metallic structures in a hidroelectric power unit in the Amazon region of Brazil. ***Air, Soil and Water Research*, v. 3, p. 113-121, 2010.**

DANTAS, E. **Geração de vapor e água de refrigeração, falhas - tratamentos - limpeza química**. Rio de Janeiro: Ecolab, 1988.

DANTAS, L. A. S. **Efeito da microbiota marinha da região de SUAPE na corrosão de cupons de aço carbono AISI 1005 e SAE 1008 em sistema estático**. 2009, 110p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE.

DICKINSON, W. F.; CACCAVO, J. R.; OLESEN, B.; LEWANDOWSKI, Z. Ennoblement of stainless steel by the manganese-depositing bacterium *Leptothrix discophora*. ***Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 7, p. 2502-2506, 1997.**

DROR-EHRE, A.; ADIN, A.; MARKOVICH, G.; MAMANE, H. Control of biofilm in water using molecularly capped silver nanoparticles. ***Water Research*, v. 44, p. 2601-2609, 2010.**

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. ***Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.**

- FLEMMING, H-C. Biofilms and environmental protection. **Water Science Technology**, v. 27, n. 7-8, p. 1-10, 1993.
- FLEMMING, H-C.; NEU, T. R.; WOZNIAK, D. J. The EPS matrix: the “house of biofilm cells”. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 22, p. 7945-7947, 2007.
- FLEMMING, H-C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, p. 623-633, 2010.
- GENTIL, V. **Corrosão**. 6^o edição. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos S.A., 2011.
- GERBERSDORF, S. U.; WESTRICH B.; PATERSON, D. M. Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS) in Fresh Water Sediments. **Microbial Ecology**, v. 58, n. 2, p. 334–349, 2009.
- GONÇALVES, N. J. **Potencialidade do tratamento por choque com biocidas na remoção e/ou formação de biofilmes**. 2002, 146p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Rio de Janeiro - RJ.
- HAMILTON, W. A. Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion. **Annual Review of Microbiology**, v. 39, p. 195-217, 1985.
- HUTTUNEN-SAARIVIRTA, E.; HONKANENA, M.; LEPISTÖA, T.; KUOKKALAA, V.-T.; KOIVISTOB, L.; BERG, C.-G. Microbiologically influenced corrosion (MIC) in stainless steel heat exchanger. **Applied Surface Science**, v. 258, p. 6512– 6526, 2012.
- ILHAN-SUNGUR, E.; CANSEVER, N.; COTUK, A. Microbial corrosion of galvanized steel by a freshwater strain of sulfate reducing bacteria (*Desulfovibrio sp.*). **Corrosion Science**, v. 49, p. 1097-1109, 2007.
- IVERSON, W. P. Microbial corrosion of metals. **Advances in Applied Microbiology**, v.32, p.1-36, 1987.
- JAVAHERDASHTI, R. **Microbiologically Influenced Corrosion: An Engineering Insight** – Engineering Materials and Processes. Austrália: Springer, 2008.
- JAVAHERDASHTI, R.; NIKRAZ, H.; BOROWITZKA, M.; MOHEIMANI, N.; OLIVIA, M. On the impact of algae on accelerating the biodeterioration/biocorrosion of reinforced concrete: A mechanistic review. **European Journal of Scientific Research**, v. 36, n. 3, p. 394-406, 2009.
- LANDOULSI, J.; COOKSEY, K. E.; DUPRES, V. Review – Interactions between diatoms and stainless steel: focus on biofouling and biocorrosion. **Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v. 27, n.10, p. 1105-1124, 2011.

