



**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Tecnologia e Geociências
Departamento de Engenharia Mecânica**

**BIOCORROSÃO: SINERGISMO MICROBIANO E
INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS DE CORROSÃO E
PROPRIEDADES MECÂNICAS DO AÇO CARBONO AISI
1010**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação do departamento de Engenharia mecânica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de mestre.

Autora: Edivânia Souza de Lima
Orientadores: Prof. Dr. Severino Leopoldino Urtiga Filho
Prof^ª. Dr^ª. Maria Alice Gomes de Andrade Lima

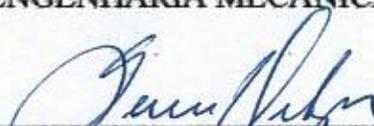
Recife-PE
Novembro, 2010

**“BIOCORROSÃO: SINERGISMO MICROBIANO E INFLUÊNCIA NAS
CARACTERÍSTICAS DE CORROSÃO E PROPRIEDADES MECÂNICAS DO AÇO
CARBONO AISI1010”.**

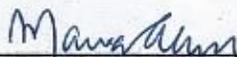
EDIVÂNIA SOUZA DE LIMA

**ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM ENGENHARIA MECÂNICA**

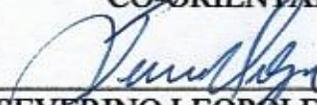
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MATERIAIS E FABRICAÇÃO
APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA/CTG/EEP/UFPE**



**Prof. Dr. SEVERINO LEOPOLDINO URTIGA FILHO
ORIENTADOR/PRESIDENTE**

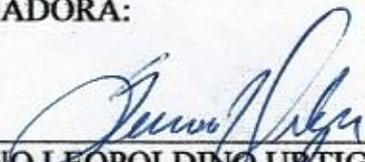


**Prof.^a Dr.^a MARIA ALICE GOMES DE ANDRADE LIMA
CO-ORIENTADORA**

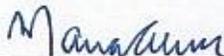


**Prof. Dr. SEVERINO LEOPOLDINO URTIGA FILHO
COORDENADOR DO CURSO**

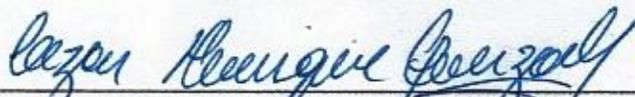
BANCA EXAMINADORA:



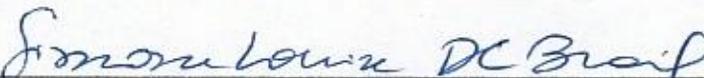
Prof. Dr. SEVERINO LEOPOLDINO URTIGA FILHO (UFPE)



Prof.^a Dr.^a MARIA ALICE GOMES DE ANDRADE LIMA (UFPE)



Prof. Dr. CEZAR HENRIQUE GONZALEZ (UFPE)



Prof.^a Dr.^a SIMONE LOUISE DELARUE CEZAR BRASIL (UFRJ)

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na fonte
Bibliotecária Rosineide Mesquita Gonçalves Luz / CRB4-1361 (BCTG)

L732b Lima, Edivânia Souza de.

Biocorrosão: sinergismo microbiano e influência nas características de corrosão e propriedades mecânicas do Aço Carbono AISI 1010 / Edivânia Souza de Lima. - Recife: O Autor, 2011.

xiii, 61f., il., figs., gráfs.; tabs.

Orientadores: Prof. Dr. Severino Leopoldino Urtiga Filho.
Prof. Dr. Maria Alice Gomes de Andrade Lima.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, 2011.

Inclui Referências Bibliográficas e Anexos.

1. Engenharia Mecânica. 2. Biocorrosão. 3. Taxa de corrosão. 4. Bactérias redutoras de Sulfato. 5. Bactérias oxidantes de Ferro. 6. Aço Carbono AISI 1010. I. Urtiga Filho, Severino Leopoldino. II. Lima, Maria Alice Gomes de Andrade. III. Título.

621 CDD (22.ed)

UFPE/BCTG-042/2011

*Aos meus pais, Arlindo Macário e Terezinha,
que acreditaram em mim.
Ao meu marido Emílio e nosso filho Pedrinho,
que são o meu combustível.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Jesus, o Alfa e o Ômega, autor e consumidor da minha fé;

Aos meus pais, que me deram todo apoio e coragem;

Ao meu marido, Emílio, por segurar “a barra” enquanto eu estudo;

À minha tia, Itamar por acreditar em mim;

Ao meu filhinho, Pedro Emílio, que é minha fonte de inspiração;

Ao professor, Dr. Severino Urtiga, pelo incentivo ao conhecimento;

À professora, Dra. Maria Alice, por me proporcionar mais uma conquista;

À Sara, pela ajuda e transmissão de conhecimento;

A toda equipe de biocorrosão, Virginia, Edikarla, Pulkra, Germana, Jéssica, Marcos e Guga;

À Ceça e Márcia, amigas e auxiliadoras de todas as horas;

À professora Dra. Olga pela sua disposição em ajudar;

A Diniz, Por seu apoio em toda parte mecânica;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação da Engenharia Mecânica;

A todas as professoras do Laboratório de Microbiologia por todo empenho em nos ensinar o melhor.

A CAPES, à FACEPE e à Termopernambuco, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Neste trabalho foi avaliada a influência das bactérias redutoras de sulfato e bactérias oxidantes de ferro, isoladamente e em consórcio, na corrosão em corpos de prova de aço carbono AISI 1010 em presença de água do mar estéril enriquecida com nutrientes. Para tanto, foram conduzidos ensaios em biorreatores aeróbios e anaeróbios nos quais foram expostos corpos de prova com formato apropriado para testes de tração, também usados para cálculos de perdas de massa e análise de proteínas e carboidratos, e corpos de prova com forma retangular, para observação em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os micro-organismos consistiram de uma cultura mista de bactérias redutoras de sulfato (BRS), gentilmente cedida pela UFRJ, e uma cultura de bactérias oxidantes de ferro (BOF), obtida a partir de cultivo, em meio de citrato férrico amoniacal, de amostra de água do mar coletada na praia de Boa Viagem Recife-PE. Os micro-organismos foram inoculados de maneira a estabelecer uma concentração inicial de 10^{10} NMP/mL em cada sistema. Os experimentos foram conduzidos à temperatura ambiente e ao final de cada período proposto para os ensaios 14, 28 e 42 dias, foram realizadas as quantificações de bactérias aderidas às superfícies metálicas e a determinação das respectivas perdas de massa sofridas pelos cupons. A observação dos filmes formados nas superfícies submersas através de MEV foi realizada após o período de 28 dias de imersão e os testes de tração e a caracterização bioquímica do biofilme após o período de 42 dias. Os resultados mostraram que houve perda de massa crescente nos corpos de prova em todas as condições de estudo e uma taxa de corrosão decrescente na maioria dos sistemas, exceto para aquele contendo BRS e BOF em consórcio o qual apresentou um crescimento linear na taxa de corrosão no período considerado. Quanto aos ensaios de tração o aço apresentou aos 42 dias uma queda no limite de resistência, sendo essa variação mais significativa nos corpos de prova imersos no sistema contendo os micro-organismos associados. A análise dos resultados mostrou que há uma relação direta entre o consórcio microbiano BRS e BOF, e a intensificação na taxa de corrosão e perda de propriedades em corpos de prova de aço carbono AISI 1010, nas condições estudadas.

Palavras-chave: Aço carbono AISI 1010, Bactérias Redutoras de Sulfato, Bactérias oxidantes de ferro, Consórcio microbiano, Taxa de corrosão.

ABSTRACT

This work evaluated the influence of sulphate-reducing bacteria (SRB) and iron oxidizing bacteria (IOB), alone and in consortia, in corrosion test specimens of carbon steel AISI SAE 1010 in the presence of sterile seawater enriched with nutrients. For this, experiments were conducted in aerobic and anaerobic bioreactors in which specimens were exposed to appropriate format for tensile tests, also used for calculations of mass loss and estimation of carbohydrates and proteins, and specimens with a rectangular shape, for observation under a scanning electron microscope (SEM). The microorganisms consisted of a mixed culture of sulphate-reducing bacteria (SRB), courtesy of UFRJ, and a culture of iron oxidizing bacteria (IOB), obtained from crops in the midst of ammonium ferric citrate, sample of seawater collected at Boa Viagem beach Recife-PE. The micro-organisms were inoculated in order to establish an initial concentration of 10¹⁰ MPN / ml for each system. The experiments were conducted at room temperature and at the end of each period proposed for tests 14, 28 and 42 days, were made the quantification of bacteria attached to metal surfaces and determining their mass losses suffered by the coupons. The observation of films formed on the submerged surfaces by SEM was performed after 28 days of immersion and the tensile testing and biochemical analysis of films after a period of 42 days. The results showed that weight loss increased in the specimens under all conditions of study and a corrosion rate decreasing in most systems, except for those containing SRB and IOB in a consortium which showed a linear increase in the rate of corrosion period. As for the steel tensile tests at 42 days showed a decrease in yield strength, this variation being more significant in the specimens immersed in the system containing micro-organisms associated. The results showed that there is a direct relationship between BRS and IOB microbial consortium, and the intensification of the corrosion rate and loss of properties in specimens of carbon steel AISI SAE 1010, under the conditions studied.

Keywords: Carbon steel AISI 1010, Sulfate-Reducing Bacteria, Iron Oxidizing Bacteria, microbial consortium, the corrosion rate.

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 2.1- Curvas representativas de processos corrosivos.....	11
Figura 2.2 - biofilme formado por BOF sobre a superfície aço (a); células de BOF sobre superfície (b).....	14
Figura 2.3 - Bioquímica da redução do sulfato	16
Figura 2.4 - Microscopia de força atômica (MFA) mostrando a presença de BRS na superfície do aço (a); pites de corrosão na mesma superfície(b)	18
Figura 2.5 - Consórcio microbiano no interior do biofilme	22
Figura 3.1 - Corpo de prova utilizado nos ensaios	24
Figura 3.2 - BOF em agar citrato férrico amoniacal(a); Coloração de Gram das bactérias oxidantes do ferro(b).	25
Figura 3.3 - BRS em meio Postgate E modificado (a);Coloração de Gram das bactérias redutoras de sulfato (b).	25
Figura 3.4 - Biorreator.....	26
Figura 3.5 - Retirada dos corpos de prova	28
Figura 3.6 - Meio (a) negativo para BRS; meio (b) positivo para BRS.....	29
Figura 3.7 - Meio (a) positivo para BOF; meio (b) sem inóculo.....	30
Figura 4.1- Sistema contendo BOF em água do mar (a); superfície do cupom exposto à BOF em água do mar (b).....	34
Figura 4.2 - Colonização da superfície do upom de aço carbono AISI 1010 por BOF.....	35
Figura 4.3 - Sistema contendo BRS (a); superfície do cupom recoberta por biofilme (b) ...	36
Figura 4.4 - Quantificação da BRS na superfície do cupom em água do mar.....	37
Figura 4.5 - Sistema contendo BRS e BOF associadas.....	38

Figura 4.6 - Quantificação da superfície do aço por BRS e BOF associadas.....	39
Figura 4.7 - Perdas de massa dos cupons, nas diferentes condições estudadas.....	41
Figura 4.8-Representação gráfica da taxa de corrosão em função do tempo	43
Figura 4.9 - MEV das superfícies dos corpos de prova expostos em água do mar estéril no período de 28 dias: aumento de 3.000(a) e 30.000X(b).	44
Figura 4.10 - MEV da superfície dos corpos de prova expostos em água do mar em presença de BOF no período de 28 dias (aumento de 3.000 e 30.000X).....	45
Figura 4.11- MEV da superfície dos corpos de prova expostos em água do mar em presença de BRS no período de 28 dias (aumento de 3.000 e 30.000X)..	45
Figura 4.12 - MEV da superfície dos corpos de prova expostos em água do mar em presença de BRS e BOF associadas, no período de 28 dias	46
Figura 4.13 - Representação gráfica do limite de resistência dos corpos de prova expostos aos respectivos sistemas após o período de 42 dias.....	47
Figura 4.14 - Representação gráfica do limite de escoamento dos corpos de prova expostos aos respectivos sistemas após o período de 42 dias.....	48
Figura 4.15 - Representação gráfica da deformação dos corpos de prova expostos aos respectivos sistemas após o período de 42 dias	49

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 2.1 - Classificação da taxa de corrosão.....	10
Tabela 3.1 - Composição química dos corpos de prova	24
Tabela 3.2 - Composição da solução redutora	28
Tabela 3.3 - Composição do meio postgate E modificado.	19
Tabela 3.4 - Composição do meio citrato férrico amoniacal	20
Tabela 4.1 - Caracterização bioquímica do biofilme	40
Tabela 4.2 - Taxa de corrosão e classificação do processo corrosivo	42
Tabela 8.1 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono no estado padrão	60
Tabela 8.2 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono exposta a água do mar estéril	60
Tabela 8.3 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova exposto a água do mar contendo BOF	60
Tabela 8.4 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova exposto a água do mar contendo BRS	61
Tabela 8.5 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova exposto a água do mar contendo BOF+ BRS.	61

ABREVIACÃO E SIMBOLOGIAS

ABO - Sistema abiótico.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas.

AISI - *American Iron and Steel Institute* (Instituto Americano de Ferro e Aço).

ASTM - *American Standardization of Testing and Methods* (Normalização Americana de Testes e Métodos).

BRS - Bactérias redutoras de sulfato.

BOF - Bactérias oxidantes de ferro.

BTD- Tração com baixa taxa de deformação.

CMI- Corrosão microbiologicamente induzida.

CST- Corrosão sob tensão.

EDS- Espectro de energia dispersiva.

EPS- Substâncias poliméricas extracelulares.

MFA-Microscopia de força atômica.

NBR - Norma Brasileira

SAE - *Society of Automotive Engineers* (Sociedade dos Engenheiros Automotivos)

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
ABREVIATURAS E SIMBOLOGIAS	x
1. INTRDUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1. INTRDUÇÃO	2
1.2. OBJETIVOS	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. CORROSÃO	5
2.2. FORMAS DE CORROSÃO	6
2.3. CORROSÃO ASSOCIADA A SOLICITAÇÕES MECÂNICAS	7
2.4. ENSAIO DE COROSÃO SOB TENSÃO	9
2.5. ENSAIO DE CORROSÃO POR PERDA DE MASSA	10
2.6. CORROSÃO MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA	11
2.7. MICRO-ORGANISMOS RELACIONADOS COM A CORROSÃO	12
2.7.1. Bactérias oxidantes do enxofre.....	12
2.7.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13

2.7.3. Bactérias oxidantes de ferro.....	13
2.7.4. Bactérias redutoras de sulfatos (BRS).....	14
2.8. MECANISMOS DE CORROSÃO MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA	18
2.8.1. Corrosão devido a formação de ácidos.....	18
2.8.2. Corrosão devido a despolarização catódica	19
2.8.3. Corrosão por aeração diferencial	19
2.8.4. Corrosão por ação conjunta de bactérias	19
2.9. BIOCORROSÃO EM ÁGUA DO MAR.....	20
2.10. BIOFILME	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1. CORPOS DE PROVA.....	24
3.2. MICRO-ORGANISMOS.	25
3.3. FLUIDO DO PROCESSO.....	26
3.4. SISTEMAS ESTÁTICOS	26
3.5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	27
3.6. QUANTIFICAÇÃO CELULAR	28
3.6.1. Quantificação das BRS.....	29
3.6.2. Quantificação das BOF.....	30
3.7. CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS BIOFILMES NOS CUPONS	31
3.7.1. Análise de carboidratos	31
3.7.2. Análise de proteínas	31
3.8. PERDA DE MASSA E TAXA DE CORROSÃO	31
3.8. ANÁLISES DAS SUPERFÍCIES DOS CUPONS.....	32
3.10. ENSAIOS DE TRAÇÃO.....	32

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO	34
4.2. CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS BIOFILMES	39
4.3. PERDA DE MASSA DOS CUPONS DE AÇO CARBONO	41
4.4. TAXA DE CORROSÃO	42
4.5. ANÁLISES DAS SUPERFÍCIES DOS CUPONS	44
4.6. ENSAIOS DE TRAÇÃO	47
5. CONCLUSÕES	50
6. TRABALHOS FUTUROS	52
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
8. ANEXOS	60

1. Introdução e Objetivos

1.1. INTRODUÇÃO

Os problemas de corrosão são freqüentes e ocorrem nas mais variadas atividades. A corrosão é em geral, um processo espontâneo que modifica os materiais metálicos alterando a durabilidade e desempenho dos mesmos. A interação dos materiais utilizados na construção de equipamentos com o ambiente a que estão expostos em serviço provoca, com freqüência, sua degradação, a qual pode tornar-se ainda mais severa se houver uma associação do meio corrosivo com solicitações mecânicas. Os processos corrosivos ocorrem de diferentes formas e o seu conhecimento é de extrema importância para que se possam minimizar as suas conseqüências. Quando a corrosão se processa uniformemente, ensaios de perda de massa podem dar uma indicação da taxa de corrosão e através da cinética da corrosão é possível estimar o tempo de vida útil do equipamento ou estrutura.

Quando a corrosão das superfícies metálicas ocorre em presença de micro-organismos ela é denominada de corrosão microbiologicamente induzida (CMI) ou biocorrosão. Muita investigação tem incidido sobre a corrosão microbiologicamente induzida de metais e ligas no ambiente marinho. Alguns micro-organismos têm sido relatados como aceleradores do processo corrosivo em metais submersos, enquanto outros são apresentados como retardadores deste mesmo processo.

O fator principal para a corrosão microbiologicamente induzida é a formação de biofilme sobre a superfície. Os micro-organismos se aderem às superfícies e formam um consórcio bem estruturado onde vários grupos microbianos podem ser encontrados, podendo, através de sua atividade metabólica, influenciar severamente o processo corrosivo, que é resultado, muitas vezes, da sinergia entre a superfície do metal, produtos abióticos de corrosão, células bacterianas e seus metabólitos.

Vários estudos têm se focado na importância do consórcio microbiano nos processos de biocorrosão, principalmente na combinação entre micro-organismos aeróbios e anaeróbios. Os micro-organismos aeróbios, através do seu metabolismo, criam regiões com aeração diferencial propiciando o desenvolvimento dos anaeróbios como as bactérias redutoras de sulfato (BRS) podendo ocasionar corrosão por aeração diferencial.

Dentre os micro-organismos causadores de aeração diferencial podem-se destacar as bactérias oxidantes de ferro (BOF), que oxidam o íon ferroso a íon férrico no seu metabolismo e através desse processo de oxidação, promovem a formação de óxidos e hidróxidos de ferro, que por serem insolúveis, precipitam sobre superfícies podendo ficar aderidos na forma de tubérculos criando condições para a corrosão por aeração diferencial, e ainda criam condições para o desenvolvimento de bactérias anaeróbias embaixo dos tubérculos como as bactérias redutoras de sulfato.

As BRS são consideradas os principais micro-organismos anaeróbios envolvidos nos casos de corrosão (JAVAHERDASHTI, 1999). As BRS reduzem o íon sulfato ocasionando a produção de sulfetos, bissulfetos e gás sulfídrico (H_2S), potenciais agentes da corrosão anaeróbia do ferro (GONZÁLEZ *et al.*, 1998).

