*Copyright 2008, ABRACO*
*Trabalho apresentado durante o INTERCORR 2008, em Recife/PE, no mês de maio de 2008.*
*As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).*

# Avaliação da Formação de Biofilmes e Biocorrosão em Cupons AISI 304L Imersos em Água Salina.

Glória Mª Vinhas[1], Severino L. Urtiga F [2], Sara H. de Oliveira[3], Yêda M. B. de Almeida [4], Cristhiane M. de Andrade[5], Flávia R. do Nascimento[6], Jonatas B. Xavier[7], Lívia A.Santos[8] Maria Alice G. de Andrade Lima [9], Francisca P.de França [10].

## Abstract

The microbially influenced corrosion correspond to the deterioration of metallic materials, in consequence of the activity of a variety of microorganisms, that through its growth and metabolism originate aggressive environments, or participates modifying the interface metal/solution to induce, to speed up or to inhibit the anodic or cathodic process that controls the corrosion reaction. To evaluate this process the interaction of areas is necessary as the microbiology, electrochemical and sciences of the materials. This work had as objective to evaluate the biocorrosion of coupons AISI 304L in water of the sea proceeding from a Thermoelectrial Plant located in SUAPE-PE. The experiments had been lead in opened static system, with useful volume of 34L. The coupons had been collected and analyzed in the period of the 90 and 120 days, under the microbiological aspect. It was quantified the aerobic bacteria and anaerobic totals, iron-oxidants bacteria, sulfate-reducing bacteria (SRB), *Pseudomonas aeruginosa* as well as fungi filamentous of the water collected of termoelétric and the water of the reactor, as well as of removed metallic coupons of the system. It was observed the formation of the biofilms in the all reactor and the corrosion by pites in the coupons.

## Resumo

A corrosão microbiológica corresponde à deterioração de materiais metálicos, em conseqüência da atividade de uma variedade de microrganismos, que através do seu crescimento e metabolismo originam ambientes agressivos, ou participam modificando a interface metal/solução para induzir, acelerar ou inibir o processo anódico ou catódico que controla a reação de corrosão. Para avaliar esse processo é necessária a interação de áreas como a microbiologia, eletroquímica e ciências dos materiais. Este trabalho teve como objetivo avaliar a biocorrosão de cupons AISI 304L em água do mar proveniente de uma usina termoelétrica localizada no Complexo Industrial Portuário de SUAPE-PE. Os experimentos foram conduzidos em sistema estático aberto, com volume útil de 34L. Os cupons foram coletados e analisados microbiologicamente, num período de 90 e 180 dias. Foram

[1] DSc., UFPE-Professor
[2] DSc., UFPE- Professor
[3] MSc., UFPE-Doutoranda
[4] PhD., UFPE- Professor
[5] Estudante, UFPE- Graduanda
[6] MSc., UFPE - Bolsista
[7] Estudante, UFPE- Graduando
[8] Estudante, UFPE- Mestranda
[9] DSc., UFPE- Professor
[10] DSc, EQ-UFRJ- Professor

quantificadas as bactérias aeróbias e anaeróbias totais, oxidantes do Ferro, as redutoras do sulfato, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos filamentosos da água coletada da termoelétrica e da água do reator, bem como dos cupons metálicos retirados do sistema. Foi observada a formação de biofilmes e a corrosão por pites nos cupons.

Palavras-chave: biocorrosão, água do mar, biofilme, cupons AISI 304L.

## Introdução

No Brasil como em muitos países, a preocupação com a estabilidade dos materiais metálicos é freqüente. Várias são as tentativas de retardar a corrosão, que se trata de um processo espontâneo, na qual o metal tende a voltar ao seu estado de menor energia.

Em muitos casos a corrosão pode ser induzida ou acelerada por microrganismo a qual é denominada de biocorrosão. A corrosão induzida por microrganismos está diretamente associada com a eletroquímica onde, em ambos os casos, têm-se uma região anódica desenvolvendo um processo de oxidação que leva à dissolução do metal (corrosão) e, simultaneamente, à redução de algum componente do meio através da reação catódica [(1)]. Os microrganismos participam deste processo de forma ativa sem alterar a natureza eletroquímica do fenômeno, apenas induzindo e acelerando o processo de corrosão [(2)]. O mecanismo da biocorrosão envolve o crescimento do microrganismo 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 microrganismos e podem estar presente tanto em fluxos turbulentos como em águas paradas sobre diversos tipos de superfícies metálicas apresentando geralmente uma espessura em torno de 20-80 nm [(3,4)].