- LANE, R. A. Under the Microscope: Understanding, Detecting, and Preventing. Microbiologically Influenced Corrosion. **The AMPTIAC Quarterly**, v. 9, n. 1, p. 1-27, 2005.
- LEAR, G.; DOPHEIDE, A.; ANCIÓN, P-Y, ROBERTS, K.; WASHINGTON, V., SMITH, J.; LEWIS, G. D. Biofilms in Freshwater: Their importance for the maintenance and monitoring of freshwater health. **Microbial Biofilms Current Research and Applications**. Gavin Lear and Gillian Lewis (Eds.). Caister Academic Press. Norfolk, UK, chapter 8., p. 129-152, 2012 .
- LEE, J. S.; RAY, R. I.; LITTLE, B. J. Lifetime predictions for carbon steel in natural fresh water. NACE International. In: **Corrosion Conference & Expo**, paper nº 11220, p. 1-7, 2011.
- LEWANDOWSKI, Z.; BOLTZ, J. P. **Biofilms in water and wastewater treatment**. In: Peter Wilderer (ed). Treatise on Water Science, Oxford: Academic Press; v. 4, p. 529-570, 2011.
- LEWANDOWSKI, Z.; STOODLEY, P. Flow induced vibrations, drag force, and pressure drop in conduits covered with biofilms. **Water Science and Technology**, v. 32, n. 8, p. 19-26, 1995.
- LITTLE, B. J.; LEE, J. S. **Microbiologically Influenced Corrosion**. New Jersey: R.Winston Revie, Series, 2007.
- LITTLE, B.; STAEHLE, R. Fungal influenced corrosion in post-tension structures. **The Electrochemical Society Interface**, Winter, p. 44-48, 2001.
- LITTLE, B.; WAGNER, P.; MANSFELD, F. An overview of microbiologically influenced corrosion. **Electrochimica Acta**, v. 37, n. 12, p. 2185-2194, 1992.
- LITTLE, B. J.; WAGNER, P. Myths related to microbiologically influenced corrosion. **Materials Performance**, v. 36, n. 6, p. 40-44, 1997.
- LOWRY, O.; ROSEBROUGH, N.; FARR, A.; RUNDALL, R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MALUCKOV, B. S. Corrosion of steel induced by microorganisms. **Association of Metallurgical Engineers of Serbia**, v. 18, n. 3, p. 223-231, 2012.
- MARANGONI, P. R. D. **Caracterização de biofilmes formados em superfícies metálicas e biocorrosão**. 2010, 103p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba-PR.
- MARCONNET, C.; DAGBERT, C.; ROY, M.; FÉRON, D. Stainless steel ennoblement in freshwater: From exposure test to mechanisms. **Corrosion Science**, v. 50, p. 2342-2352, 2008.

MARTELLI, H. L.; PANEK, A. D. **Bioquímica Experimental**. Rio de Janeiro: Editora Ao Livro Técnico S.A, 1968.

MATTÊA, D. W. C.; SANTOS, H. A.; CAMPOS, A. J. L. Tratamento químico da água dos sistemas abertos de resfriamento das unidades geradoras de hidreletricidade. In: **3º Simpósio de Especialistas em Operação de Centrais Hidrelétricas – SEPOCH**, 2002.

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

MOTA, K. D. **Microscopia de biofilmes em substrato metálico formado em sistemas estático e dinâmico na presença de fluido oleoso**. 2009, 128p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro PUC-Rio, Rio de Janeiro-RJ.

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

OBRECHT, M. F.; POURBAIX, M. Corrosion of metals in potable water systems. **Journal American Water Works Association**, v. 59, p. 977–992, 1967.

ODOKUMA, L.O.; UGBOMA, C. J. Microbial corrosion of steel coupons in a freshwater habitat in the Niger Delta. **Journal of Ecology and the Natural Environment**, v. 4, n. 2, p. 42-50, 2012.

OLIVEIRA, S. H. **Estudo da utilização da xantana e hipoclorito de sódio como estratégia para controle da biocorrosão**. 2010, 174p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE.

PEDERSEN, A.; KJELLEBERG, S; HERMANSSON, M. A screening method for bacterial corrosion of metals. **Journal of Microbiological Methods**, v. 8, p.191-198, 1988.

PENNA, M. O.; BAPTISTA, W.; BRITO, R. F.; SILVA, E. D.; NASCIMENTO, J. R.; COUTINHO, C. M. L. M. Sistema dinâmico para avaliação de técnicas de monitoração e controle da CIM. **Boletim Técnico da Petrobrás**, v.45, n.1, p.26-33, 2002.

PEREIRA, M. O. B. O. **Comparação da eficácia de dois biocidas (carbamato e glutaraldeído) em sistemas de biofilmes**. 2001, 234p. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) - Universidade do Minho, Uminho, Braga – Portugal.

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

RAO, T. S.; SAIRAM, T. N.; VISWANATHAN, B.; NAIR, K. V. K. Carbon steel corrosion by iron oxidising and sulphate reducing bacteria in a freshwater cooling system. **Corrosion Science**, v. 42, p. 1417-1431, 2000.

ROSSUM, J. R. Fundamentals of metallic corrosion in fresh water. **Roscoe Moss Company**, 2000.

SARIN, P.; SNOEYINK, V. L.; BEBEE, J.; KRIVEN, W. M.; CLEMENT, J. A. Physico-chemical characteristics of corrosion scales in old iron pipes. **Water Research**, v. 35, n. 12, p. 2961–2969, 2001.