O aço carbono AISI 1010 é bastante utilizado para serviço de água de resfriamento em indústrias químicas, petroquímicas de energia e indústrias de utilidade. Nesse contexto é importante o estudo do sinergismo microbiano na corrosão do aço carbono em presença de

bactérias redutoras de sulfato e bactérias oxidantes de ferro uma vez que esses micro-organismos estão presentes nesses ambientes e estão relacionados com a corrosão microbiologicamente induzida.

1.2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência das bactérias redutoras de sulfato e das bactérias oxidantes de ferro, separadamente e em consórcio na taxa de corrosão em cupons de aço carbono AISI 1010, em presença de água do mar enriquecida com nutrientes. Para isso foram adotados os seguintes objetivos específicos:

- ✓ Isolar a bactéria oxidante de ferro a partir de amostras de água do mar;
- ✓ Preparar os corpos de prova de aço carbono AISI 1010;
- ✓ Preparação de biorreatores aeróbios e anaeróbios;
- ✓ Quantificação de bactérias redutoras de sulfato e oxidantes de ferro para inoculação nos sistemas;
- ✓ Estudo da biocorrosão em presença dos micro-organismos, usando corpos de prova de aço carbono em sistema estático;
- ✓ Determinação da perda de massa e taxa de corrosão dos corpos de prova após cada período de exposição;
- ✓ Observação das superfícies recobertas por biofilme através do MEV;
- ✓ Caracterização bioquímica dos biofilmes;
- ✓ Ensaios de tração nos corpos de prova após período de exposição.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. CORROSÃO

Pode-se definir corrosão como a deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química e/ou eletroquímica do meio ambiente aliada ou não a esforços mecânicos. Sendo a corrosão, em geral, um processo espontâneo, está constantemente transformando os materiais metálicos de modo que a durabilidade e desempenho dos mesmos deixam de satisfazer os fins a que se destinam (GENTIL, 2007).

A corrosão como uma importante forma de deterioração prejudica a integridade dos equipamentos e instalações e, desta maneira, tem impacto direto na confiabilidade (NUNES, 2007).

Os metais são geralmente encontrados na natureza sob a forma de compostos, com exceção de alguns metais nobres que podem ocorrer no estado elementar, sendo comuns as ocorrências de óxidos e sulfetos metálicos. Os compostos por possuírem energia livre menor que os metais são relativamente estáveis. Assim, os metais tendem a reagir espontaneamente com os líquidos e gases do meio ambiente em que são colocados, ou seja, o metal tende a retornar a sua condição de maior estabilidade (GENTIL, 2007).

As reações de corrosão são do tipo redox espontâneas nas quais um metal é atacado por alguma substância no seu ambiente e é convertido em um composto não desejado. Para quase todos os metais, a oxidação é um processo termodinamicamente favorável no ar à temperatura ambiente. Quando o processo de oxidação não é inibido e alguma forma, ele pode ser muito destrutivo (BROWN, 2005).

Nos processos eletroquímicos, observados nos metais, os elétrons são cedidos em determinada região e recebidos em outra, aparecendo uma pilha de corrosão sendo mais intensa quanto menor for o pH e quanto maior for a concentração do oxigênio. Esse processo é observado sempre que existir heterogeneidade no sistema material metálico-meio corrosivo, pois a diferença de potencial resultante possibilita a formação de áreas anódicas e catódicas. Enquanto que no mecanismo químico, há reações químicas diretas entre o material metálico e o meio corrosivo não havendo geração de corrente elétrica (GENTIL 2007).

A importância da corrosão está intimamente ligada ao seu custo. Segundo avaliação feita nos Estados Unidos pela “Batele Fondation e Specialty Stel Industry America”, estima-se que os prejuízos causados pela corrosão metálica são da ordem de 300 bilhões de dólares por ano e calcula-se que um terço desse valor poderia ser economizado com o uso de materiais mais resistentes à corrosão e pela utilização de técnicas mais adequadas de combate à corrosão (VIDELA, 2003).

No Brasil, embora não haja levantamentos específicos, é comum adotar-se o índice de 3,5% do Produto Interno Bruto como o gasto com corrosão, o que corresponderia a cerca de R\$ 45 milhões (NUNES, 2007).

2.2. FORMAS DE CORROSÃO

A corrosão pode ocorrer sob diferentes formas, e o conhecimento das mesmas é muito importante no estudo dos processos corrosivos. Segundo Gentil (2007), a caracterização das diferentes formas de corrosão pode ser classificada da seguinte maneira:

Uniforme: a corrosão se processa em toda a extensão da superfície, ocorrendo perda de espessura em todo o material.

Por Placas: a corrosão se localiza em regiões da superfície, formando placas com escavações.

Alveolar: formação de cavidades de fundo arredondado e profundidade geralmente menor que o diâmetro.

Puntiforme ou por Pite: ataque localizado de pequenas regiões na superfície, formando cavidades cujo diâmetro é menor do que sua profundidade. Estas cavidades podem ser preenchidas ou não com produtos de corrosão e podem penetrar o metal totalmente. A velocidade de formação do pite é elevada ao início do processo, reduzindo com o tempo. Está geralmente associada à presença de películas de recobrimento, ou seja, a metais ou ligas com camada de passivação (ex: Al e aço inox). A presença de íons agressivos, como cloreto, favorece este tipo de ataque. A corrosão por pites pode ser controlada através de variações nas condições da solução, como através de agitação apropriada, visto ser mais freqüente este ataque em soluções estagnadas. O potencial eletroquímico do metal pode ser mantido abaixo do valor a partir do qual o pite se manifesta o que pode ser alcançado mediante uso de inibidores de corrosão. O uso de revestimentos protetores pode ser ainda um método eficaz de prevenção de pites.

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

Transgranular: ocorre nos grãos da rede cristalina do material metálico com perda de propriedades mecânicas, podendo o material sofrer fratura sob pequena sollicitação mecânica, tendo-se também corrosão sob tensão.

Filiforme: a corrosão se processa sob a forma de finos filamentos, mas não profundos, que se propaga em diferentes direções e que não se ultrapassam. Ocorre geralmente em frestas de superfícies esmaltadas ou envernizadas, expostas à atmosfera.

Esfoliação: ocorre em chapas extrudadas, paralelamente à superfície do metal. O produto da corrosão provoca separação de diferentes camadas do metal.

Corrosão gráfitica: ocorre em ferro fundido cinzento, composto por grande teor de carbono (> 2%), sendo o ferro atacado preferencialmente ao grafite. Este processo é lento, a não ser em ambiente agressivo, e ocorre à temperatura ambiente.

Dezinsificação: ocorrem em ligas de cobre-zinco, na presença de cloreto, temperaturas elevadas, frestas e depósitos sobre a superfície. O Zn, anódico em relação ao restante da liga, é oxidado tornando a liga vermelha, contrastando com o amarelado original

do latão. O ataque pode ser uniforme ou localizado e a parte dezinsificada é porosa, frágil e permeável.

Empolamento pelo hidrogênio: o hidrogênio atômico penetra no material metálico difundindo-se rapidamente, devido ao seu pequeno tamanho, em regiões com descontinuidades e inclusões. Sua união com outro hidrogênio atômico gera hidrogênio molecular que, por sua maior dimensão, provoca bolhas e empolamentos no material.

Em torno do cordão de solda: ocorre em aços inoxidáveis não-estabilizados ou com teores de carbono maiores que 0,03%, e a corrosão se processa intergranularmente.

2.3. CORROSÃO ASSOCIADA A SOLICITAÇÕES MECÂNICAS

A corrosão pode se tornar um processo ainda mais danoso quando à agressividade do meio, soma-se a presença de esforços mecânicos. Dentro desta categoria, cita-se: corrosão-fadiga, corrosão-erosão, corrosão por atrito e fragilização pelo hidrogênio e corrosão sob tensão (GENTIL, 2007).

Corrosão sob fadiga: esforços cíclicos associados a um meio corrosivo podem levar à fratura de componentes metálicos em um tempo inferior ao relacionado a apenas um desses fatores. Usualmente, as falhas por fadiga ocorrem a níveis de tensão abaixo do limite de escoamento do material e após muitas aplicações de tensão. As ligas sujeitas a este ataque são aquelas que têm uma camada protetora, rompida durante a propagação da trinca.

As curvas de Woller obtidas em laboratório evidenciam que praticamente não há um limite de resistência à fadiga se os corpos de prova também estiverem sujeitos à corrosão no curso do ensaio (ABM, 1971).

Erosão-Corrosão: ocorre devido ao movimento relativo de um fluido, onde há perda de material por ação mecânica. A presença de filme de passivação sobre um metal ou liga, protege a superfície deste tipo de ataque até que haja um rompimento do filme. A velocidade de formação, a resistência e a capacidade de recomposição do filme determinam sua capacidade de proteção. Geralmente, duas formas de corrosão são associadas a este processo, cavitação e impingimento. A cavitação é uma forma de corrosão-erosão associada ao colapso de bolhas de vapores em líquidos, próximo à superfície metálica. O *impingimento* é atribuído à colisão do fluido com a superfície metálica, em alta velocidade.

Corrosão por atrito: o dano é causado em pontos de contato entre duas superfícies metálicas, sujeitas a movimentos de vibração, com remoção de fragmentos do metal. Este tipo de corrosão tem, geralmente, a forma de pites envolvido pelos produtos de oxidação do metal, e tem sido observado em componentes de motores. O desgaste por atrito depende da atmosfera, temperatura, carga e frequência de oscilação. A redução da carga e o uso de lubrificantes adequados são meios de se minimizar este processo corrosivo.

Fragilização causada pelo hidrogênio: é um dano decorrente da incorporação e retenção de hidrogênio, acima de certo nível tolerado, que gera altíssimas tensões internas e diminui catastroficamente, sobretudo a capacidade de deformação. A fragilização em

estudo independe da origem do hidrogênio. Necessário é que o mesmo esteja dissociado. Existem muitas fontes de hidrogênio atômico: vapor de água em atmosferas a altíssimas temperaturas, processos de corrosão eletroquímica do tipo hidrogênio, processos de preparo de superfície metálica, eletrólise, etc. (ABM, 1971).

Outra importante fonte de hidrogênio está em ambientes que contenham gás sulfídrico (H_2S). O gás sulfídrico dissolvido em água forma uma solução fracamente dissociada. A dissociação se processa em duas etapas, formando íons de hidrogênio e de enxofre:



Esta reação reage com ferro, mesmo à temperatura ambiente, originando o hidrogênio atômico e sulfeto de ferro (ABM, 1971):



Corrosão sob tensão (CST): tem-se a deterioração de materiais devido à ação combinada de tensões residuais ou aplicadas e meios corrosivos. Quando se observa a fratura dos materiais, ela é chamada de corrosão sob tensão fraturante (*stress corrosion cracking*). Há uma ação sinérgica da tensão e do meio em determinados materiais quando tensionados em certos ambientes, sob condições tais que nem a sollicitação mecânica nem a corrosão ambiente isoladamente conduziram a fratura. É o ataque de região inter ou intragranular devido ao efeito simultâneo de tensões constantes de tração, em presença de meio corrosivo. Fatores metalúrgicos como orientação de grãos, composição e distribuição de precipitados influenciam no processo. Inicialmente é visto como um pite que, ao reduzir área da seção transversal, aumenta a tensão à qual o material está sujeito. Conseqüentemente, a velocidade de propagação da trinca originada aumenta até a ruptura do material. Alguns metais ou ligas são sujeitas a este tipo de corrosão em determinados meios. Por exemplo, aço inoxidável sofre CST em meio de ácido sulfídrico (H_2S) e cloreto (Cl^-), ligas de alumínio em meios com cloreto e ligas de cobre na presença de amônia e aminas.

Na corrosão sob tensão, um fator muito importante a ser considerado é a permeação de hidrogênio intergranular. Gonzalez e Fionova (1998) tentaram chegar a um melhor conhecimento sobre os mecanismos de propagação de trincas por CST em reatores nucleares de água pressurizada. Observaram que a propagação de trincas é significativamente aumentada dependendo da situação ambiental, que pode determinar o mecanismo das fraturas trans e intergranulares.

O processo corrosivo depende da combinação entre propriedades do metal e do meio ao qual está exposto. Portanto, não existe um ensaio universal de corrosão para todos os propósitos. Os fatos associados tanto ao metal quanto ao meio devem ser considerados e controlados para que se estabeleçam as condições apropriadas de exposição durante os testes.

2.4. ENSAIO DE CORROSÃO SOB TENSÃO

Ensaio têm sido adotados a fim de se comparar observações de laboratório com a prática. A maioria é conduzida em situações de corrosão muito severas, servindo assim para se ter uma idéia da situação real não sendo, portanto um parâmetro definitivo para a aplicação ou não do material em determinadas condições. Ferreira e Ponciano (2002) realizaram ensaios de tração sob baixa taxa de deformação (BTD) em corpos de prova de Aço API C110 imersos em soluções contendo NaCl e em solução da NACE TM 0177 com saturação de H₂S. O material mostrou perda significativa de tenacidade e plasticidade nos ensaios de tração sob BTD realizados na solução da NACE TM 0177. Porém concluíram que estes resultados não comprometem a utilização do material em meios contendo H₂S, pois a solução da NACE é muito mais agressiva do que as condições existentes no campo.

Um dos ensaios mecânicos mais comuns é executado sob tração. A facilidade de execução e a reprodutibilidade dos resultados tornam esse ensaio um dos mais importantes. Podem-se avaliar diversas propriedades dos materiais que são importantes em qualquer projeto mecânico (CALLISTER, 2002).

Este tipo de ensaio utiliza corpos de prova preparados segundo as normas técnicas convencionais (no Brasil, a norma utilizada é a NBR-6152, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e consiste na aplicação gradativa de carga de tração uniaxial às extremidades do corpo (GARCIA, 2000). As deformações promovidas no material são uniformemente distribuídas, pelo menos até ser atingida uma força máxima próxima do final do ensaio. A uniformidade da deformação permite ainda obter medições precisas da variação desta em função da tensão aplicada. Essa variação é determinada pelo traçado da curva tensão versus deformação, a qual pode ser obtida diretamente pela máquina ou por pontos (SOUZA, 1982)

Trata-se de um ensaio amplamente utilizado na indústria de componentes mecânicos, devido às vantagens de fornecer dados quantitativos das características mecânicas dos materiais. Entre as principais destacam-se: limite de resistência à tração (σ_u), limite de escoamento (σ_e), módulo de elasticidade (E), módulo de resiliência (U_r), módulo de tenacidade (U_t), ductilidade, coeficiente de encruamento (n) e coeficiente de resistência (k). Os resultados fornecidos por este ensaio são fortemente influenciados pela temperatura, pela velocidade de deformação, pela anisotropia do material, pelo tamanho do grão, pela porcentagem de impurezas e também pelas condições ambientais (GARCIA, 2000).

A porcentagem de carbono nos aços e, conseqüentemente, a variação de micro constituintes presentes na microestrutura têm influência significativa sobre propriedades mecânicas tais como à tração e o alongamento. Para todos os materiais, em particular para os metais, as principais variáveis externas que afetam o comportamento durante a deformação e, conseqüentemente, as características da fratura são: temperatura, presença de entalhes favorecendo a formação de uma região de concentração de tensão, triaxialidade de tensões e altas taxas de deformação, além da agressividade do meio ambiente (GARCIA, 2000).

2.5. ENSAIO DE CORROSÃO POR PERDA DE MASSA

O ensaio por perda de massa é o ensaio de imersão em laboratório, no qual é feita uma medida da diferença entre a massa original de um corpo de prova e sua massa após a exposição ao meio corrosivo. A taxa de corrosão uniforme (TC), usualmente expressa em mm/ano, pode ser calculada a partir dos dados de perda de massa através da relação (NACE RP 0775, 2005):

$$TC = 3,65 \times 10^5 \frac{\Delta M}{S.t.\rho} \quad \text{Eq.4}$$

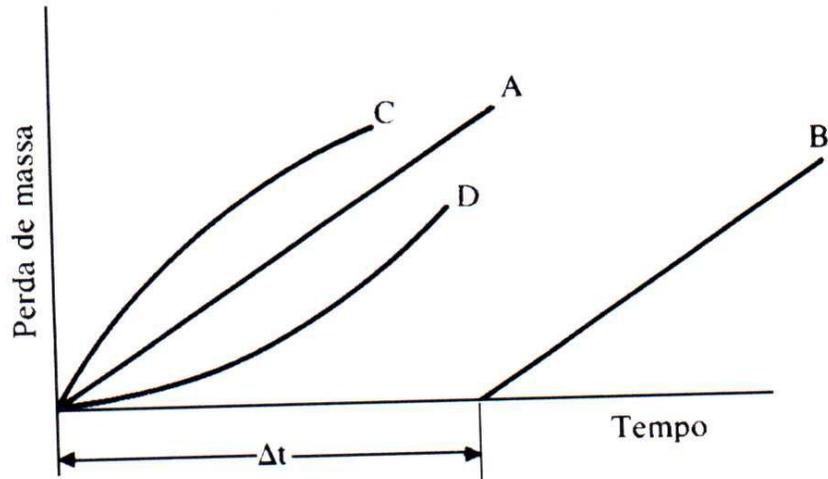
Onde ΔM , a diferença de massa antes e após a exposição ao meio corrosivo, é dada em g; S é a área exposta do corpo de prova, dada em mm^2 ; t é o tempo de exposição em dias; ρ , a massa específica do material do corpo de prova, em g.cm^{-3} .

Segundo a norma NACE RP 0775 (2005), a corrosão pode ser classificada em função da taxa de corrosão obtida a partir da equação 4, conforme a Tabela 1.

Tabela 2.1 - Classificação da Taxa de Corrosão (NACE RP 0775, 2005).

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

Através da cinética da corrosão, que se refere à taxa (ou velocidade) das reações de corrosão, pode-se definir o tempo de vida útil do equipamento ou estrutura. Quando a corrosão se processa uniformemente, ensaios de perda de massa podem dar uma indicação da taxa de corrosão. Na Figura a seguir estão indicadas algumas curvas representativas de processos corrosivos (GENTIL, 2007).



- A = produto de corrosão inerte
- B = idem, com período relacionado à destruição de película protetora
- C = produto de corrosão insolúvel aderido à superfície
- D = produtos solúveis com aumento da área anódica.

Figura 2.1- Curvas representativas de processos corrosivos. (GENTIL, 2007)

2.6. CORROSÃO MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA

Em muitos casos a corrosão pode ser induzida ou acelerada por micro-organismo. A deterioração do metal devido à atividade microbiana é denominada biocorrosão ou corrosão microbiologicamente induzida (CMI). A corrosão induzida por micro-organismos está diretamente associada com a corrosão eletroquímica que envolve a transferência de elétrons para um aceptor de elétrons externo, Provocando a liberação de íons metálicos no meio circundante e a deterioração do metal. Este processo prossegue através de uma série de reações químicas de oxidação (anódica) e redução (catódica) das espécies em contato direto com a superfície metálica ou nas proximidades. A atividade microbiana nos biofilmes formados nas superfícies dos materiais metálicos pode afetar a cinética das reações catódicas e / ou reações anódicas (BEECH, 2004).

O mecanismo da biocorrosão envolve o crescimento do micro-organismo na superfície metálica com formação de biofilme que promove um crescente aumento no processo corrosivo na superfície metálica. Geralmente os biofilmes são constituídos por células imobilizadas sobre o substrato e por polímeros extracelulares produzidos pelos micro-organismos e podem estar presentes tanto em fluxos turbulentos como em águas paradas sobre diversos tipos de superfícies metálicas apresentando geralmente uma espessura em torno de 20-80 nm (VIDELA, 2005).