O mecanismo da formação do biofilme na superfície do substrato envolve: i) transporte e adsorção de moléculas orgânicas; ii) transporte de células microbianas; iii) adesão de células microbianas; iv) crescimento dentro do biofilme, nesta etapa ocorre a multiplicação e produção de polímeros extracelular responsável pela aderência irreversível e v) desprendimento das camadas mais externas [(5)].

Segundo Videla (1994), 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.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a biocorrosão de cupons AISI 304L em água do mar proveniente de uma usina termoelétrica localizada no Complexo Industrial Portuário de Suape – PE, onde foram quantificados os diferentes grupos de microrganismos responsáveis pelo processo de biocorrosão e foi também avaliada a taxa de corrosão.

## Etapa Experimental

### Materiais

Foi utilizado o metal do tipo aço inox AISI 304L com dimensões de 50 x 50 x 2,5mm.

### Tratamento dos cupons metálicos

Os cupons metálicos foram previamente tratados antes de cada experimento, através de jateamento com areia para remoção de incrustações aderidas na superfície, desengraxamento com álcool isopropílico para remoção de gorduras, e posteriormente tratados com acetona para retirada da umidade. Após secagem em dessecador por 24 horas, os cupons foram pesados ao décimo de miligrama e, só então, utilizados nos experimentos [(1)].

### Fluido de Processo

Foi utilizada água do mar proveniente da usina termoelétrica localizada no Complexo Industrial Portuário de Suape no Cabo de Santo Agostinho – PE. As amostras de água do mar foram sempre coletadas no mesmo local e analisadas microbiologicamente e quimicamente e, posteriormente foram depositados em sistema estático denominado reator - cuja descrição será posteriormente apresentada.

### Análises microbiológicas

I - *Quantificação de Bactérias Aeróbias* – Estas bactérias foram quantificadas através da técnica do número mais provável (NMP), usando solução salina (35,9g/L NaCl) durante as diluições. A incubação foi a 30 ± 1ºC por 48 horas.[(6)].

*II* - *Quantificação de Pseudomonas aeruginosa* - Este grupo microbiano foi quantificado através de duas técnicas; numero mais provável (NMP) para análise dos microrganismos planctônicos, com ensaio presuntivo em meio de Asparagina e ensaio confirmativo em meio de Acetamida. Em Asparagina o meio foi incubado em até 96h à 35ºC, e para a confirmação em Acetamida o meio foi incubado por 48h à 35ºC. A análise das *Pseudomonas* sésseis foi feita através da Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), usando a técnica "pour-plate", em placas de Petri contendo meio específico para isolamento de *Pseudomonas* (*Pseudomonas* isolation agar). A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a 30 ± 1ºC por 48 horas [(7)].

*III* - III - *Quantificação de Ferrobactérias* - Foram quantificadas pela técnica do número mais provável (NMP), usando meio citrato férrico amoniacal, incubação a 30 ± 1ºC por 14 dias, ao abrigo da luz. A formação de uma coloração avermelhada (ferruginosa), causada pela formação de óxidos de ferro, caracterizou o crescimento destes microrganismos[(6)].

*IV* - IV - *Quantificação de Bactérias Anaeróbias* – Estas bactérias também foram quantificadas pela técnica do número mais provável (NMP) usando-se frascos do tipo

penicilina (10mL de capacidade) contendo 9,0mL de meio fluido ao Tioglicolato, purgados com nitrogênio durante 20 minutos e 1,0mL das respectivas diluições em solução redutora. Os frascos contendo o meio de cultura foram vedados com tampas de borracha e lacres metálicos, a fim de manter anaerobiose. A incubação foi a 30 ± 1ºC por 28 dias.[6].

V - *Quantificação de Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)* – A quantificação deste grupo microbiano foi igualmente feita pela técnica do NMP, aplicando-se a mesma metodologia descrita bactérias anaeróbias, utilizando o meio Postgate E modificado. A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a 30 ± 1ºC no período entre 28 a 45 dias. Após este tempo, o escurecimento do meio confirmou o crescimento das BRS. A coloração negra é conseqüência da formação de depósitos de sulfeto de ferro [6].