SARIN, P.; SNOEYINK, V. L.; LYTLE, D. A.; KRIVEN, W. M. Iron corrosion scales: model for scale growth, iron release, and colored water formation). **Journal of Environmental Engineering**, v. 130, n. 4, p. 364-373, 2004.

SHENG, G-P.; YU, H-Q.; LI, X-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 882-894, 2010.

SIEGEL, S. M.; SIEGEL, B. Z.; CLARK, K. E. Bio-corrosion: solubilization and accumulation of metals by fungi. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 19, n. 3, p. 229-236, 1983.

SILVA, N.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, V. C.; SILVEIRA, N. F. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 2005.

SILVA, P. **Utilização de THPS e xantana como estratégia para o controle da corrosão microbiologicamente induzida**. 2011, 100p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, Recife-PE.

SIMÕES, M.; SIMÕES, L. C.; VIEIRA, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, p. 573-583, 2010.

SOUZA, E. A. **Avaliação de inibidores de corrosão para sistema de resfriamento industrial operando com ciclo elevado de concentração**. 2007, 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, Rio de Janeiro-RJ.

STAROSVETSKY, J.; STAROSVETSKY, D.; ARMON, R. Identification of microbiologically influenced corrosion (MIC) in industrial equipment failures. **Engineering Failure Analysis**, v. 14, p. 1500-1511, 2007.

SUTHERLAND, I. W. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. **Trends in Microbiology**, v. 9, p. 222-227, 2001.

TENG, F.; GUAN, Y.T.; ZHU, W.P. Effect of biofilm on cast iron pipe corrosion in drinking water distribution system: Corrosion scales characterization and microbial community structure investigation. ***Corrosion Science***, v. 50, p. 2816–2823, 2008.

TORRES, E. S. ***Potencialidade de pigs na remoção de biofilmes formados em dutos***. 2005. 108 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Rio de Janeiro-RJ.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. ***Microbiologia***. ArtMed Editora. Edição Universitária – 6ª Ed., 2000.

UKPAKA, C. P.; AMADI, S. A.; AHUCHOGU, I. G.; ODHARO, J. Modelling the rate of biocorrosion and the effects of redox-reactions of metals in water environment. ***Journal of Engineering and Technology Research***, v. 3, n. 13, p. 371-380, 2011.

VIANA, M. G. ***Avaliação de naturais sobre biofilmes formados em sistema dinâmico***. 2009, 133p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Petróleo) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal-RN.

VIDELA, H.A. ***Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais***. 1. ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2003.

VIDELA, H. A. Metal dissolution/redox in biofilms. In: Characklis W. G., Wilderer, P. A. (eds) ***Structure and function of biofilms***. John Wiley, Chichester, UK, p.301-320, 1989.

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

VIDELA, H. A.; HERRERA, L. K. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. ***International Microbiology***, v. 8, n. 3, p. 169-180, 2005.

WANG, H.; HU, C.; HU, X.; YANG, M.; QU, J. Effects of disinfectant and biofilm on the corrosion of cast iron pipes in a reclaimed water distribution system. ***Water Research***, n. 46, p. 1070-1078, 2012.

WIMPENNY, J. Ecological determinants of biofilm formation. ***Biofouling***, v. 10, n. 1-3, p. 43-63, 1996.

WIMPENNY, J. An overview of biofilms as functional communities. In: ***SGM Symposium 59: Community Structure and Cooperation in Biofilms*** (Allison, D.G.; Gilbert, P.; Lappin-Scott, H. M.; Wilson, M. eds), p. 1–24, Cambridge University Press, 2000.

WINGENDER, J.; STRATHMANN, M.; RODE, A.; LEIS, A.; FLEMMING, H.-C. Isolation and biochemical characterization of extracellular polymeric substances from *Pseudomonas aeruginosa*. ***Methods in Enzymology***, v. 336, p. 302–314, 2001.

WOOD, T. K.; HONG, S. H.; MA, Q. Engineering biofilm formation and dispersal. ***Trends in Biotechnology***, v. 29, n. 2, p. 87-94, 2011.

YUAN, S. J.; CHOONG, A. M. F.; PEHKONEN, S. O. A influence of the marine aerobic *Pseudomonas* strain on the corrosion of 70/30 Cu-Ni alloy. ***Corrosion Science***, v. 49, p. 4352-4385, 2007.