A corrosão microbiologicamente induzida (CMI) é resultado de interações, entre a superfície do metal, produtos abióticos de corrosão (FeS, Fe(OH)₃, Fe₂O₃, etc), as células bacterianas e seus metabólitos (BEECH, 2004). A importância da sinergia microbiana foi recentemente confirmada em estudos de corrosão de aço carbono na presença de micro-organismos isolados de amostras de rochas obtidas a partir de repositório de lixo nuclear em Yucca (PITONZO, 2004) e na presença de bactérias termofílicas e termotolerantes no México (VALENCIA, 2003). A presença de micro-organismos sobre uma superfície metálica, muitas vezes leva a altas mudanças localizadas na concentração do eletrólito constituinte, pH e concentração de oxigênio (COSTERTON, 1995). Estes micro-organismos e sua atividade metabólica têm influenciado severamente o processo de corrosão, que muitas vezes estimulam a corrosão localizada, dependendo da formação de película passiva e capacidades de reparação do metal ou liga (CONGMIN XU, 2008). Os micro-organismos participam de forma ativa na dissolução do metal, mas sem modificar a natureza eletroquímica característica do processo corrosivo (CLOETE, 2005).

2.7. MICRO-ORGANISMOS RELACIONADOS À CORROSÃO

Nos biofilmes, os micro-organismos formam um consórcio bem estruturado onde vários grupos microbianos são encontrados, tais como bactérias aeróbias, dentre elas *Pseudomonas aeruginosa*, bactérias oxidantes de ferro, bactérias oxidantes do enxofre e bactérias anaeróbias, principalmente as bactérias redutoras de sulfato (BRS). Também são encontrados nos biofilmes alguns fungos filamentosos, estes, em menor quantidade que as bactérias (DE FRANÇA, 2006).

2.7.1. Bactérias oxidantes do enxofre

Dentre essas bactérias pode-se destacar o *Acidithiobacillus*, micro-organismos aeróbios que se apresentam na forma de bacilos curtos, com cerca de 0,5 μm de diâmetro e de 1,0 a 3,0 μm de comprimento. Possuem mobilidade própria, por meio de um único flagelo polar, não formam esporos e se apresentam geralmente como células isoladas. Sua temperatura ótima de crescimento situa-se entre 10 e 37°C, mas algumas variedades termófilas são capazes de crescer em temperaturas superiores a 55°C. Desenvolvem-se em água do mar ou de rio, de acordo com as características halofílicas das espécies. O *Acidithiobacillus thiooxidans* é capaz de oxidar 31g de enxofre por grama de carbono, causando uma elevada acidez no meio (aproximadamente pH 0,5) devido à produção metabólica de ácido sulfúrico (VIDELA, 2003). Essa elevada acidez pode conferir grande agressividade ao ambiente, não apenas para superfícies metálicas, mas também para estrutura de pedra e de concreto (WARCHEID e BRAAMS, 2000).

2.7.2. *Pseudomonas aeruginosa*

No processo de formação do biofilme há ainda as espécies do gênero *Pseudomonas*, como a bactéria *P. aeruginosa*. Essas bactérias têm importante função no processo corrosivo, pois assim como outros micro-organismos, elas também produzem polímeros extracelulares (EPS) que os protegem contra íons metálicos e ajudam a aprisionar outras espécies, contribuindo assim para o aumento da espessura do biofilme. De modo análogo às bactérias oxidantes, consomem o oxigênio presente, gerando um processo de aeração diferencial e criando condição de anaerobiose, que favorece o desenvolvimento das BRS presentes no biofilme. A bactéria *P. aeruginosa* é encontrada associada a fungos do gênero *Cladosporium* e às bactérias redutoras de sulfato no interior de tubérculos (VIDELA, 1981).

2.7.3. Bactérias oxidantes de ferro (BOF)

As bactérias oxidantes de ferro são micro-organismos aeróbios autotróficos e desenvolvem-se em uma faixa de temperatura entre 0 e 40 °C e em valores de pH em torno de 5,5 e 8,2. Dentre elas destacam-se a espécie *Acidithiobacillus ferroxidans* os gêneros *Ferrobacillus* e *Gallionella* (EDWARDS et al., 2001). A este último, geralmente, encontram-se associadas bactérias do gênero *Leptothrix* e *Crenothrix*. As bactérias pertencentes ao gênero *Crenothrix* também oxidam íons manganosos a manganícos.(VIDELA, 1981). As BOF apresentam-se em formato de colônias circulares, brilhosas com coloração castanha avermelhada.

As bactérias oxidantes do ferro oxidam o íon ferroso a férrico, e a partir dessa oxidação obtêm a energia necessária para seus processos vitais. Em decorrência desse processo de oxidação, há a formação de hidróxidos de ferro, que por serem em geral insolúveis, precipitam sobre as superfícies, possibilitando a corrosão por aeração diferencial (STAROSVETSKY et al., 2001).

O óxido ou hidróxido de ferro (III), insolúvel, pode ficar aderido na forma de tubérculos, de cor castanha, nas paredes das tubulações. Quando há grandes quantidades destes tubérculos, sua presença é associada, quase exclusivamente, ao íon ferro (II) oxidado pelas bactérias de ferro, e não a corrosão da tubulação (GENTIL, 2007).

O óxido, ou hidróxido de ferro que não fica aderido nas paredes das tubulações é arrastado pela água, que apresenta, devido a isto, uma coloração castanho-avermelhada, sendo chamada de água vermelha ou ferruginosa (GENTIL, 2007). Os tubérculos formados prejudicam a eficiência da tubulação, seja pela diminuição da seção transversal ou pela resistência a troca de calor, e ainda criam condições para corrosão por aeração diferencial, podendo-se ter o desenvolvimento de bactérias anaeróbias embaixo dos tubérculos como as bactérias redutoras de sulfato (PERES, 2006 e GENTIL 2007).

Xu, Zhang, Cheng e Zhu (2006) demonstraram através de microscopia a aderência das BOF à superfície do aço 316L quando exposto a meio rico em nutrientes por um período de 20 dias. Os produtos de corrosão foram depósitos esponjosos, Figura 2.2(a), a

análise de espectro de energia dispersiva (EDS) mostrou que esses depósitos evidentemente são óxidos de ferro. O biofilme formado na superfície do metal, Figura 2.2(b), mostra células elipsoidais típicas de BOF, com cerca de 1µm.

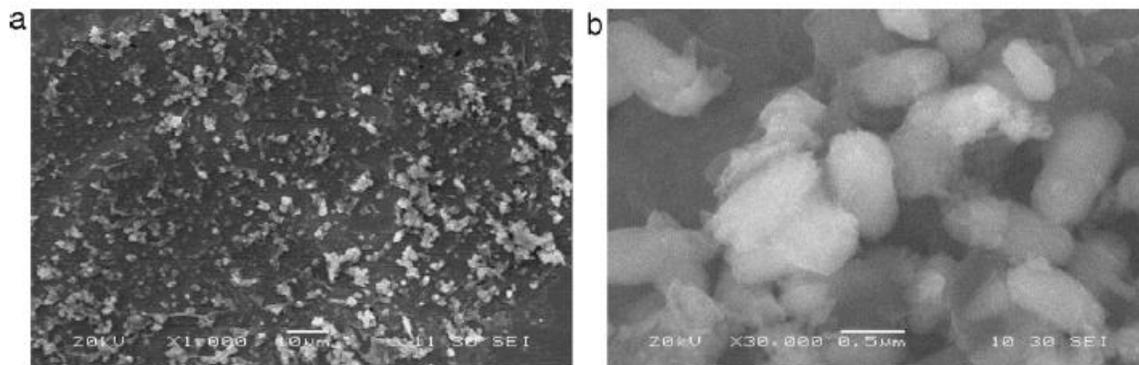


Figura 2.2 – biofilme formado por BOF sobre a superfície aço (a); células de BOF sobre superfície (b). **Fonte:** Xu, Zhang, Cheng e Zhu (2006).

2.7.4. Bactérias redutoras de sulfatos (BRS)

As BRS representam um grupo de micro-organismos capazes de utilizar o sulfato, em condições anaeróbias, como aceptor final de elétrons para o processo de respiração anaeróbia. Em culturas puras, desenvolvem-se em ambientes em que o potencial de oxidação-redução (Eh) esteja abaixo de -100 mV. Como doadores de elétrons, utilizam quase todos os compostos orgânicos, desde ácidos orgânicos de cadeia curta até hidrocarbonetos do petróleo, embora algumas espécies também sejam capazes de utilizar H₂ (LIAMLEAM; ANNACHHATRE, 2007; BARTON e TOMEI, 1995; POSTGATE, 1984). Análises de RNAr 16S permitiram organizar as espécies de BRS em quatro grupos distintos: (1) BRS mesófilas Gram negativas não formadoras de esporos, (2) BRS Gram positivas formadoras de esporos, (3) BRS termófilas e (4) BRS Arqueobactéria termófila (CASTRO et al., 2000).

A maioria das BRS é classificada como mesófila, com um ótimo de crescimento entre 25 e 40°C, mas algumas espécies podem tolerar até -5°C (psicrofílicas), enquanto outras podem apresentar crescimento ótimo em temperaturas superiores a 75°C (hipertermofílicas). Com relação aos valores de pH, crescem em valor ótimo de 7,2; entretanto, encontram-se espécies que toleram ambientes altamente ácidos (pH 4,0) e alcalinos (pH 9,5). Deve-se destacar ainda a capacidade das BRS suportarem altas pressões, como valores em torno de 105 kPa (espécies barofílicas). Todas essas características demonstram a habilidade desse grupo de micro-organismos para crescer em condições extremas e sua adaptabilidade a vários ambientes naturais (POSTGATE, 1984; BARTON e TOMEI, 1995).

As BRS são amplamente distribuídas na natureza e têm um papel importante no ciclo biogeoquímico do enxofre e na degradação da matéria orgânica em diferentes ambientes anaeróbios.

Gall e Xavier (1996) demonstraram que as BRS não são estritamente anaeróbias. Certas espécies têm a capacidade de tolerar a presença de oxigênio no meio e também de utilizar o oxigênio como aceptor final de elétrons, como acontece na respiração aeróbia (SASS et al., 1997; FARELEIRA et al., 2003).

Dannenberg et al. (1992) comparou a capacidade de respiração aeróbia com a utilização de vários substratos orgânicos no crescimento de BRS proveniente de água doce e ambiente marinho. Todas as 14 linhagens de BRS estudadas por Dannenberg foram capazes de reduzir o oxigênio com pelo menos um substrato, sendo os mesmos geralmente utilizados na redução do sulfato. Os organismos também foram capazes de oxidar sulfeto a sulfeto e tiosulfato a sulfato, tendo como aceptor de elétrons o oxigênio. Os autores também observaram que a capacidade de redução do oxigênio foi mais freqüente nas BRS de água doce do que nas espécies marinhas, mostrando uma adaptação à limitação de sulfato em ambientes de água doce.

Segundo Cypionka (2000) as BRS podem exibir três diferentes respostas frente ao oxigênio: agregação celular, migração para ambientes sem oxigênio e formação de faixas na interface aeróbia-anaeróbia de lagos rios e mar.

As BRS utilizam uma ampla variedade de compostos de enxofre como aceptores finais de elétrons como sulfetos (SO_3^{2-}), tiosulfatos ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) e sulfatos (SO_4^{2-}), sendo este último mais utilizado na redução dissimilatória de sulfato (MADIGAN et al., 1997).

A redução do SO_4^{2-} a H_2S é um processo complexo, como mostrado na Figura 2.3. Numa primeira etapa, tanto para o processo assimilativo quanto para o processo desassimilativo, ocorre a ativação dos íons sulfato por ATP. A enzima ATP sulfurilase catalisa a ligação do íon sulfato ao fosfato da molécula de ATP, formando adenosina fosfosulfato (AFS) com a liberação de pirofosfato (PPi). Na redução desassimilativa, a AFS é reduzida a sulfeto (SO_3^{2-}) pela ação da enzima AFS redutase, com a liberação de AMP (adenosina monofosfato). Na redução assimilativa, outro P é incorporado a AFS, formando fosfoadenosina fosfosulfato (FAFS) e, a partir desse momento, os sulfatos podem ser reduzidos. Em ambos os processos, o sulfeto é o primeiro produto da redução, e uma vez formado é transformado em sulfeto por intermédio da enzima sulfeto redutase (MADIGAN, MARTINKO e PARKER, 2004).

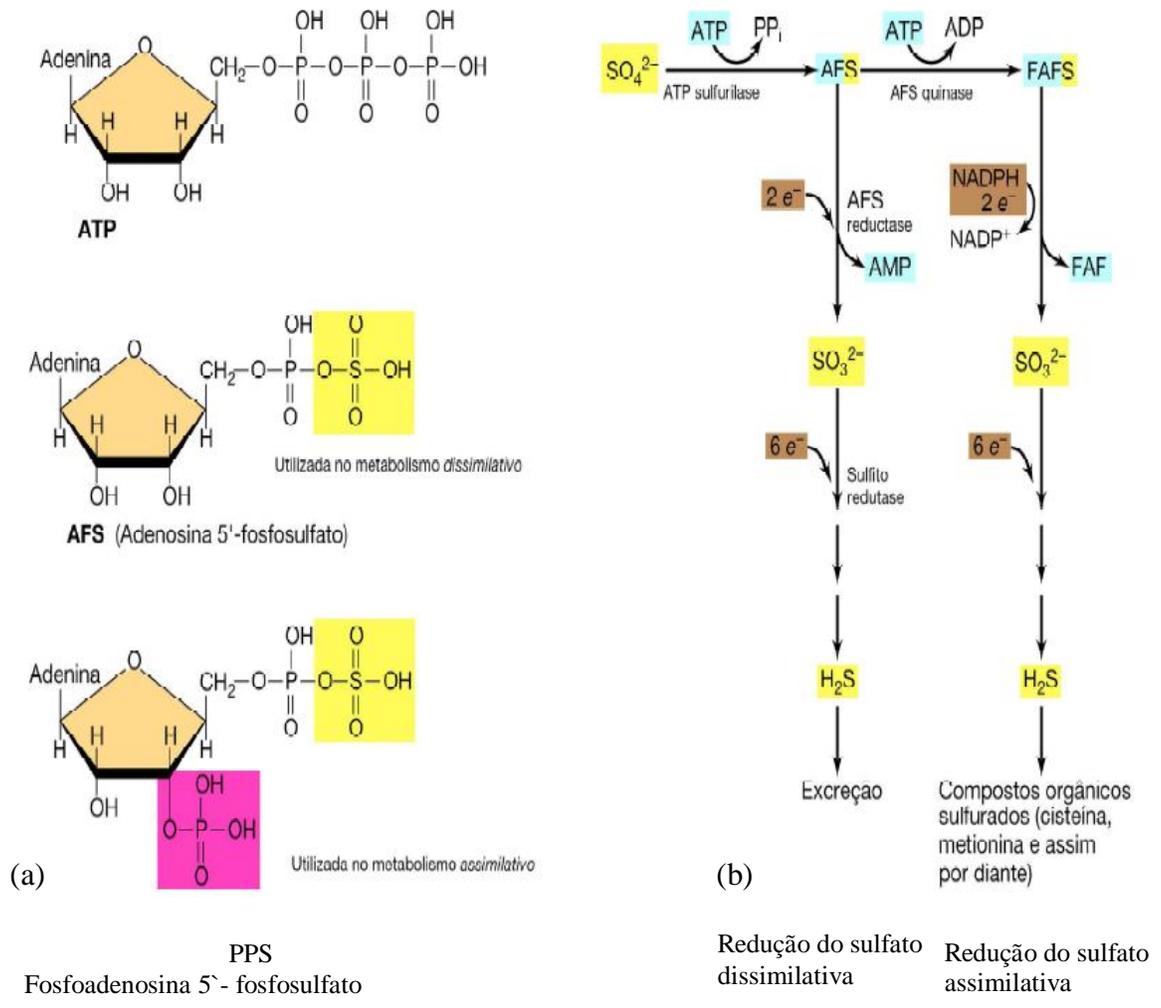
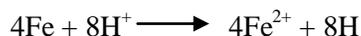


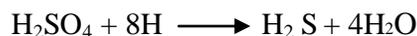
Figura 2.3 - Bioquímica da redução do sulfato. (a) Duas formas de sulfato ativo podem ser produzidas: adenosina 5'-fosfosulfato (AFS) e fosfoadenosina 5'-fosfosulfato (FAFS). (b) Esquema das reduções dissimilativa e assimilativa de sulfato. **Fonte:** Madigan, Martinko; Parker (2004).

Diversas pesquisas relatam as BRS como associadas a processos de corrosão. Von Wolzogen Kühn propôs que as BRS atuam despolarizando catodicamente a reação de corrosão, consumindo o hidrogênio através das seguintes reações:

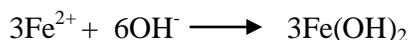
- anodo



- catodo – despolarização catódica



Sendo os produtos de corrosão:



Reação global



As BRS são consideradas os principais micro-organismos anaeróbios envolvidos nos casos de corrosão (JAVAHERDASHTI, 1999). As BRS reduzem o íon sulfato ocasionando a produção de sulfetos, bissulfetos e gás sulfídrico (H_2S), potenciais agentes da corrosão anaeróbia do ferro (GONZÁLEZ *et al.*, 1998). A reação fundamental, na qual as bactérias atuam, consiste no consumo de hidrogênio que é depois utilizado para efetuar a redução dos íons sulfato havendo, portanto, uma participação direta dos micro-organismos na reação que conduz ao processo de corrosão (VIDELA, 1981).

Sheng, Ting e Pehkonen (2007) estudaram a influência das bactérias anaeróbias sobre a biocorrosão de aço inoxidável aço inox AISI 316 no ambiente marinho. Eles observaram através de microscopia de força atômica (MFA) a presença de colônias de micro-organismos na superfície do aço aos 14 dias de imersão Figura 2.4(a). Após a retirada do filme foi constatada a presença de pites de corrosão, Figura 2.4(b).

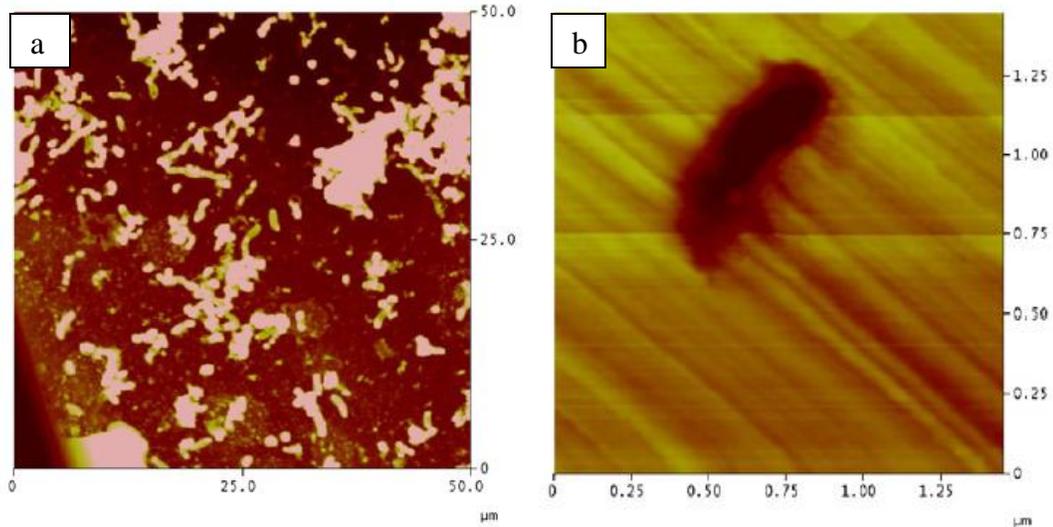


Figura 2.4 – Microscopia de força atômica (MFA) mostrando a presença de BRS na superfície do aço (a); pite de corrosão na mesma superfície(b). **Fonte:** Sheng, Ting e Pehkonen (2007).