*VI* - *Quantificação de Fungos Filamentosos* - Este grupo microbiano também foi quantificado através da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), usando a técnica "pour-plate", em placas de Petri contendo gelose Sabouraud (g/L) (Merck). A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a 30 ± 1$^{o}$C por 72 horas [6].

Os meios para bactérias aeróbias foi autoclavado a 0.5 atm durante 15 minutos. E os meios para bactérias oxidantes do ferro, *Pseudomonas aeruginosa*, Fungos, bactérias anaeróbias e BRS foram autoclavados à 1atm durante 20 minutos.

**Teste de Biocorrosão**

Os experimentos foram conduzidos em sistema estático aberto usando reator construído em vidro com as seguintes dimensões 50 x 25 x 30 cm$^3$ e volume útil de 34L, no qual foi introduzido o fluido de processo.

Os cupons metálicos foram expostos à água do mar e o monitoramento destes foi feito com a troca da água, a cada 15 dias [9] no período de 90 e 180 dias. Os biocupons foram analisados através de perda de massa, taxa de corrosão e microrganismos sésseis. Determinou-se também a microbiota planctônicas durante o processo.

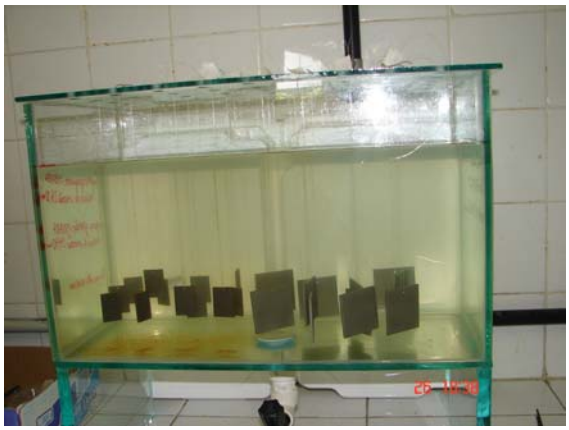

**Figura 1**- Sistema estático para utilização dos experimentos.

**Perda de massa e Taxa de corrosão**

Os cupons foram pesados antes do início do processo, após decapagem ácida, onde foram banhados em solução de ácido clorídrico 26% por 5 segundos, lavados em água destilada, neutralizados com solução de NaOH a 10% (p/v) durante 5 segundos e, novamente lavados em água destilada. Por fim, os cupons foram imersos em álcool isopropílico por 5 segundos e, depois, em acetona por mais 5 segundos. Os cupons tratados foram deixados em dessecador por 24 horas, antes de efetuar a pesagem [8]. A retirada do biofilme foi realizada por raspagem com espátula apropriada.

## Resultados e Discussão

A água do mar e do reator foram analisadas e trocadas a cada 15 dias. As análises para quantificação dos microrganismos planctônicos e sésseis, bem como a taxa de corrosão foram feitas no período de 90 e 180 dias.

**Quantificação dos microrganismos presentes nos cupons metálicos (microrganismos sésseis).**

Os microrganismos são capazes de se adaptar em condições ambienteis extremas, sendo a formação de biofilme um exemplo de forma organizada da vida microbiana.

O biofilme é formado em função das variações qualitativas e quantitativas dos constituintes do fluido e das populações microbianas com o tempo. Tal fato é decorrente da adesão de novas células, crescimento dos microrganismos já presentes e/ou daqueles recentemente aderidos, morte de algumas células por limitação nutricional ou desprendimento de partes do biofilme, devido às forças hidrodinâmicas [9,10]. Um importante parâmetro a ser avaliado no estudo da biocorrosão é a quantificação dos grupos microbianos presentes na superfície metálica.

As Tabelas 1 e 2, mostram a presença de diferentes grupos microbianos na água do mar, água do reator e nos cupons metálicos no período de 90 e 180 dias. Pode-se observar que as bactérias sésseis apresentaram uma diminuição em sua concentração com o tempo, com exceção das BRS e fungos que apresentaram um pequeno aumento. Essa variação na concentração microbiana pode estar relacionada a vários fatores como a concentração de oxigênio, escassez de nutrientes, presença de metabólitos, quantidade de microrganismos presentes na água do mar, entre outros.