2.8. MECANISMOS DE CORROSÃO MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA

2.8.1. Corrosão devido à formação de ácido

Os micro-organismos durante seu crescimento e metabolismo produzem substâncias de natureza agressiva geralmente ácidos orgânicos ou inorgânicos, que transformam um meio inerte em corrosivo (VIDELA, 2005).

Um grupo de bactérias oxida enxofre, ou os compostos de enxofre, a sulfato, com a simultânea produção de ácido sulfúrico que funciona como agente corrosivo. Essas bactérias metabolizam sulfetos solúveis, se a concentração de H₂S livre estiver abaixo de 200 ppm, e estão freqüentemente associados a micro-organismos que convertem sulfatos (SO₄²⁻) para sulfetos (S²⁻) e sulfetos para enxofre (GENTIL, 2007).

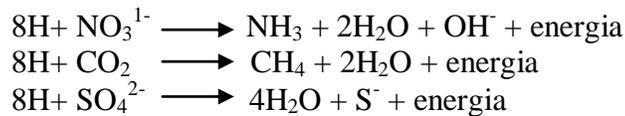
As três espécies de bactérias mais envolvidas neste processo de corrosão são *Acidithiobacillus thioparus*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Acidithiobacillus concretivorus*. Essas bactérias são aeróbias, isto é, necessitam da presença de oxigênio, e são autotróficas, isto é Sintetizam seu material celular de compostos inorgânicos de carbono e nitrogênio. A energia para essa síntese é proveniente da oxidação do enxofre, ou seus compostos, como exemplifica a seguinte reação (GENTIL, 2007):



2.8.2. Corrosão Por Despolarização catódica

O ferro em meios desaerados, como águas ou solos, normalmente não sofre corrosão apreciável, mas algumas vezes, nestas mesmas condições observam-se casos de corrosão acentuada. A explicação para este fenômeno está em bactérias anaeróbias capazes de utilizar, em seu metabolismo, hidrogênio livre (como o hidrogênio catódico) ou hidrogênio combinado de compostos orgânicos. Entre estas, estão as bactérias redutoras de nitrato e as redutoras de dióxido de carbono e as redutoras de sulfato (GENTIL, 2007).

As reações que se processam são respectivamente:



2.8.3. Corrosão por Aeração Diferencial

A associação de espécies diferentes de micro-organismos, que consomem quantidades desiguais de oxigênio, estabelece condições de aeração diferencial, proporcionando um ambiente adequado para o crescimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios (VIDELA, 2005).

Vários micro-organismos, como algas, fungos e bactérias, formam produtos insolúveis que ficam aderidos na superfície metálica sob a forma de filmes ou tubérculos (GENTIL, 2007). Um exemplo é quando algas são arrastadas para os trocadores de calor ou tubulações do sistema de resfriamento, mesmo não continuando a crescer, devido à falta de luz solar, elas se depositam, constituindo o chamado *fouling*. Abaixo desse depósito pode ocorrer a corrosão por aeração diferencial ou o desenvolvimento de bactérias anaeróbias, como as redutoras de sulfatos, que também ocasionarão a corrosão nessa região (GENTIL, 2007).

2.8.4. Corrosão por Ação Conjunta de Bactérias

Ocorrem casos de corrosão microbiológica em que se observa a ação simultânea de bactéria. Assim por exemplo pode-se ter (GENTIL, 2007):

- Redução de Sulfato e formação de ácido-devido à ação das bactérias redutoras de sulfato e a espécie *Thiobacillus thiooxidans*;
- Redução de sulfato e oxidação de sulfeto- devido à ação das bactérias redutoras de sulfato e a espécie *Thiobacilli*;
- Oxidação do enxofre elementar (de origem química ou biológica) provocada simultaneamente por *Thiobacilli* e *Ferrobacilli*;

- Bactérias redutoras de sulfato e bactérias oxidante de ferro – no centro dos tubérculos, ocasionados pelas bactérias de ferro, há o crescimento de bactérias anaeróbias redutoras de sulfato, ocasionando, então, a corrosão localizada embaixo desses tubérculos, formando pites de corrosão. Quando se remove o tubérculo de óxido de ferro pode-se observar um resíduo preto de sulfeto de ferro.

Xu; Zhang e Cheng (2006) estudaram a Corrosão por pite de aço inoxidável 316L através da ação conjunta de bactérias redutoras de sulfato e bactérias oxidantes de ferro. Eles observaram que a combinação BRS e BOF fez o potencial de corrosão cair a uma taxa mais rápida que o observado para os micro-organismos isoladamente. Os mesmos atribuíram essa redução do potencial de corrosão à ação conjunta das bactérias aeróbias e anaeróbias.

2.9. BIOCORROSÃO EM ÁGUA DO MAR

A água do mar é um meio biológico bastante favorável ao desenvolvimento de formas de vida microbiana. As características físico-químicas e microbiológicas da água do mar permitem encontrar os mais diversos mecanismos de biocorrosão (VIDELA, 2003). A presença simultânea de bactérias anaeróbias redutoras de enxofre, bactérias aeróbias oxidantes do ferro e do enxofre, ainda associados à ação corrosiva da água do mar correspondem a agentes habituais em diversos mecanismos de corrosão. A ação corrosiva da água do mar não se restringe, portanto, à ação isolada de uma solução salina, pois certamente ocorre uma ação conjunta dos diferentes constituintes (GENTIL, 2007).

Muita investigação tem incidido sobre corrosão microbiologicamente induzida (CMI) de metais e ligas no ambiente marinho. Algumas bactérias presentes neste fluido têm sido relatadas como aceleradoras de corrosão em metais, enquanto outras são relatadas como inibidoras. Jack, Ringelberg e White (1992), investigaram a ação de micro-organismos como *Desulfovibrio desulfuricans*, *Pseudomonas sp.* e *Bacillus sp.* Classificando-os como aceleradores de corrosão, enquanto Gunasekaran, Chongdar, Gaonkar e Kumar (2004) mostraram que a *Pseudomona flava* inibe a corrosão, formando uma película de fosfato. Por outro lado, o *Bacillus subtilis* foi mostrado como inibidor da corrosão no alumínio 2024 segregando poliglutamato e poliaspartato (ORNEK; MANSFELD, 2002).

Em um meio de alta condutividade como a água do mar, a dissolução metálica ocorre simultaneamente com a formação do biofouling a qual está condicionada pelo substrato metálico e pelas características da fase aquosa. Dessa forma, em um metal ativo como o aço carbono, a natureza gelatinosa do biofilme, constituído principalmente por uma matriz de material polimérico extracelular, micro-organismos e água, aparece misturadas com os produtos de corrosão que se formam simultaneamente com depósitos biológicos. Nesses casos, a observação dos microrganismos por microscopia é difícil devido a uma complexa interação entre os produtos de corrosão e o biofouling (VIDELA, 2003).

2.10. BIOFILME

Os biofilmes são tipicamente constituídos por água, micro-organismos, substâncias poliméricas extracelulares (EPS), partículas retidas e substâncias dissolvidas e adsorvidas. Desta constituição, a água possui a fração mais significativa da massa total do biofilme, podendo variar entre 70 a 95%. Os micro-organismos representam somente uma pequena parte da massa e do volume de um biofilme (menos de 10%), embora excretem as substâncias poliméricas que representam a fração dominante da matéria orgânica seca do biofilme, entre 50 e 95% (PEREIRA, 2001). O material polimérico, além de favorecer a fixação dos microrganismos também serve como fonte nutricional no caso de uma condição de baixa disponibilidade de nutrientes (COSTERTON *et al.*, 1995). As proteínas e carboidratos que compõem os exopolímeros podem ainda se ligar a íons metálicos através de seus grupos funcionais o que pode intensificar o processo corrosivo (BEECH, 2004). O biofilme constitui, também, o chamado “biofouling”, que é uma incrustação aderente formada por substâncias orgânicas excretadas por alguns micro-organismos que se combinam com material inorgânico (sais, produtos de corrosão, etc.) (PERES, 2006).

O fator principal para a o fenômeno da corrosão microbiologicamente induzida é a formação de biofilme sobre a superfície do metal. O biofilme forma uma camada que reduz a exposição da superfície sólida para o ambiente externo. No entanto, também pode resultar em corrosão localizada e deterioração dos materiais do substrato, tais como metais (LITTLE, WAGNER e MANSFELD, 1992). A morfologia do biofilme tem uma influência significativa sobre os efeitos da corrosão, quer de forma prejudicial ou benéfica. Um biofilme poroso não só libera metabolitos deletérios secretados por bactérias, mas também cria gradientes de pH, oxigênio dissolvido e cloreto. Em contraste, um biofilme compacto com sulfetos de metal pode, em alguns casos, formar uma película protetora sobre a superfície metálica (GOMEZ, DE MELE e VIDELA 1990).

Em superfícies pouco resistentes à corrosão em meio marinho como o aço carbono, o comportamento ativo ou passivo depende fortemente de depósitos de produtos de corrosão de natureza química diversa. Geralmente se observam camadas de lepidocrocita, goetita e magnetita. Na água do mar, esses produtos se encontram misturados com depósitos de biofouling formados por bactérias, microalgas e alguns micro-organismos de dimensão maior inseridos no material polimérico extracelular (VIDELA, 2003).

A presença de micro-organismos sobre uma superfície metálica, muitas vezes leva a altas mudanças localizadas na concentração do eletrólito constituinte, pH e concentração de oxigênio (COSTERTON, 1995 e GERCHAKOV, 1986). Com o tempo, isso altera e influencia o entorno imediato da superfície do metal podendo levar à corrosão localizada do metal.

O conteúdo do material polimérico extracelular varia, dependendo da espécie bacteriana produtora e das condições nutricionais e ambientais (CHAN, XU e FANG, 2002). As proteínas e carboidratos que compõem os exopolímeros podem ainda se ligar a íons metálicos através dos seus grupos funcionais o que pode intensificar o processo corrosivo (BEECH, 2004).

O consórcio microbiano, as substâncias poliméricas extracelulares, bem como a espessura do biofilme, criam entre outros fatores, um gradiente de aeração através das

varias camadas de sua estrutura. Deste modo são formados diferentes nichos com condições adequadas para o desenvolvimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios, Figura 2.5.

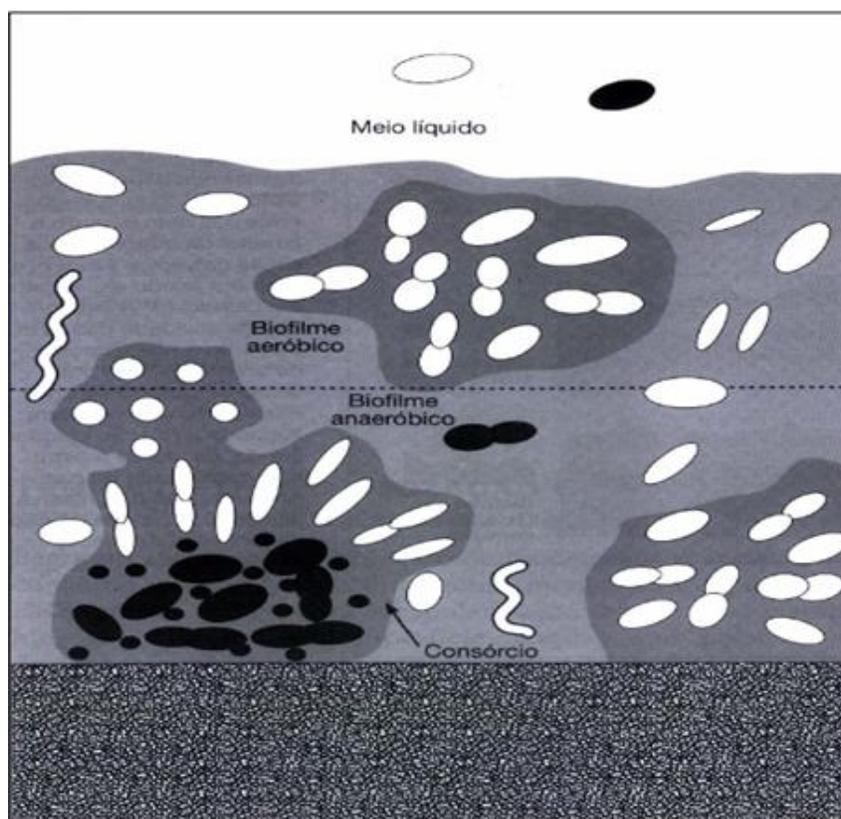


Figura 2.5- Consórcio microbiano no interior do biofilme (Costerton e Geesey, 2003)

Segundo Videla (2003) ligas de aço inoxidável representam um substrato ideal para a colonização microbiana devido à falta de produtos da corrosão. O aço inoxidável é normalmente susceptível à corrosão localizada em meio contendo cloretos. Neste tipo de material, o biofilme que se forma na sua superfície pode dar origem a células de aeração diferencial, ocasionando o processo de corrosão.

Entre todos os micro-organismos, são as bactérias, que em condições favoráveis, mais frequentemente produzem biofilme, ainda que umas apresentem maior aptidão que outras. Isto se deve aos seus reduzidos tamanhos, elevadas taxas de reprodução, grande capacidade de adaptação e de produção de substâncias e estruturas extracelulares que as protegem do meio circundante (PEREIRA, 2001). A atividade microbiana em superfícies metálicas modifica as condições do meio e a interface metal/solução, podendo resultar em diferentes efeitos, desde induzir a corrosão localizada até inibir a corrosão mediante redução da velocidade ou interrupção de alguma das reações do processo (VIDELA, 2003).

3. Materiais e Métodos

3.1. CORPOS DE PROVA

Na confecção de cupons e corpos de prova para ensaio de tração, foi usado o aço carbono AISI 1010, com composição química apresentada na Tabela 3.1, devido ao seu grande emprego em instalações industriais e portuária. Os corpos de prova para ensaios de tração, mostrado na Figura 3.1, foram feitos em formato apropriado atendendo aos requisitos da norma ASTM E 8M-04, com área total de aproximadamente 24,12cm², considerando as duas faces. Os cupons para análise de superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram confeccionados na forma retangular com dimensões 30,0X10,0X2,5 mm.



Figura 3.1 - Corpo de prova utilizado nos ensaios

Tabela 3.1 - Composição química do aço carbono AISI 1010

<i>Componente</i>	<i>Percentual (%)</i>
<i>C</i>	0,100
<i>Mn</i>	0,043
<i>Si</i>	0,010
<i>P</i>	0,016
<i>S</i>	0,008
<i>Cr</i>	0,010
<i>Cu</i>	0,010
<i>Al</i>	0,060
<i>V</i>	0,001
<i>Fe</i>	Restante

Os corpos de prova foram previamente tratados pela imersão em isopropanol e acetona, levados a estufa à 70°C por 30 minutos, e posteriormente levados ao dessecador por 20 minutos em seguida foram jateados com jato de areia para remoção de possíveis incrustações. Após o jateamento os cupons passaram, novamente pelo tratamento com isopropanol e acetona. Foram levados à estufa, ao dessecador, pesados ao décimo de miligrama e dispostos nos biorreatores.

3.2. MICRO-ORGANISMOS

- Cultura de bactérias oxidantes de ferro obtida a partir de cultivos sucessivos de amostra de água do mar, da praia de Boa Viagem, em meio citrato férrico amoniacal e isolada em Agar citrato férrico amoniacal (Fig. 3.2a). A partir da coloração, pela técnica da coloração de gram, foi possível observar, através de microscópio óptico, células bacterianas em forma de bastonetes Gram positivas (Fig. 3.2b).

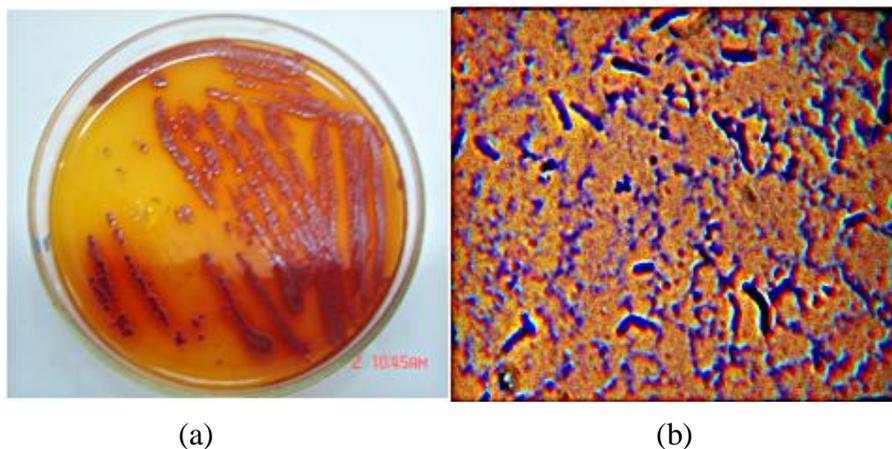


Figura 3.2 - BOF em agar citrato férrico amoniacal(a); Coloração de Gram das bactérias oxidantes do ferro(b).

- Cultura mista de bactérias redutoras de sulfato (BRS), gentilmente cedida pela UFRJ, cultivada em meio postgate E modificado (POSTGATE,1984). A coloração de Gram da cultura mista de BRS mostrou células em forma de bacilos curvos Gram negativos (Fig. 3.3b).

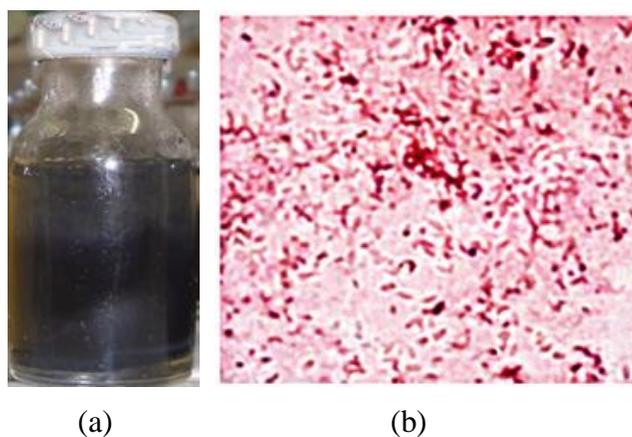


Figura 3.3 – BRS em meio Postgate E modificado (a);Coloração de Gram das bactérias redutoras de sulfato (b).

3.3. FLUIDO DO PROCESSO

Nos ensaios foi utilizada água do mar coletada no complexo Industrial Portuário de Suape, no Cabo de Santo Agostinho-PE. A água utilizada no experimento foi proveniente de uma única coleta a qual foi colocada em erlenmeyers estéreis de 2L e esterilizada em autoclave a 121 °C por 20 minutos, para posteriormente ser adicionada nos biorreatores estéreis.

3.4. SISTEMAS ESTÁTICOS

Os experimentos foram conduzidos em sistemas estáticos constituídos por biorreatores em vidro de 2,0L com tampa rosqueada de plástico apresentando volume útil de 1,9L conforme mostra a Figura 9.



Figura 3.4 - Biorreator usado nos ensaios.

Os corpos de prova foram inseridos no sistema, presos a tampa através de fio de nylon. Os cupons foram dispostos com igual profundidade, com a finalidade de proporcionar a formação e crescimento de biofilme de forma regular. Os biorreatores com os corpos de prova foram esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos; após a esterilização 1,9L de água do mar, tendo sido acrescido 5% de meio rico em nutrientes, foram adicionados aos biorreatores seguido da inoculação dos micro-organismos. A adição de nutrientes foi feita visando à viabilidade das células podendo-se manter os micro-organismos ativos por um período tempo maior, quando comparado com aquele em água do mar apenas. Os nutrientes foram adicionados uma única vez, constando de 95 mL de um meio com a composição em g/L de: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 4,12; K_2HPO_4 1,0; $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 1,26; NH_4Cl 1,0; citrato de sódio 0,5; lactato de sódio 3,5; extrato de levedo 1,0; $NaCl$ 1,0 (CONGMIN XU, 2007). Em ensaios preliminares, com este meio rico em nutrientes, foi observada uma melhor adaptação microbiana, em água do mar, quando acrescida de uma concentração em torno de 5% do mesmo.

Todo o procedimento foi feito em câmara de fluxo laminar para evitar contaminação dos sistemas. Os corpos de prova ficaram no sistema por um período total de 42 dias, sendo as retiradas para análise a cada 14 dias.

3.5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os ensaios foram realizados com o intuito de avaliar a interferência das culturas microbianas na corrosão do aço carbono AISI 1010. Para tanto foram montados os seguintes sistemas:

- BRS em anaerobiose;
- BOF em aerobiose;
- BRS + BOF em aerobiose;
- Sistema abiótico em aerobiose (ABO).

Cada biorreator estéril contendo os corpos de prova foi preenchido com água do mar estéril acrescido de 5% de nutrientes, menos para o sistema abiótico que foi conduzido apenas com os corpos de prova em água do mar estéril. As culturas foram inoculadas de modo a estabelecer uma concentração inicial de 10^{10} NMP/mL. Para o sistema contendo BRS e BOF em consórcio, a BOF foi inoculada e somente após três dias é que foi inoculada a BRS, segundo procedimento adotado por Congmin Xu (2007). As BOF são aeróbias e, portanto, criam condições de aeração diferencial, propiciando assim, o crescimento de micro-organismos anaeróbios (XU, ZHANG e ZHU, 2006).

Para o ensaio em anaerobiose os sistemas foram projetados com uma entrada para purga do nitrogênio e uma saída para o ar, a qual foi fechada com rolha de borracha, como mostrado na Figura 3.4. As BRS foram inoculadas no sistema seguido da purga por 30 minutos com N_2 e então vedado com rolha de borracha. Para os sistemas em aerobiose, após a adição dos micro-organismos, a tampa do biorreator foi mantida sem proporcionar a vedação de forma a manter o mesmo aerado.

O sistema anaeróbio foi preparado em triplicata, sendo um biorreator para cada período de experimento (14, 28 e 42 dias) de forma que, cada biorreator fosse aberto uma única vez para retirada de amostras.

O tempo total de cada experimento foi de 42 dias e a cada 14 dias foram feitas análises microbiológicas do fluido e do biofilme, cálculos de perda de massa, ensaios de tração nos corpos de prova. A observação da superfície dos cupons através da microscopia eletrônica de varredura foi realizada, para cada sistema, após 14 dias de imersão.

Em cada sistema foram inseridos 3 corpos de prova em forma de gravata, para cada período de ensaio, dos quais dois tiveram suas superfícies raspadas para quantificação de micro-organismos sésseis do biofilme e para cálculo de taxas de corrosão, e o terceiro foi raspado em meio apropriado para análise de proteínas e carboidratos. Também foi

inserido nos sistemas um cupom em formato retangular para observação da superfície através de MEV.

3.6. QUANTIFICAÇÃO CELULAR

Os cupons retirados assepticamente do sistema contendo micro-organismos em água do mar artificialmente enriquecida, Figura 3.5, foram raspados com o auxílio de espátula estéril em solução redutora, com composição mostrada na Tabela 3.2, a fim de se obter uma suspensão celular. A partir dessa suspensão foram feitas diluições decimais sucessivas de 1mL, as quais foram inoculadas em meios adequados para a quantificação de cada um dos grupos microbianos. Cada grupo microbiano foi quantificado através da técnica do número mais provável (NMP) (KOCH, 1981; HARRISON Jr. 1982).

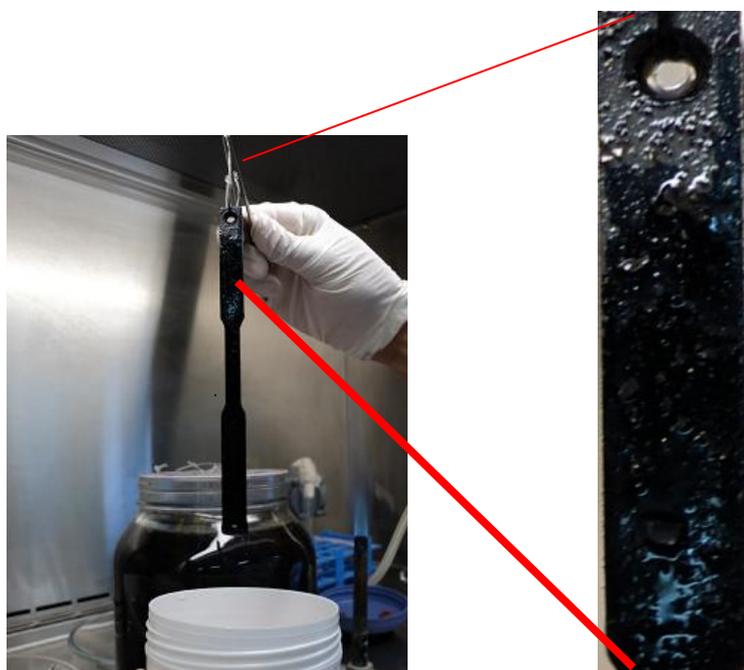


Figura 3.5 - Retirada dos cupons assepticamente para análises

Tabela 3.2 - Composição da solução redutora

<i>Componentes</i>	
<i>Tioglicolato de sódio</i>	0,124g/L
<i>Ácido ascórbico</i>	0,1g/L
<i>NaCl</i>	30g/L
<i>Rezazurina (0,025%)</i>	4,0 mL/L

3.6.1. Quantificação das Bactérias Redutoras de sulfato (BRS)

A quantificação deste grupo microbiano foi feita através da técnica do número mais provável (NMP) (HARRISON, 1982) em meio Postgate E modificado (POSTGATE,1984) de composição em g/L, mostrada na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Composição do meio postgate E modificado.

<i>Componentes em</i>	<i>g/L</i>
<i>KH₂PO₄</i>	0,5
<i>NH₄Cl</i>	1,0
<i>CaCl₂.6H₂O</i>	1,0
<i>MgCl₂.7H₂O</i>	2,0
<i>NaCl</i>	30,0
<i>FeSO₄.7H₂O</i>	0,5
<i>Extrato de levedo</i>	1,0
<i>Ácido ascórbico</i>	0,1
<i>agar</i>	1,9
<i>Componentes em mL/L</i>	
<i>Lactato de sódio</i>	7
<i>Resazurina 0,025%</i>	4

A condição de anaerobiose foi obtida através da purga do meio com nitrogênio, seguida da adição em frascos tipo penicilina com tampas de borracha e lacres metálicos. A determinação do crescimento celular foi feita após um período de incubação de 28 dias a temperatura de 30±1 °C. O crescimento de BRS foi evidenciado pela presença de um precipitado negro característico do sulfeto de ferro, como mostrado na Figura 3.6(b).



(a)

(b)

Figura 3.6 - Meio (a) negativo para BRS; meio (b) positivo para BRS.

3.6.2. Quantificação das Bactérias oxidantes de ferro (BOF)

A quantificação desse micro-organismo foi feita pela técnica de NMP, em meio de citrato férrico amoniacal modificado pela adição de NaCl, Tabela 3.4. O pH do meio foi ajustado para $6,4 \pm 0,2$ e distribuído em tubos de ensaio estéreis tamponados com algodão, em seguida foram esterilizado em autoclave por 20 minutos a 121°C .

Tabela 3.4 - Composição do meio citrato férrico amoniacal

<i>Componentes</i>	<i>g/L</i>
<i>(NH₄)₂SO₄</i>	0,5
<i>NaNO₃</i>	0,5
<i>K₂HPO₄</i>	0,5
<i>MgSO₄</i>	0,5
<i>CaCl₂.6H₂O</i>	0,2
<i>Citrato férrico amoniacal</i>	10

Foram feitas diluições sucessivas da suspensão celular em água de diluição 30g/L de NaCl e inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de citrato férrico amoniacal. A determinação do crescimento celular foi feita após um período de incubação de 14 dias a temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$. O crescimento celular foi evidenciado pela presença de um precipitado ferruginoso característico do hidróxido de ferro, Figura 3.7(a).



Figura 3.7 – Meio (a) positiva para BOF; meio (b) sem inóculo.

3.7. CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS BIOFILMES NOS CUPONS

O cupom, após ser retirado do sistema, teve a sua superfície raspada em recipiente contendo 15mL de solução de NaCl 0,85% e centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos. Em seguida o sobrenadante foi filtrado com membrana 0,2 µm em aparato de filtração da milipore, para separar as células microbianas. Uma alíquota de 1 mL deste filtrado foi retirada para análise de carboidratos e uma alíquota de 0,2 mL para análise de proteínas (CHONGDAR, 2005).

3.7.1. Análise de carboidratos

A 1mL das amostras retiradas para análises, foi adicionado 1mL de fenol a 5% e homogeneizado em Vortex. Em seguida adicionou-se 5 mL de ácido sulfúrico concentrado aos tubos e colocado em banho de gelo, mantendo-se por 10 minutos em temperatura ambiente. Fez-se triplicatas de cada análise. Foi feita a leitura da absorbância em 490 nm de comprimento de onda em espectrofotômetro UV visível utilizando-se curva padrão de glicose entre 0 µg/mL e 100 µg/mL (DUBOIS, 1956; CHONGDAR, 2005).

3.7.2. Análise de proteínas

Adicionou-se a 0,2 mL das amostras retiradas para análises, 1 mL de uma solução recém preparada composta por: 10 mL de solução de Na₂CO₃ a 2% em NaOH 0,1N, 0,1 mL CuSO₄ 1% e 0,1 mL de tartarato de sódio e potássio a 2%. Em seguida utilizou-se o Vortex para homogeneização e posteriormente deixou-se em repouso por 10 minutos. Após o repouso, adicionou-se a cada amostra 0,1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (Merck) diluído 1N. Deixou-se em repouso por 30 minutos e fez-se a leitura em espectrofotômetro de absorbância em comprimento de onda 750 nm. Utilizou-se curva padrão de albumina serica bovina entre 0 e 300 µg/mL (LOWRY, 1951; MARTELLI, 1968).

3.8. PERDA DE MASSA E TAXA DE CORROSÃO

Com o objetivo de determinar as perdas de massa, os cupons foram pesados antes de serem expostos nos meios e após a retirada do biofilme formado em cada período de exposição, após passarem pelo processo de decapagem ácida, onde foram banhados em solução de ácido clorídrico 26% por 5 segundos, lavados em água corrente, neutralizados com solução de NaOH a 10% (p/v) durante 5 segundos, e novamente lavados em água corrente. Por fim, os cupons foram imersos em álcool isopropílico por 5 segundos depois em acetona por mais 5 segundos. Os cupons tratados foram secos em estufa a 70°C±1 por

30 minutos e levados ao dessecador por 20 minutos, efetuando-se assim a pesagem final, conforme procedimento estabelecido por Torres (2005).

Os resultados das perdas de massa foram utilizados nos cálculos das taxas de corrosão as quais foram calculadas e classificadas de acordo com a NACE RP 0775 (2005).

3.9. ANÁLISES DAS SUPERFÍCIES DOS CUPONS

As superfícies dos cupons de aço carbono AISI 1010 foram analisadas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) para análise do biofilme. Para tanto, após sua retirada dos ensaios, esses cupons foram tratados com a finalidade de manter a integridade do material a ser visualizado. Para a fixação do material biológico, os cupons foram mantidos por no mínimo, durante 24 h em glutaraldeído 2,5%. Após esse tempo, os cupons foram retirados dessa solução e lavados três vezes em tampão cacodilato 0,1 M, sendo cada tempo de lavagem de 15 minutos. Em seguida, o material biológico aderido aos cupons foi desidratado, em série crescente de 15 minutos cada, em álcool etílico 30, 50, 70 e 99,8%. Por fim, efetuou-se o ponto crítico de secagem do material em equipamento de ponto crítico da marca BAL-TEC CPD – Critical Point Dryer 030. A finalidade desse procedimento foi substituir todo o líquido residual do biofilme por CO₂ líquido, que a 31°C e 73 atm de pressão rapidamente converte-se em CO₂ gasoso (GOLDSTEIN et al, 2003). Findo o tempo de secagem, a superfície do material foi submetida à metalização em ouro (15 nm de espessura) no aparelho Sputter Coater SCD-040 Electron Probe Microanalyzer. Os cupons então metalizados foram examinados quanto ao biofilme bacteriano através de MEV, empregando-se para tal um microscópio Zeiss DSM 940 dotado de um sistema automático de análise de imagens.

3.10. ENSAIOS DE TRAÇÃO

Os testes de tração foram feitos com o intuito de verificar uma possível perda de propriedades do aço carbono AISI 1010 após os períodos de imersão nos meios específicos. Para tanto, foram utilizados os mesmos corpos de prova, descritos anteriormente na determinação das perdas de massa, os quais, após a pesagem foram destinados para os testes de tração os quais foram realizados segundo o Standard Test Methods for Tension Testing of Metallic Materials ASTM E 8M-04, em uma máquina do tipo Inston modelo 8801 com célula de carga 10 Toneladas. Os corpos de prova foram submetidos a uma taxa de deformação de 1mm/minuto.

Com o intuito de manter a padronização para todos os ensaios, tanto os cupons provenientes do sistema abiótico, como os cupons utilizados no ensaio de tração como padrão, ou seja, que não foram submetidos a ataque de corrosão, passaram pelo tratamento de decapagem ácida, descrito anteriormente.

4. Resultados e Discussão

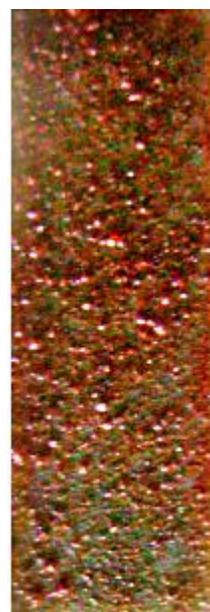
4.1. MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO

A Figura 4.1a mostra o sistema contendo cupons de aço carbono AISI 1010 imersos em água do mar em presença de bactérias oxidantes de ferro. Nos primeiros dias ocorreu a turvação do meio sendo observada, a partir do sétimo dia, a formação de um precipitado castanho avermelhado.

A Figura 4.1(b) mostra o filme formado pelas BOF na superfície do cupom onde se pode observar a formação de produtos de corrosão em forma de tubérculos esponjosos com coloração castanho-avermelhado, característicos do filme formado pela BOF. Esses tubérculos são formados por depósitos de óxidos e hidróxidos de ferro metabolizados pelas bactérias oxidantes do ferro que oxidam o íon ferroso a férrico, e a partir dessa oxidação obtêm a energia necessária para seus processos vitais (ZHANG, CHENG e ZHU, 2006; STAROSVETSKY et al., 2001).



(a)



(b)

Figura 4.1- Sistema contendo BOF em água do mar (a); superfície do cupom exposto à BOF em água do mar (b).

O gráfico da Figura 4.2 apresenta a colonização das superfícies dos cupons, em função do tempo, expostos à água do mar na presença de bactérias oxidantes de ferro em aerobiose, onde foi inoculada uma população inicial de $2,37 \times 10^{10}$ NMP/mL. Decorridos 14 dias, foi evidenciado um número da ordem de 10^{14} NMP/cm², um valor bastante significativo que mostra a adaptação do micro-organismo ao meio e a capacidade das células das BOF em se aderir a superfície do metal. Decorridos 28 dias observou-se uma

população máxima da ordem de 10^{18} , aproximadamente. Esse pico de crescimento era esperado uma vez que a literatura define um período de crescimento para as bactérias oxidantes de ferro em torno de 14 a 28 dias. Pode-se constatar um decréscimo para 10^6 no período de 42 dias, provavelmente, esse decréscimo foi devido à escassez de nutrientes, uma vez que eles foram adicionados uma única vez, no início do experimento.



Figura 4.2- Quantificação de BOF na superfície do cupom de aço carbono AISI 1010

A Figura 4.3(a) mostra o sistema anaeróbio contendo bactérias redutoras de sulfato (BRS) em água do mar. Após o sétimo dia pode-se observar o enegrecimento total do sistema evidenciando a presença de sulfetos e a sua reação com ferro o qual precipita, na forma de sulfeto de ferro (FeS), um precipitado de coloração negra (MADIGAN, MARTINKO e PARKER, 2004).

Na Figura 4.3(b) pode-se observar a superfície do cupom recoberta por um filme de coloração negra devido ao fato de o sulfeto de ferro poder depositar-se sobre as superfícies sólidas, resultando na formação de incrustações, o que intensifica o surgimento de biofilme (*biofouling*). (BEER e STOODLEY, 2006).

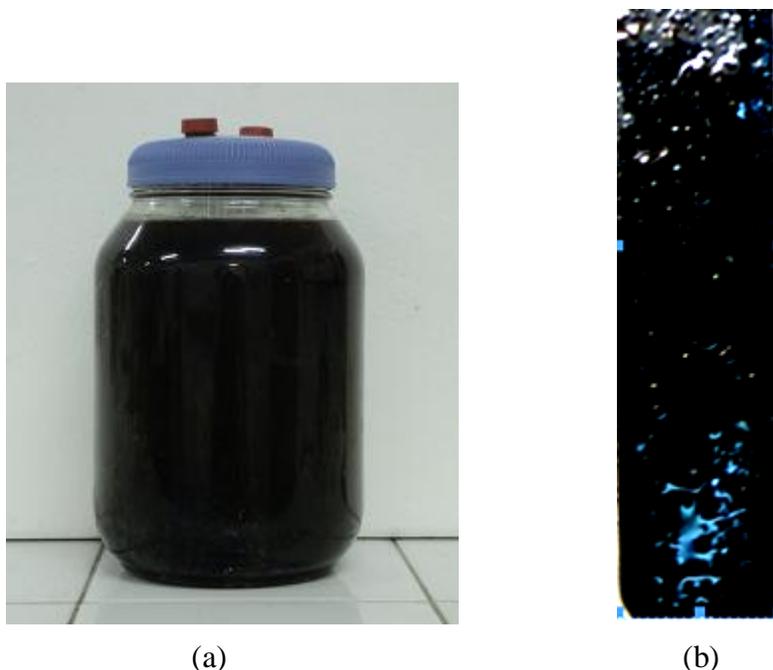


Figura 4.3- Sistema contendo BRS (a); superfície do cupom recoberta por biofilme (b).

O gráfico da Figura 4.4 mostra a quantificação de BRS nos cupons expostos à água do mar na presença apenas de BRS com população inicial de 10^{10} NMP/mL, em condições de anaerobiose. No décimo quarto dia foi constatada uma população da ordem de 10^{20} NMP/cm². Esse resultado mostra a capacidade de tais células em se aderir e colonizar superfícies metálicas, para as condições em estudo. No 28º dia pode-se observar um crescimento até a ordem de aproximadamente, 10^{22} apresentando uma queda para aproximadamente 10^8 para o 42º dia.