**Tabela 1** – Concentração de microrganismos presentes na água do mar coleta, reator e cupons com 90 dias.

| | Aeróbios | Ferrobactérias | Anaeróbios | BRS | *Pseudomonas aeruginosa* | Fungos |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Água do Mar | $1,4x10^4$ | $4,5x10^4$ | $4,5x10^3$ | $4,5x10^1$ | Presença | 0 |
| Reator | $3,0x10^4$ | $1,5x10^6$ | $2,0x10^4$ | $9,5x10^1$ | $2,4x10^4$ | 1 |
| Cupons | $4,5x10^5$ | $1,4x10^6$ | $1,1x10^5$ | 9 | $1,9x10^3$ | $1,4x10^1$ |

**Tabela 2** – Concentração de microrganismos presentes na água do mar, reator e cupons com 180 dias.

| | Aeróbios | Ferrobactérias | Anaeróbios | BRS | *Pseudomonas aeruginosa* | Fungos |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Água do Mar | $1,1X10^4$ | $1,1X10^3$ | $4,5X10^3$ | 15 | $4x10^{-2}$ | 0 |
| Reator | $1,1x10^5$ | $7,5x10^4$ | $1,5x10^4$ | 4 | 0 | $3,3x10^{-1}$ |
| Cupons | $4,5x10^4$ | $1,5x10^5$ | $3,0x10^4$ | $1,5x10^1$ | $7,3x10^2$ | $5,7x10^1$ |

**Monitoramento da Taxa de Corrosão dos Cupons Aço Inox 304L**

Os cupons aço inox 304 L que foram imersos na água do mar apresentaram as perdas de massa e taxas de corrosão baixa de acordo com a Tabela 3. Os resultados mostram que a taxa de corrosão no período de 90 dias foi superior ao de 180 dias. Esse fato pode ser justificado pelo favorecimento da corrosão por aeração diferencial ocasionada pela aderência de colônias de fungos encontradas em dois cupons retirados nesse período (90 dias).

**Tabela 3 –** Taxa de Corrosão mm/ano dos cupons aço inox 304 L.

| Cupons (dias de exposição) | Taxa (mm/ano) | Corrosividade |
|---|---|---|
| 90 | 0,0023 | Baixa |
| 180 | 0,0007 | Baixa |

A Figura 2 mostra a presença de crescimento microbiano aderido na superfície do cupom, dentro do reator. Além da colônia de fungos pode-se observar a formação de depósitos predominante na superfície superior do aço inox. Esse depósito provavelmente é constituído por microrganismos, produtos de corrosão, substâncias poliméricas extracelulares, partículas orgânicas e inorgânicas que contribuíram no processo de biocorrosão dos cupons estudados [11,12].

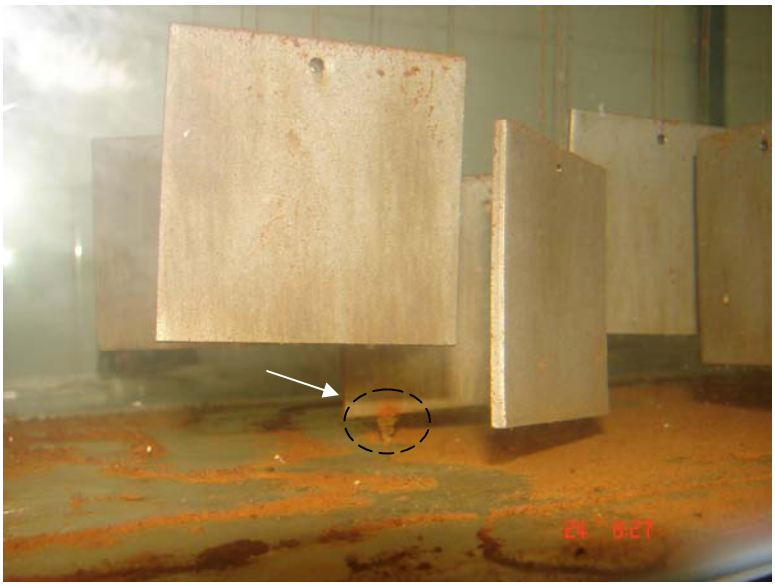

**Figura 2** - Presença de crescimento microbiano aderido à superfície do cupom.

A Figura 3 mostra a corrosão localizada após a retirada de colônia de fungos que se encontrava aderida na superfície inferior do cupom. Essa intensa corrosão localizada foi resultante da presença dos microrganismos que dificultaram o acesso do oxigênio, provavelmente acarretando a formação da corrosão por aeração diferencial [13].