A redução na população da BRS pode estar relacionada à sua inibição por sulfeto devido à sua reação com metais como ferro e, sua precipitação, na forma de sulfetos metálicos. O sulfeto de ferro formado diminui a disponibilidade de ferro para o metabolismo das BRS, uma vez que o mesmo constitui um importante componente de ferredoxinas e citocromos, que realizam o transporte de elétrons no processo de redução do sulfato (MADIGAN, MARTINKO e PARKER, 2004). Adicionalmente, o sulfeto de ferro pode depositar-se sobre as superfícies sólidas, resultando na formação de incrustações, o que intensifica o surgimento de *biofouling*.

O número de BRS presentes no biofilme foi consideravelmente maior que o determinado em alguns estudos. Na literatura encontram-se relatos de populações de BRS variando de 10^3 a 10^5 NMP/cm² em biofilmes formados sobre cupons de aço carbono expostos à água do mar e submetidos a altos teores de fonte de carbono decorrentes da contaminação de despejos domésticos e industriais. Nesses estudos as populações de BRS planctônicas eram relativamente baixas, entre 10^2 - 10^3 NMP/mL, e frequentemente estavam associadas a outras espécies microbianas, dentre elas bactérias com capacidade de sintetizar exopolissacarídeos (GONÇALVES, SÉRVULO e FRANÇA, 2003; TORRES, 2001). No entanto Souza, K.A. et

al.,(2009) no monitoramento microbiológico de cupons expostos em meio de água produzida na presença apenas de BRS planctônicas com população inicial de 10^4 NMP/mL pode detectar uma população da ordem $6,2 \times 10^9$ NMP/cm² após decorridos 10 dias de processo. Esse valor relativamente elevado está associado à disponibilidade de nutrientes e a concentração inicial de micro-organismos na fase planctônica (SOUZA, SÉRVULO e FRANÇA, 2005).

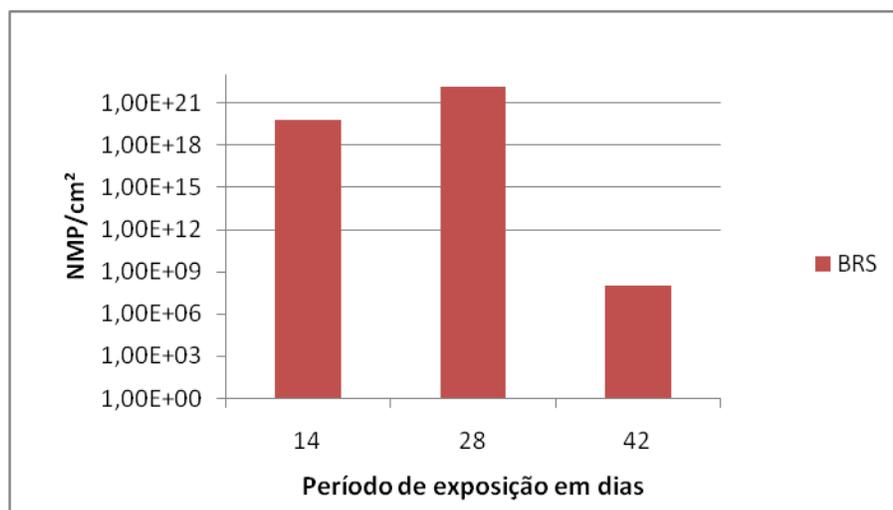


Figura 4.4- Quantificação da BRS na superfície do aço carbono AISI 1010

O considerável número de BRS demonstrou a capacidade das BRS planctônicas na adesão e colonização de superfícies sólidas, em condições de cultivo consideradas propícias. As condições nutricionais do meio favoreceram uma colonização mais intensa dos corpos de prova pelas BRS, sendo a aderência provavelmente relacionada ao material polimérico extracelular produzido pelas próprias BRS (GALVÃO, 2008; PÉREZ et al., 2007; CHAN, XU e FANG, 2002).

Na Figura 4.5(a) pode-se observar o sistema contendo BRS e BOF associadas em condições de aerobiose. Inicialmente, detectou-se a turvação do meio com uma coloração ferruginosa característico de produtos de corrosão das bactérias oxidantes do ferro, e posteriormente, foi observado um precipitado negro característico de produtos de corrosão das bactérias redutoras de sulfato.

Na superfície do corpo de prova Figura 4.5(b) foi observada a formação de tubérculos com dimensões maiores do que aqueles formados pelas BOF isoladamente, onde provavelmente no seu interior, houve o crescimento de bactérias anaeróbias redutoras de sulfato, o que pode ocasionar a corrosão embaixo desses tubérculos, formando pites. Ao fundo pode-se observar uma coloração negra devido ao sulfeto de ferro, produtos de corrosão característico das BRS (GENTIL, 2008).

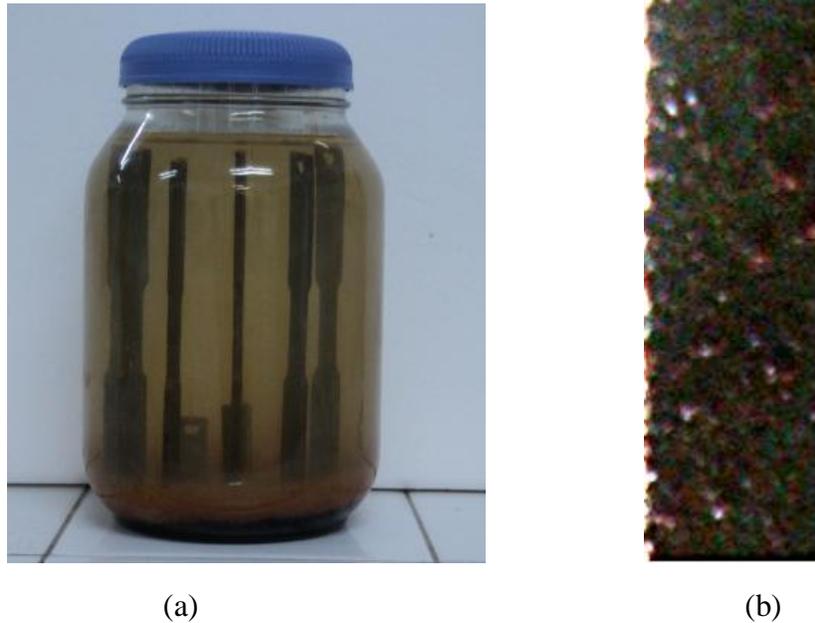


Figura 4.5 - Sistema contendo BRS e BOF associadas (a); superfície do cupom recoberta por biofilme (b).

A colonização da superfície do aço carbono por BRS e BOF quando em consórcio, foi bastante diferenciada da colonização por esses micro-organismos quando estudados isoladamente, Figura 4.6. As BOF, quando em associação, apresentaram quantidades inferiores a quantificação feita no ensaio isoladamente, permanecendo na ordem de aproximadamente 10^6 , durante praticamente todo o período de experimento. As BRS, inicialmente, apresentaram um valor inferior àquele quantificado quando isoladamente, porém apresentaram um aumento de uma ordem de grandeza para o período de 28 dias e uma queda no quadragésimo segundo dia.

A competitividade por nutrientes, provavelmente provocou essa queda na população microbiana das bactérias oxidantes do ferro quando associadas com as BRS, no entanto a condição de aeração diferencial devido ao metabolismo da BOF propiciou uma boa adaptação das BRS para 28º dia, tendo esse valor decrescido consideravelmente, para o 42º dia.

Observa-se que as BRS podem estar ativas em um sistema aeróbio. Isso se deve a sua capacidade de, quando em consórcio microbiano, colonizar regiões anaeróbias que se estabelecem nas camadas de biofilme criando condições favoráveis para seu crescimento (COSTERTON, 1986).

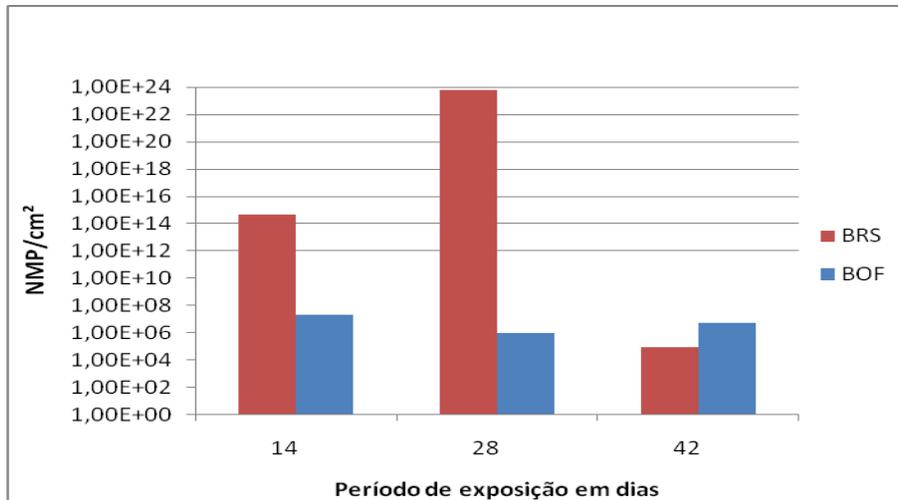


Figura 4.6 - Colonização da superfície do aço por BRS e BOF associadas

4.2. CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS BIOFILMES

A Tabela 4.14.1 caracteriza os exopolissacarídeos (carboidratos e proteínas), expelidos pelos micro-organismos nos biofilmes dos cupons, em cada sistema considerado. Pode-se perceber que em todos os sistemas, houve uma predominância das proteínas.

A composição química dos EPS é muito heterogênea e complexa, mas de uma maneira geral, são os polissacarídeos que predominam (65% do EPS) seguidos por proteínas, substâncias húmicas, ácidos nucleicos, glicoproteínas, fosfolípidos, entre outros (HORAN; ECCLES, 1986). Jahn et al. (1999) analisando biofilmes de *Pseudomonas putida* encontrou-se uma fração de 75% de proteínas nos EPS. Esta discrepância de valores demonstra a necessidade de análises da composição química do EPS, pois este é responsável pela morfologia, estrutura, coesão e integridade funcional dos biofilmes (PEREIRA, 2001).

Chongdar et al., (2005) analisaram o EPS do meio e biofilme da bactéria *Pseudomonas cichorii* em sistema estático com água salina; encontraram valores para os carboidratos e proteínas do meio: 13,6 µg/cm² e 22,3 µg/cm² respectivamente; carboidratos e proteínas dos biofilmes: 1,58 µg/cm² e 1,69 µg/cm² respectivamente.

Os EPS são considerados um dos fatores que aceleram ou inibem os processos corrosivos nos metais. Estes exopolímeros, que ancoram as bactérias sésseis nas superfícies metálicas, têm capacidade de se ligar com os íons metálicos com alta afinidade formando complexos que podem diminuir a reação de corrosão; caso na sua constituição possuam grupamentos ácidos, estes EPS aumentam a corrosão do aço por diminuição do pH interfacial (CHONGDAR et al., 2005).

Tabela 4.1 - Caracterização bioquímica dos biofilmes

<i>Caracterização Bioquímica Biofilme</i>	<i>sistema BOF</i>	<i>Sistema BRS</i>	<i>Sistema BRS+BOF</i>
<i>Carboidratos ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)</i>	4,5±1,1	5,5±1,4	5,0±1,7
<i>Proteínas ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)</i>	33,0±1,55	44,5±3,5	46,5±0,6

Zinkevich *et al.* (1996) caracterizaram os exopolímeros produzidos por duas distintas linhagens de BRS, tanto na fase planctônica quanto em produtos de corrosão severa removidos da superfície de aço carbono, em água do mar enriquecida com os constituintes do meio Postgate C, a 37°C. Segundo os autores, a composição dos materiais poliméricos sintetizados pelas culturas planctônicas foi similar, apresentando polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Por outro lado, o EPS nos biofilmes apresentou composição diferenciada, variando em rendimento e em composição de açúcares e aminoácidos, indicando que o tipo de metal e as condições do ambiente regulam a fisiologia destes microrganismos influenciando na sua resposta à interação com o habitat.

A quantidade de EPS (carboidratos + proteínas) é menor no sistema contendo apenas BOF. Este sistema apresentou taxas de corrosões superior ao sistema que continha BRS e inferior ao que continha BRS e BOF associadas. No sistema contendo o consórcio microbiano foi observada a maior quantidade de EPS, no mesmo também foi observada uma taxa de corrosão crescente para o período estudado.

O valor mais elevado de proteínas e carboidratos nos sistemas contendo BRS isolada e BRS em consórcio, provavelmente, está relacionado com o tipo de material polimérico extracelular já que, conforme evidenciado por vários autores, algumas espécies de BRS produzem EPS (CHAN, XU & FANG, 2002; PÉREZ *et al.*, 2007).

Galvão (2008) na quantificação de EPS produzido pelos biofilmes em diferentes potenciais observou que a concentração de exopolissacarídeos presentes nos biofilmes formados sob proteção catódica foi menor comparativamente aos não protegidos uma vez que a carga microbiana nos cupons polarizados era menor.

4.3. PERDA DE MASSA DOS CUPONS DE AÇO CARBONO AISI 1010

A representação gráfica das perdas de massa dos cupons de aço carbono AISI 1010, nas diferentes condições estudadas está apresentada na Figura 4.7.

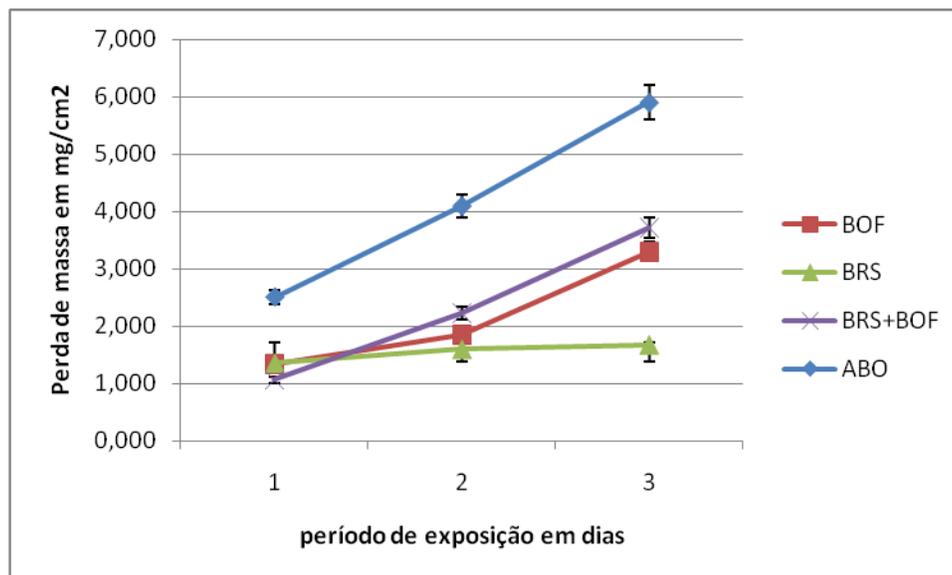


Figura 4.7 - perdas de massa dos cupons de aço carbono AISI 1010, nas diferentes condições estudadas.

Analisando o gráfico observa-se que em todos os ensaios a perda de massa aumentou gradativamente com o tempo. No entanto a maior perda de massa é observada para o sistema abiótico (ABO), isso se deve a associação do ambiente agressivo, no caso, água do mar e a presença de oxigênio, que pode comportar-se com acelerador do processo eletroquímico de corrosão (GENTIL, 2007). Em águas salgadas, ou seja, de elevada condutividade, anodo e catodo tende a se distanciar e por isso há formação do produto de corrosão longe da superfície metálica resultando em um depósito poroso pouco efetivo como barreira protetora (HAMILTON, 1995).

O sistema contendo BRS em anaerobiose apresentou as menores perdas de massa, praticamente, não variou. A presença do biofilme formado pelo micro-organismo e a ausência de oxigênio proporcionou uma situação de passivação do metal. Sheng, Ting, Pehkonen (2006) estudando uma espécie de BRS isolada da água do mar, verificaram a formação de um biofilme compacto o que segundo eles funciona como película protetora na superfície do metal. A perda de massa inferior, pode ser atribuída à formação de um filme passivante de FeS que conferiu à superfície metálica uma certa proteção contra o ataque corrosivo (NASCIMENTO, 2003).

No sistema contendo apenas bactérias oxidantes do ferro em aerobiose observa-se uma perda de massa considerável. Neste caso tem-se a associação do meio agressivo, a

água do mar, com o oxigênio e um micro-organismo que forma um biofilme bastante poroso não caracterizando um filme protetor (SHENG, TNG e PEHKONEN, 2007).

No caso do consórcio microbiano BRS mais BOF, observa-se as maiores perdas de massa dentre os sistema com micro-organismos, evidenciando, assim a sinergia entre micro-organismos aeróbios e anaeróbios em presença de oxigênio e salinidade. Provavelmente as BRS colonizaram as regiões abaixo dos tubérculos produzidos pelas BOF; regiões estas onde há um déficit de oxigênio fazendo com que os micro-organismos anaeróbios pudessem se desenvolver em sistema aeróbio (VIDELA, 2003).

4.4. TAXA DE CORROSÃO

A Tabela 4.2 mostra as taxas médias de corrosão dos corpos de prova para cada sistema nos períodos de estudo, e as respectivas classificações de acordo com a NACE RP 0775 (2005).

Os sistemas apresentaram taxas de corrosão que variaram de baixa à moderada, os sistemas, ABO e BRS apresentaram taxas decrescentes de corrosão, enquanto que os sistemas BOF isolada e BRS+ BOF associadas tiveram suas taxas de corrosão crescendo com o tempo. Pode-se ter uma visão melhor dessa variação observando o gráfico da Figura 4.8.

Tabela 4.2- Taxa de corrosão e classificação do processo corrosivo para os ensaios realizados

Tempo (dias)	Sistemas							
	ABO		BOF		BRS		BRS+BOF	
	Taxa (mm/ano)	Corrosividade	Taxa (mm/ano)	Corrosividade	Taxa (mm/ano)	Corrosividade	Taxa (mm/ano)	Corrosividade
14	0,083	Moderada	0,045	Moderada	0,045	Moderada	0,035	Moderada
28	0,068	Moderada	0,031	Moderada	0,027	Moderada	0,037	Moderada
42	0,065	Moderada	0,036	Moderada	0,019	Baixa	0,041	Moderada

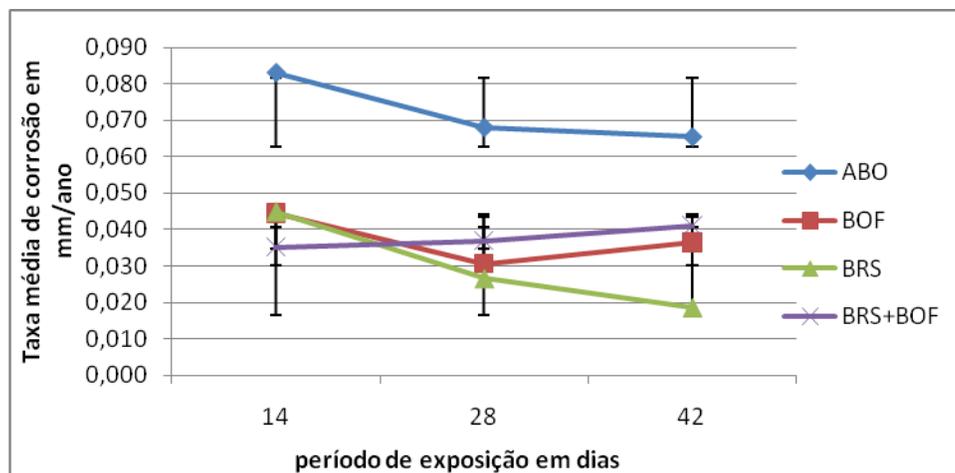


Figura 4.8-Representação gráfica da taxa de corrosão em função do tempo

No sistema abiótico a queda na taxa de corrosão pode ser causada pela hidrólise de sais, que agem como inibidores de corrosão para alguns metais, passivando o ferro em presença de oxigênio dissolvido (GUNASEKARAN, 2004). Segundo Gentil (2003) alguns destes sais como o fosfato e o silicato formam películas insolúveis constituídas de fosfatos ou silicatos de ferro, que agem como barreiras protetoras contra a corrosão.

Nemati; Jenneman; Voordouw (2001) reportam uma taxa média de 0,01 a 0,06 mm/ano para culturas puras de *Desulfovibrio* sp e para consórcio de BRS, respectivamente. Rempel; Evitts; Nemati (2006) apontam para taxas de corrosão ainda mais baixas de 0,003 a 0,02 mm/ano, mediante a presença de somente BRS. HUBERT et al. (2005) descrevem taxas de 0,01 a 0,4 mm/ano para cupons atacadas por cultura mista de BRS.

No sistema contendo BRS e BOF associadas houve uma taxa de corrosão crescente devido à sinergia microbiana existente no consórcio. A combinação da BRS e BOF demonstrou maiores taxas de corrosão do que BRS ou BOF isoladamente. As sinergias entre a superfície do metal, produtos abióticos de corrosão, ânion cloreto as células bacterianas e seus produtos metabólicos aumentou o grau de corrosão do filme podendo acelerar a propagação de pitting (Xu, Zhang, Cheng e Zhu, 2007). Galvão (2008) estudou a sinergia entre as *Pseudomonas* e bactérias redutoras de sulfato na corrosão do aço carbono 1020 em sistema aeróbio contendo água do mar acrescida de nutrientes e pode constatar taxas de corrosão de moderada a alta para a ação conjunta dos micro-organismos.

A atividade metabólica e corrosiva das BRS pode aumentar drasticamente dentro dos consórcios microbianos, que se estabelecem nas camadas de biofilmes. Nesses biofilmes formam-se regiões anaeróbias o que fornece as BRS condições favoráveis para seu crescimento(VIDELA,2003).

Estes resultados ilustram a importância de consórcios bacterianos para a corrosão microbiologicamente induzida (CMI). Os consórcios parecem ser de particular importância para processos de corrosão anaeróbia, ou seja, por BRS. As BOF podem fornecer nichos anaeróbios através de formação de biofilmes na superfície do metal e promover a corrosão pelas BRS (CHEN , FORD e CLAYTON 1998; BORENSTEIN ,1993).

4.5. ANÁLISES DAS SUPERFÍCIES DOS CUPONS

As superfícies dos cupons cobertas por biofilme foram observadas através da microscopia eletrônica de varredura.

A Figura 4.9 mostra o filme formado no aço quando exposto ao sistema abiótico (água do mar estéril). Pode-se constatar a presença de um filme poroso com a presença de rachaduras sem características de filme protetor.

Em águas salgadas, ou seja, de elevada condutividade, ânodo e cátodo tende a se distanciar, e por isso há formação do produto de corrosão longe da superfície metálica, resultando em um depósito poroso pouco efetivo como barreira protetora (HAMILTON, 1995).

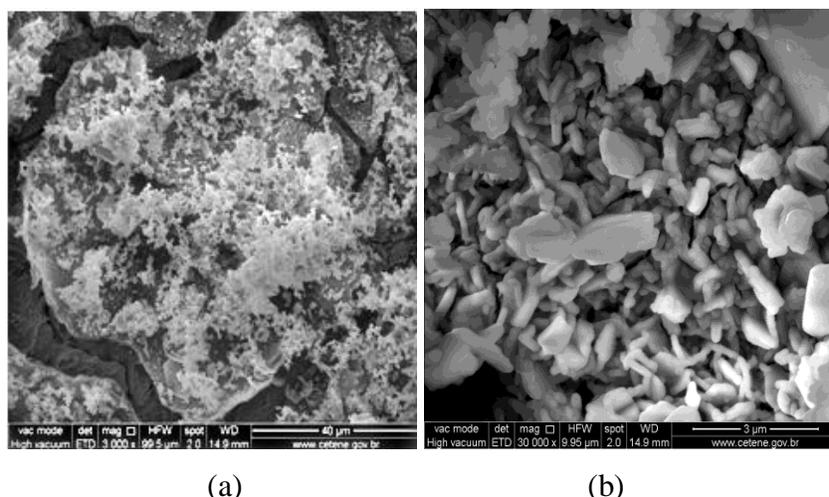
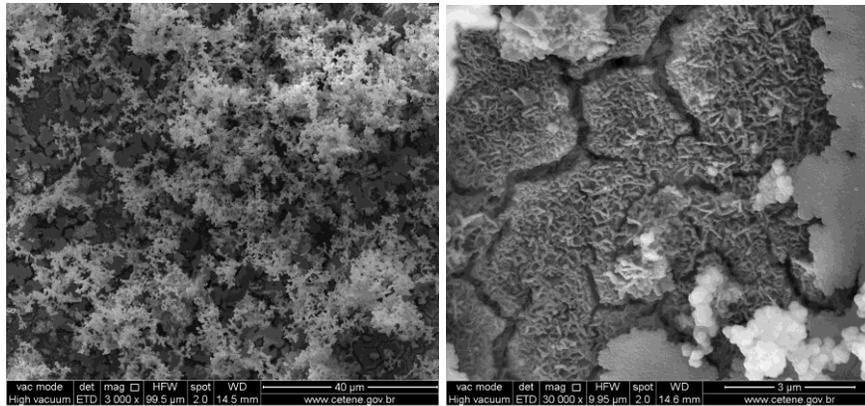


Figura 4.9 – MEV das superfícies dos corpos de prova de aço carbono AISI 1010 expostos em água do mar estéril no período de 28 dias: aumento de 3.000(a) e 30.000X(b).

No biofilme formado em presença de BOF, os produtos de corrosão apresentam-se em forma de depósitos esponjoso, como mostrado na Figura 4.9(a). Esses depósitos provavelmente são óxidos de ferro. Com uma ampliação de 30.000x, Figura 4.10(b), pode-se identificar a presença de rachaduras no biofilme o que pode justificar o aumento na taxa de corrosão para esse sistema nas condições de estudo.



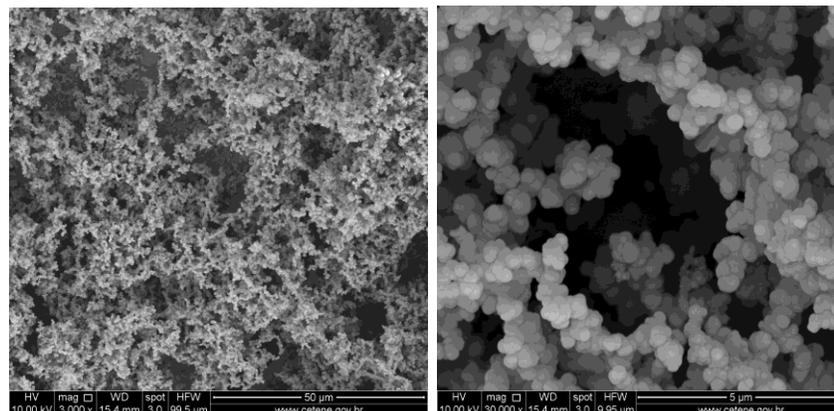
(a)

(b)

Figura 4.10 – MEV das superfícies dos corpos de prova de aço carbono AISI 1010 expostos em água do mar em presença de BOF no período de 28 dias: aumento de 3.000x(a) e 30.000X(b).

O biofilme formado por BRS apresentou-se de maneira mais uniforme e compacta, com ausência de rachaduras, o que confere uma maior estabilidade ao mesmo, Figura 4.11. Ao retirar esses cupons do sistema pode-se observar uma camada uniforme com uma coloração negra característico do sulfeto de ferro, observado na Figura 4.3(b).

A corrosividade de sulfetos dissolvidos está diretamente relacionada com a sua concentração. Shannon e Boggs (1975) observaram que para concentrações superiores a, aproximadamente 515 ppm há a formação de camadas duras e aderentes de sulfeto de ferro na superfície do aço. Essas camadas conferiram uma proteção relativa ao metal. No entanto, quando as concentrações de sulfeto eram baixas, o sulfeto de ferro era não aderente e gelatinoso conferindo pequena ou nenhuma proteção.



(a)

(b)

Figura 4.11 - MEV das superfícies dos corpos de prova de aço carbono AISI 1010 expostos em água do mar em presença de BRS no período de 28 dias: aumento de 3.000x(a) e 30.000X(b).

No sistema com BRS em consórcio com BOF, a superfície do aço apresentou um aglomerado uniforme provavelmente composto por sulfetos de ferro, óxidos de ferro e hidróxidos de ferro (Figura 4.12). O filme apresentou-se de forma bastante compacta, podendo ser observada a presença de redes poliméricas.

Neste caso de consórcio microbiano, o fato da presença de um biofilme compacto pode criar condições favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos anaeróbios na base do mesmo, no caso a BRS, provocando assim uma sinergia entre a superfície do metal, produtos abióticos de corrosão, células bacterianas e seus produtos metabólicos aumentando o grau de corrosão do filme passivo o que poderá acelerar a propagação de pites.

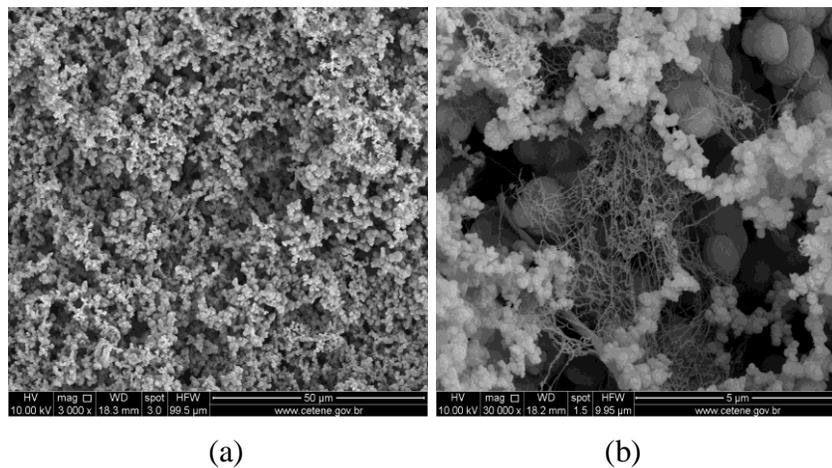


Figura 4.12- MEV das superfícies dos corpos de prova de aço carbono AISI 1010 expostos em água do mar em presença de BRS e BOF associadas, no período de 28 dias: aumento de 3.000x(a) e 30.000X(b).

Embora a quantificação de micro-organismos sésseis tenha revelado uma população com valores relativamente altos, as imagens da microscopia eletrônica de varredura não identificaram, pelo menos nas várias regiões observadas, a presença de células microbianas. Possivelmente, isso se deve à colonização desses micro-organismos em nichos mais profundos do biofilme, e por se tratar de água do mar, que apresenta uma concentração elevada de sais, esses biofilmes provavelmente poderiam estar por eles recobertos.

4.6. ENSAIOS DE TRAÇÃO

Nos ensaios de tração foi observada a variação nos seguintes parâmetros: Limite de resistência (σ_R), limite de escoamento (σ_e) e deformação (\mathcal{E}_c). Tais parâmetros foram analisados apenas para os corpos de prova expostos aos sistemas após o período total do experimento, no caso 42 dias, uma vez que, nos períodos de 14 e 28 dias não foi uma variação apreciável para tais propriedades.

Analisando esses dados graficamente pode-se ter uma visão melhor da variação ocorrida em tais propriedades com o tempo. O limite de resistência permaneceu praticamente inalterado para os sistemas abiótico e aqueles contendo BRS e BOF isoladamente, mostrado no gráfico da Figura 4.13. Esse fenômeno pode estar relacionado com o fato de nesses sistemas os cupons terem apresentado uma taxa de corrosão decrescente. No entanto, houve uma queda relativamente significativa nesta propriedade no sistema contendo BRS e BOF em consórcio. Neste sistema, como foi detectada uma taxa de corrosão crescente, com um comportamento linear, isso permite encontrar uma relação direta entre a taxa de corrosão e a resistência do material. Como pode ser observado, à medida que o meio torna-se mais agressivo, o limite de resistência diminui.

No caso de meio corrosivo, espécies químicas presentes no meio podem ser adsorvidas na superfície do material, promovendo uma diminuição da resistência da ligação interatômica, facilitando a propagação da fratura quando o material é tensionado (NUNES, 2007)

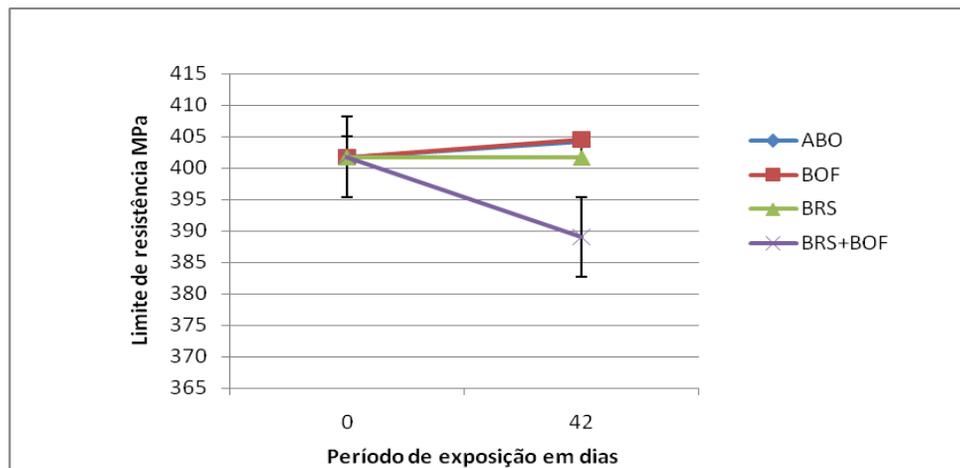


Figura 4.13- Limite de resistência dos corpos de prova expostos aos respectivos sistemas após o período de 42 dias.

O limite de escoamento aumentou em todos os cupons, como mostrado no gráfico da Figura 4.14, sendo a maior variação para aqueles expostos em meio com BRS e BOF

juntas, porém neste mesmo sistema houve uma queda na taxa de deformação do aço enquanto que, para os demais sistemas houve um aumento neste mesmo parâmetro, como mostrada no gráfico da Figura 4.15.

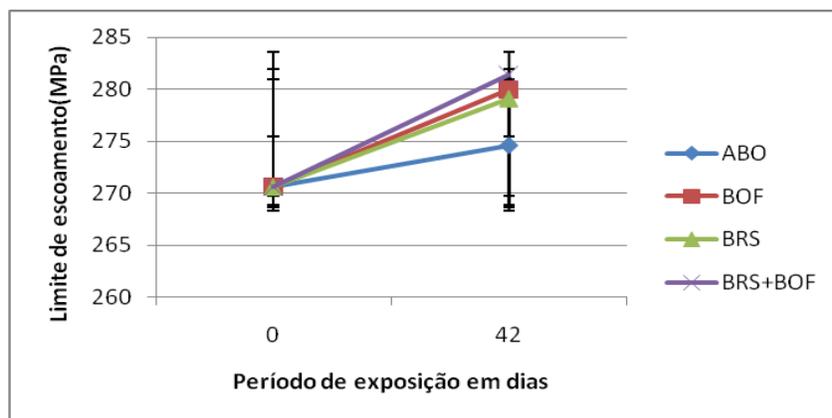


Figura 4.14- Limite de escoamento dos corpos de prova expostos aos respectivos sistemas após o período de 42 dias.

As BRS são capazes de despolarizar catodicamente as reações de corrosão através da redução de íons sulfato, por isso a sua presença está sempre relacionada ao gás sulfídrico. Em ambientes contendo gás sulfídrico e cloretos, pode haver, dependendo das condições, fragilização por hidrogênio (PANOSSIAN, 1993).

O hidrogênio no estado atômico tem grande capacidade de difusão em materiais metálicos, o qual se acumula em falhas existentes passando da forma nascente para a forma molecular e provoca o aparecimento de altas pressões no interior dessas falhas. As tensões oriundas da pressão do gás poderão ser suficientes para escoar o material podendo torná-lo mais frágil (NUNES, 2007).

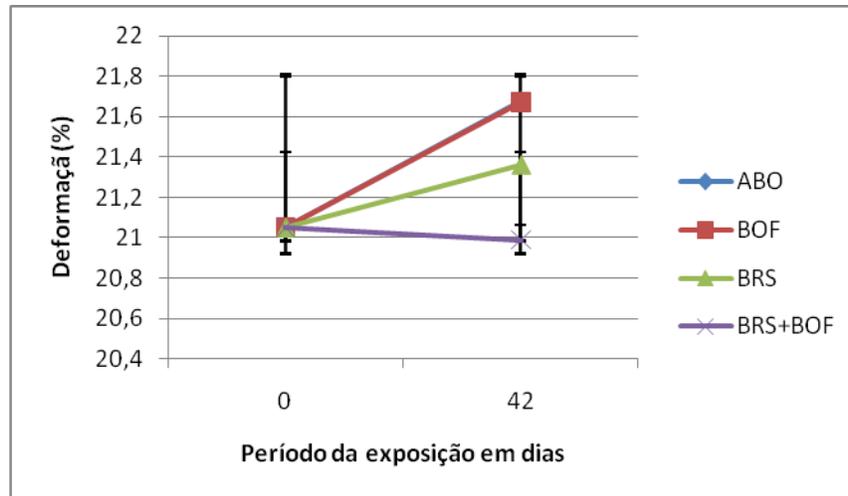


Figura 4.15 - Representação gráfica da deformação dos corpos de prova expostos aos respectivos sistemas após o período de 42 dias.

Os ensaios com BRS e BOF associadas apresentaram as maiores influências nas propriedades mecânicas dos corpos de prova. Estudos revelam que essa associação, quando em condições adequadas pode tornar-se um fator bastante influente no que diz respeito a processos corrosivos. No centro dos tubérculos, ocasionados pelas bactérias oxidantes de ferro, há o crescimento de bactérias anaeróbias redutoras de sulfato, ocasionando, então, a corrosão localizada embaixo desses tubérculos, podendo levar a formação de pites de corrosão, uma vez que esse material é tensionado a existência de pites pode afetar severamente suas propriedades, fragilizando o mesmo.

Na presença de cloretos pode haver formação de pites em forma de fendas, com largura da ordem de dimensões atômicas, os quais quando submetidos à tensão, podem levar a corrosão transgranular do aço (NUNES, 2007).