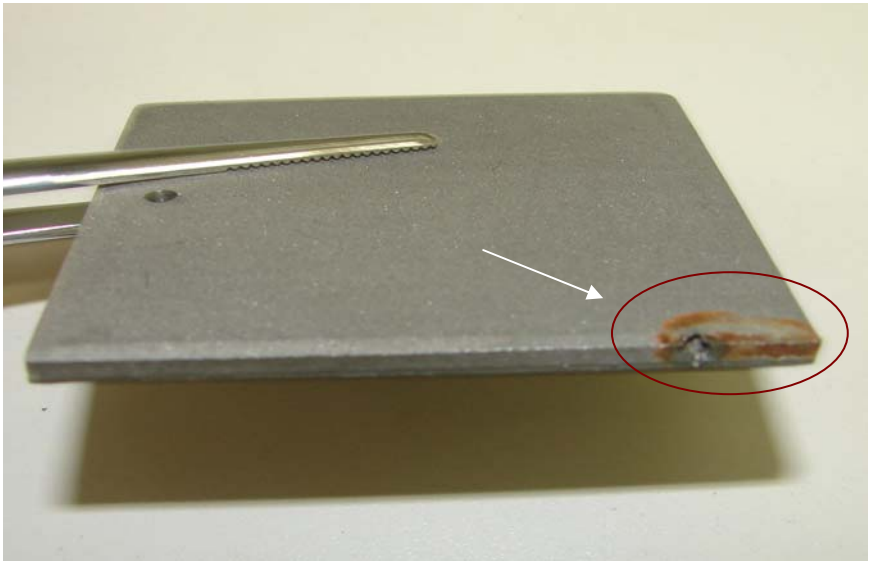

**Figura 3** - Corrosão localizada no cupom aço inox 304L após retirada da colônia de fungos.

## Conclusões

1. Foram encontrados no sistema os principais grupos microbianos responsáveis pelo processo de biocorrosão tais como: bactérias aeróbias, ferrobactérias, anaeróbias, BRS, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos.

2. As taxas de corrosão encontradas nos períodos estudados foram classificadas como de baixa corrosividade.

3. Houve o crescimento de colônias de fungos aderidas na superfície do biocupom, bem como formação de biofilme na superfície superior do aço inox.

4. A presença de fungos favoreceu uma intensa corrosão localizada devido à dificuldade do acesso do oxigênio, acarretando a formação da corrosão por aeração diferencial.

## Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao apoio financeiro recebido pelo CNPq e ANEEL.

## Referências bibliográficas

(1) CRAVO, W. B. J. **Estudo do efeito de diferentes parâmetros na formação de biofilmes e no processo de biocorrosão**. 2004. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2004.

(2) VIDELA, H. A. Corrosion microbiológica y biofouling. Um nuevo desafio para los tratamientos de águas industriales. **Corrosion/Protection**. p.41-42, 1998.

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

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

(5) CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. **Biofilms**: A basis for in interdisciplinary approach. *In* CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. Biofilms. New York: John Wiley & Sons, 1990. p. 796.

(6) TORRES, E. S. **Potencialidade de PIGs na remoção de biofilmes formados em dutos.** 2005. 108p. Tese (Doutorado) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

(7) SILVA, N.; NETO, R. C; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água.** São Paulo: Varela Editora e Livraria LTDA, 2005. p. 164.

(8) DANTAS, E. **Determinação das taxas de corrosão -** tratamento de águas de refrigeração e caldeiras. Editora José Olympio, ECOLAB, 1988. p. 50-62.

(9) ALMEIDA, M. A. N.; DE FRANÇA, F. P. Biofilm formation on brass coupons exposed to a cooling system of an oil refinery. **Journal of Industrial Microbiology**, n. 20, p. 39-44, 1998.

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

(11) CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. **Biofilms**: A basis for in interdisciplinary approach. *In* CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. Biofilms. New York: John Wiley & Sons, 1990. p. 796.

(12) WIMPENNEY, J. Na overview of biofilms as functional communities. In: ALLISON, D. G.; GILBERT, P.; LAPPIN-SCOTT, H. M.; WILSON, M. eds, **Communities, Structures and Co-operation in Biofilms**. UK: Cambridge University Press, p. 1-24, 2000.

(13) PANOSSIAN, Z. Corrosão e Proteção contra corrosão em equipamentos e estruturas metálicas. 1ª ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1993. 636p.