5. Conclusões

5.1. CONCLUSÕES

- As bactérias oxidantes de ferro, quando estudadas isoladamente em água do mar apresentaram pouca influência na taxa de corrosão do aço carbono AISI 1010 nas condições de estudo. Inicialmente a BOF formou um filme protetor na superfície dos cupons, o qual posteriormente, provavelmente devido a sua porosidade provocou um pequeno aumento na taxa de corrosão;
- As bactérias redutoras de sulfato, quando estudadas isoladamente em água do mar em anaerobiose apresentaram pouca ou nenhuma interferência na taxa de corrosão do aço carbono AISI 1010 nas condições de estudo;
- A associação de culturas microbianas, BRS e BOF em aerobiose, foi a mais adequada para o desenvolvimento das BRS. Apesar desses micro-organismos serem aeróbios, provavelmente o seu crescimento ocorreu, principalmente, nas regiões de condição de aeração diferencial promovida pelas BOF ao consumirem oxigênio no seu metabolismo. Porém tal associação foi a menos adequada para as BOF, uma vez que a sua concentração permaneceu praticamente inalterada durante todo o período de experimento;
- Todos os sistemas apresentaram taxas decrescentes de corrosão no período de estudo, exceto aquele contendo BRS e BOF em consórcio, que apresentou um crescimento linear no período estudado, demonstrando, assim, a importância da sinergia microbiana na corrosão do aço carbono AISI 1010 nas condições de estudo;
- Inicialmente, no sistema abiótico foi observada uma taxa de corrosão superior aos demais sistemas, isso se deve a natureza eletrolítica da água do mar e ao fato de não haver formação de filme passivo, o que pode ocorrer em sistemas bióticos. Porém, a tendência posterior, foi de uma queda da taxa no sistema abiótico, e um aumento no sistema biótico, ou seja, inicialmente a tendência no sistema biótico é a formação de biofilme o que pode causar, em determinadas condições, uma passivação do material. Porém dependendo do metabolismo do micro-organismo, da morfologia do biofilme e das condições do meio pode levar a corrosão severa do material exposto.
- Quanto aos ensaios mecânicos foi observada uma maior perda nas propriedades do material quando exposto ao meio contendo BRS e BOF associadas. Tal fato pode estar relacionado com o metabolismo das BRS no interior dos tubérculos formados pelas BOF uma vez que as BRS promovem a redução sulfato SO_4^{2-} a H_2S , responsável pela formação de pites de corrosão em superfícies metálicas;

6. TRABALHOS FUTUROS

Com base nos experimentos realizados e nos resultados obtidos, recomendam-se os seguintes estudos, que viriam a contribuir com uma maior abrangência neste trabalho:

- Fazer experimentos com maior duração e com retirada de corpos de prova com maior frequência, com o objetivo de mapear a influencia das bactérias nas propriedades mecânicas e de resistência à corrosão do aço carbono;
- Associar os meios usados com solicitação mecânica;
- Investigar a produção de gás sulfídrico nos meios com BRS, de modo a quantificar o gás e associar com possíveis influências no processo corrosivo, nas propriedades mecânicas, e na fragilização;
- Investigar a formação de biofilme para determinar a cinética de formação, a estabilidade do filme formado e sua influencia sobre a taxa de corrosão e nas propriedades mecânicas.
- Investigação da influência do hidrogênio e cloro nas discordâncias e interferência nos limites de resistência e escoamento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT NBR 6152. Materiais metálicos – Ensaio de tração à temperatura ambiente. Rio de Janeiro: 2002.

ABM – Associação Brasileira de Metais – Corrosão e Tratamentos Superficiais dos Metais, 1971.

ASTM E8M. Standard Test Methods for Tension Testing of Metallic Materials [Metric]. USA: American Society for Testing and Materials, 1999

BACHE, M.R.; EVANS W.J.; HARDY, M.C. The effects of environment and loading waveform on fatigue crack growth in Inconel 718. *International Journal of Fatigue*. V.21, p. S69-S77, 1999.

BANNING , N.; TOZE, S.; MEE, B. J. Persistence of biofilm-associated *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in groundwater and treated effluent in a laboratory model system, *Microbiology*, v. 149, 2003.

BARROS NETO, B. *et al.* Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 3ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 2007. 480p.

BARTON, L. L.; TOMEI, F. A. Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria. In:

BARTON, L. L.(Ed.). Sulfate-reducing bacteria. New York: Plenum Press, 1995. cap. 1, p.1-32. (Biotechnology Handbooks, 8).

BEER; D.; STOODLEY, P.. Microbial Biofilms. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K-H.; STACKEBRANDT, E. (Ed.). *The prokaryotes*. 5.ed. Nova Iorque: Springer, 2006. 1 v. cap.3.10, p. 904-937.

BEECH IB, SUNNER J. BIOCORROSION: towards understanding interactions between biofilms and metals. *Curr Opin Biotechnol* 2004;15:181–6.

BERGEY'S MANUAL. Manual of systematics bacteriology, Baltimore: Williams & Wilkins, v.1, 9th ed., 1984, p.141-165,420-22,462-3,465-9.

B. LITTLE, P. WAGNER, F. MANSFELD, *ELECTROCHIM. ACTA* 37 (1992) 2185.biofilme compacto com metal sulfetos.BORENSTEIN SW. Microbiologically Influenced Corrosion Handbook. Cambridge:Woodhead Publishing, Ltd.; 1993. p. 1–5.

BROWN, THEODORE L. Química, a ciência Central. São Paulo: Pearson prentice Hall,2005.

CAATRO, H F.; WILLIAMS, N. H. E OGRAN, A. (2000). Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, v.31, p. 1-9.

CALLISTER; W. D. *Ciência e Engenharia dos Materiais: Uma Introdução*. Rio de Janeiro: Editora LTC, 5ª edição, 2002.

CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. *Biofilms*. New York ; A Wiley-Interscience, 1990.

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

CHANG, Y. J.; CHANG, Y. T.; CHEN, H. I. A method for controlling hydrogen sulfide in water by adding solid phase oxygen. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 478-483, 2007.

CHEN, Q.; KAWAGOISHI, N.; NISITANI, H. Evaluation of fatigue crack growth rate and life prediction of Inconel 718 at room and elevated temperatures. *Materials Science and Engineering*, V. A277, p. 250-257, 2000.

CHEN G, FORD TE, CLAYTON CR. Interaction of sulfate-reducing bacteria with molybdenum dissolved from sputter-deposited molybdenum thin films and pure molybdenum powder. *JColloid Interface Sci* 1998;204:237.

CHEUNG, C.W.S., 1995. *Biofilms of marine sulphate-reducing bacteria on mild steel*. Ph. D. Thesis, University of Portsmouth.

CHONGDAR. S.; GUNASEKARAN, G; KUMA, P. Corrosion inhibition of mild steel by aerobic biofilm. *Electrochimica Acta* 50 (2005) 4655–4665.

CIZELJ, L.; HAUER, I.; ROUSSEL, G.; CUVELLIEZ, C. Probabilistic assessment of excessive leakage through steam generator tubes degraded by secondary side corrosion. *Nuclear Engineering and Design*. V.185, p. 347-359, 1998.

CONGMIN XU, YAOHENG ZHANGA, GUANG XU CHENG, WENSHENG ZHU AXI'AN JIAOTONG. Pitting corrosion behavior of 316L stainless steel in the media of sulphate-reducing and iron-oxidizing bacteria. *Materials characterization* 59 (2008) 245–255.

COOPER, K.P.; SLEBODNICK, P.; THOMAS, E.D. Seawater corrosion behavior of laser surface modified Inconel 625 alloy. *Materials Science and Engineering*, V.A206, p.138-149, 1996.

COSTERTON, J.W., GEESEY, G.G., CHENG, K.J., 1978. How bacteria stick. *Scientific American* 238, 86–95.

COSTERTON JW, LEWANDOWSKI Z, CALDWELL DE, KORBER DR, LAPPIN-SCOTT HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711.

CRAVO JUNIOR, W. B. Estudo do Efeito de Diferentes Parâmetros na Formação de Biofilmes e no Processo de Biocorrosão. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Agência Nacional do Petróleo, 2004.

CYPIONKA, H. (2000) Oxygen respiration by *Desulfovibrio* species. Annual Reviews of Microbiology, 54:827-48.

CYPIONKA, H. Solute transport and cell energetics. In: BARTON, L. L.(Ed.). Sulfatereducingbacteria. New York: Plenum Press, 1995. cap. 6, p. 151-184. Biotechnology Handbooks, 8).

CZYRYCA, E.J. Fatigue and corrosion Fatigue properties of alloys 625 plus, 718, 725 and K-500. In: 4th International Symposium on Superalloys 718, 625, 706 and derivatives, 1997, Pittsburgh. Anais... p.639-652.

DANEBERG S. KRODER M. DILLING W CYPIONKA, H (1992) Oxidation of H₂, organic compounds and inorganic sulfur compounds coupled to reduction of O₂ or sulfate-reducing bacteria. Arch Microbial 158:93-99

DEVEREUX, R; DELANEY, M; WIDDEL, F e STAHL, D. (1989). National relationships among Sulfate-Reducing Eubacteria. Journal Bacteriology, v. 171,p. 6689-6695.

DIETER, G.E. *Metalurgia mecânica*. 2.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Dois, 1981.

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.

EDWARDS,KJ.; HU, B.; HAWERS, R.J.; BANFIELD,J.F. A new look at microbial leaching patterns on sulfide minerals. FEMES Microbiology Ecology, n34, p.197-206,2001.

FRELEIRA, P.; SANTOS, B. S.; ANTONIO, C.; MORADAS-FERREIRA, P.; LEGALL, J.; XAVIER, A. V.; SANTOS, H. (2003) Response of a strict anaerobe to oxygen: survival strategies in *Desulfovibrio gigas*, *Microbiology*, 149; 153-1522.

FERREIRA, R.J, Utilização da Metodologia da Integral J para Avaliação da Fragilização pelo Hidrogênio do Aço API C110 Utilizado na Indústria do Petróleo. Tese de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2002.

F. MANSFELD, H. HSU, D. O`RNEK, T.K. WOOD, B.C. Syrett, J. Electrochem. Soc. 149 (2002) B130.

FONTANA,MG. Corrosion Engineering, 3rd. ed., McGraw-Hill,NY, 1986, pp,1-5.

FRANÇA, F. P *et al*. Effect of different salinities of a dynamic water system on biofilm formation. *J. Ind. Microb. & Biot.*, V. 25, p. 45-48, 2000.

FREITAS, A. L.; BARTH, A. L. Typing of *Pseudomonas aeruginosa* from hospitalized patients: a comparison of susceptibility and biochemical profiles with genotype, Brazilian Journal of Medical Biology Research., v. 37, n. 1,p. 77-82, 2004.

GALL, J.L. e XAVIER, A, (1996). Anaerobes response to oxygen: the sulfate-reducing bactéria. *Anaerobe*, v.2, p. 1-9

GALVÃO, M. M. Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

GARCIA, A.; SPIM. J.A.; SANTOS, C. A. dos. *Ensaio dos materiais*. Rio de Janeiro, LTC, 2000.

GENTIL, V. *Corrosão*. 4^a ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 2003. 341p.

GENTIL, V. *Corrosão*. 5^a ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 2007- Reimpresão 2007. 341p.

GERCHAKOV SM, LITTLE BJ, WAGNER P. Probing microbiologically induced corrosion. *Corrosion* 1986;42:689–92.

GOLDSTEIN, J.; NEWBURY, D.; Joy, D.; LYMAN, C.; ECHLIN, P.; LIFSHIN, E.; SAWYE, L.; MICHAEL, J. “Advanced scanning electron microscopy and x-ray microanalysis”. 3 ed. New York: Plenum Press , 2003. 724p.

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

GONZÁLEZ, J.E.G., SATANA, F.J.H., MIRZA-ROSCA, J.C. 1998. Effect of bacterial biofilme on 316SS corrosion in natural seawater by eis. *Corrosion Science*, v. 40, p.2141-2154.

GONZALEZ, J.G.; FIONOVA, L. The effect of structural evolution in Inconel 601 on intergranular corrosion. *Material Chemistry and Physics*. V.56, p.70-73, 1998

GUNASEKARAN, G *et al*. Influence of bactéria on film formation inhibiting corrosion. *Corrosion Science*, V.46, p.1953-1967, 2004.

G. GUNASEKARAN, S. CHONGDAR, S.N. GAONKAR, P. KUMAR, *Corros. Sci.* 46 (2004) 1953.

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

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

JAVAHERDASHTI, R. 1999. A review of some characteristic of MIC caused by sulfate-reducing bacteria: past, present and future. Anti-corrosion Methods and Materials, 46(3): 173-180.

KOCH, G.H.; BRONGERS, M.P.H.; THOMPSON, N.G.; VIRMANI, Y.P.; PAYER, J.H. Corrosion costs and preventive strategies in the US. Report by CC Technologies Laboratories Inc. to Federal Highway Administration (FHWA), Office of Infrastructure Research and Development Report FHWA-RD-01-156, 2001.

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

LITTLE, B.; WGNER, P.; DUQUETTE, D Microbiologically induced increase in corrosion current density of stainless steel under cathodic protection. Naval Ocean Research and Development Activity Stennis Space center MS. 1988

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J (1997). Microbiologia de Brock. Tradução de Cynthia Maria Kiaw. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

MINTZ, T.S.; DEVINE, T.M. Influence of surface films on the susceptibility of Inconel 600 to stress corrosion cracking. Engineering Materials. V.261-263, p.875-884, 2004.

MAGNIN, T.; NOEL, D.; RIOS, R. "Microfractographic aspects of stress corrosion cracking of Inconel 600 in a pressurized water reactor environment". Materials Science & Engineering A: Structural Materials: Properties, Microstructure and Processing. V.A177, p. L11-L14, 1994.

NACE STD TM 0177: "Laboratory Testing of Metals for Resistance to Sulfide Stress Cracking in H₂S Environments", 1990.

NATIONAL ASSOCIATION OF CORROSION ENGINEERS. **NACE-RP-07-75:** preparation, installation, analysis, and interpretation of corrosion coupons in oilfield operations. Houston, 2005. 19 p.

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

OLIVEIRA, S. H. Produção de goma xantana a partir de soro de leite por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-4. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

ORNEK, D.; WOOD, T. K.; HSU, Z. SUN, MANSFELD, F. 2002. Corrosion control using regenerative biofilms (CCURB) on brass in different media. Corrosion Science, 44:2291-2302.

PAPAVERO, N. (Org.) Fundamentos práticos de taxonomia zoológica. 2^a ed. São Paulo: UNESP, 1994. p. 121-167.

PEREIRA, M. O. Comparação da eficácia de dois biocidas (carbamato e glutaraldeído) em sistemas de biofilme. 2001. 211p. Tese (Doutorado), Universidade do Minho, Braga, 2001.

PEREZ, E. J.; CABRERA-SIERRA, R.; GONZALEZ, I.; RAMIREZ-VIVES, F. Influence of *Desulfovibrio* sp. biofilm on SAE 1018 carbon steel corrosion in synthetic marine medium. **Corrosion Science**, v.49, p. 3580- 3597, 2007.

PERES, F. A. S. Tratamento de Águas de Resfriamento com Peróxido de Hidrogênio. 94p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais e Metalurgia) - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

PITONZO BJ, CASTRO P, AMY PS, SOUTHAM G, JONES DA, RINGELBERY D. Microbiologically influenced corrosion capability of bacteria isolated from Yucca Mountain. *Corrosion* 2004;60:64-74.

POSTGATE, J. R. The sulphate-reducing bacteria. 2. ed. Cambridge: University Press, 1984. 209 p. R.F. Jack, D.B. Ringelberg, D.C. White, *Corros. Sci.* 33 (1992).

SASS, H.; CYPIONKA, H e BABENZIEN, H-D. (1997). Vertical distribution of sulfate-reducing bacteria at the oxic-anoxic interface in sediments of the oligotrophic Lake Stechlin. *FEMS Microbiology Ecology*, v.22, p. 245-255.

SHEN, C.H.; SHEWMON, P.G. Mechanism for hydrogen-induced intergranular stress corrosion cracking in Alloy 600. *Metallurgical Transactions A (Physical Metallurgy and Materials Science)*. V.21A, p.1261-1271, 1990.

SHENG, XIAOXIA; TING, YEN-PENG; PEHKONEN, S. O.I. The influence of sulphate-reducing bacteriabiofilm on the corrosion of stainless steel AISI 316, *Corrosion Science*, 49, 2007, 2159 a 2176.

SILVA, E. R. O curso da água na história: simbologia, moralidade e a gestão de recursos hídricos, tese de doutorado, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 1998, 201fs.

SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica da água. São Paulo: Varela Editora e Livraria LTDA, 2005. 164 p.

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

SOUZA, S. A. Ensaios Mecânicos de Materiais Metálicos. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 5^a edição, 1982.

STAROSVETSKY, D.; ARMON, R.; YAHALOM,; STAROSVETSKY, J. Pitting corrosion of carbon steel by iron bacteria. *International Biodeterioration*, v.47, p.79-87,2001.

TORRES, E. S. Potencialidade de PIGs na remoção de biofilmes formados em dutos. 2005. 108 p. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos, 3a. ed., São Paulo: Atheneu, 1216p., 2001.

VALENCIA-CANTERO E, PENA-CABRIALES JJ, MARTINEZ-ROMERO E. The corrosion effects of sulfate- and ferric-reducing bacterial consortia on steel. *Geomicrobiol J* 2003;20:157-69.

VIDELA, H. A. *Biotechnology: Corrosão Microbiológica*, Volume 4, São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda., 1981

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

VON WOLZOGEN KUHR CAH, VAN DER FLUGT LS; DE GRAFITEERING VAN GIETIJZER ALS, *Electrobiochemisch Proces in Anaerobe Gronden*. *Water (den Haad)* v.18, p.147-165, 1934. [Tradução para o inglês publicada em 1961: *Corrosion*, v.17, p.293-299.

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

ZINKEVICH, V., BOGDARINA, I., KANG, H., HILL, M.A.W., TAPPER, R., BEECH, I.B. Characterisation of exopolymers produced by different isolates of marine sulphate-reducing bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, p.163-172, 1996.

8. Anexos

Tabela 8.1– Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono no estado padrão.

<i>Padrão</i>		<i>Desvio padrão</i>
σ_R (Mpa)	401,77	$\pm 31,67$
σ_e (Mpa)	270,59	$\pm 13,53$
\mathcal{E}_C (%)	21,05	$\pm 2,7$

Tabela 8.2 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono expostas à água do mar estéril.

<i>ABO</i>	<i>42 dias</i>	<i>Desvio padrão</i>
σ_R (Mpa)	404,26	$\pm 26,68$
σ_e (Mpa)	274,59	$\pm 6,42$
\mathcal{E}_C (%)	21,68	$\pm 0,52$

Tabela 8.3 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono expostos à água do mar contendo BOF.

<i>BOF</i>	<i>42 dias</i>	<i>Desvio padrão</i>
σ_R (Mpa)	404,51	$\pm 19,59$
σ_e (Mpa)	279,99	$\pm 4,07$
\mathcal{E}_C (%)	21,67	$\pm 0,82$

Tabela 8.4 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono expostos à água do mar contendo BRS.

<i>BRS</i>	<i>42 dias</i>	<i>Desvio padrão</i>
σ_R (Mpa)	401,71	$\pm 27,51$
σ_e (Mpa)	279,13	$\pm 15,23$
\mathcal{E}_C (%)	21,36	$\pm 0,5$

Tabela 8.5 - Propriedades mecânicas dos corpos de prova de aço carbono expostas à água do mar contendo BOF+ BRS.

<i>BRS+BOF</i>	<i>42 dias</i>	<i>Desvio padrão</i>
σ_R (Mpa)	389,00	$\pm 20,08$
σ_e (Mpa)	281,39	$\pm 7,51$
\mathcal{E}_C (%)	20,99	$\pm 0,36$