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).

Estudo da Biocorrosão em Cupons Metálicos Expostos a Ambiente Marinho.

Maria Alice G. de Andrade Lima[1], Sara H. de Oliveira, [2], Maria de Los Angeles P. F. Palha[3], Glória Mª Vinhas [4], Severino L. Urtiga F[5], Alice Alexsandra S. Vieira[6], Lívia A. Santos[7], Mateus R, dos Santos[8], Francisca Pessoa de França [9]

Abstract

The study of the corrosion caused by microbially influenced corrosion (MIC) showed the attention of numerous investigators due to necessity of if developing technology that it aims at to increase the time of useful life of the materials used in the diverse industries, or the development of new more resistant materials. So that such fact occurs is necessary a deeper knowledge regarding the mechanisms that involve the formation of biofilms as well as the involved microorganisms in this process, considering itself it variety of microorganisms species of different regions. This work had for objective to study the biocorrosion in a static system using sea water from a located Thermoelectrial Plant in SUAPE-PE. The experiments had been lead in opened static system. The water samples always had been collected in the same place and analyzed under the microbiological aspect. The aerobic bacteria had been quantified and anaerobic totals, iron-oxidants bacteria, sulfate-reducing bacteria (SRB), *Pseudomonas aeruginosa* as well as fungi filamentous. Steel coupons had been used carbon AISI 1020 with the dimensions of 3x25x35mm. It was observed that after 45 days of exposition of coupons to the sea water, presence of all the analyzed microorganisms and a moderate corrosive rate of 0, 0882 mm/year.

Resumo:

O estudo da corrosão decorrente da atividade microbiana (CIM) vem despertando a atenção de numerosos investigadores devido à premente necessidade de se desenvolver tecnologia que vise aumentar o tempo de vida útil dos materiais utilizados nas diversas indústrias, ou o desenvolvimento de novos materiais mais resistentes. Para que tal fato ocorra é necessário um conhecimento mais profundo a respeito dos mecanismos que envolvem a formação dos biofilmes assim como os microrganismos envolvidos neste processo, considerando-se a variedade da microbiota de diferentes regiões. Este trabalho teve por objetivo estudar a biocorrosão em um sistema estático utilizando água do mar proveniente de uma usina termoelétrica localizada em SUAPE-PE (Cabo de Santo Agostinho). As amostras de água foram sempre coletadas no mesmo local e analisadas sob o aspecto microbiológico. Foram quantificadas as bactérias aeróbias e anaeróbias totais, oxidantes do Ferro, bactérias redutoras

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

do sulfato (BRS), *Pseudomonas aeruginosa* assim como fungos filamentosos. Foram utilizados cupons de aço carbono AISI 1020 com as dimensões de 3x25x35mm. Observou-se após 45 dias de exposição dos cupons à água do mar, presença de todos os microrganismos analisados e uma taxa de corrosão moderada de 0, 0882 mm/ano.

Palavras-chave: biocorrosão, biofilme, aço-carbono AISI 1020.

Introdução

O processo de corrosão microbiologicamente induzida, causado pela prévia formação de biofilmes, vem sendo estudado ao longo de muitos anos, tendo seu primeiro registro publicado em 1891 pelo cientista Garret que postulou ser a corrosão do chumbo favorecida pela ação de produtos resultantes da atividade microbiana, como amônia, nitritos e nitratos [(1)]. Já os estudos sobre biofilmes como ciência e tecnologia constituem uma área de investigação relativamente nova. Somente a partir da década de 80 com o advento de técnicas microscópicas, que se assistiu ao desenvolvimento rápido na investigação e entendimento dos processos envolvendo biofilmes [(2-4)].

O interesse científico e tecnológico, visando desenvolver medidas mitigadoras capazes de prevenir ou impedir o desenvolvimento microbiano em ambientes industriais tem recebido um grande impulso nos últimos anos [(5)].

Quando a corrosão do material metálico se processa sob a influência de microrganismos, ela é denominada de biocorrosão ou corrosão microbiologicamente induzida (CMI), pois os microrganismos modificam as condições eletroquímicas da interface metal/solução alterando a concentração de oxigênio dissolvido, o valor de pH e a concentração de compostos orgânicos e inorgânicos [(6)].

Casos relacionados à corrosão microbiologicamente induzida já foram detectados em metais expostos à água do mar, água doce, água potável, produtos alimentícios e químicos, solos, óleos crus e derivados, plasma humano, despejos domésticos e industriais, entre outros[(6-11)].

Lutterbach e França (1997B) observaram sinais de CMI, a partir de análises de MEV (microscopia eletrônica de varredura) em cupons metálicos, quando em presença de biofilmes contendo microrganismos aeróbios e anaeróbios, incluindo as bactérias redutoras de sulfato (BRS). Tal fato confirma a teoria de que a CMI está relacionada à presença de diferentes espécies microbianas, as quais podem causar o processo de corrosão tanto pela despolarização catódica quanto pela produção de metabólitos ácidos [(12)].

Este trabalho teve por objetivo estudar a biocorrosão em cupons de aço-carbono AISI 1020, em um sistema estático utilizando água do mar proveniente de uma usina termoelétrica localizada em SUAPE-PE, onde foram quantificados diferentes grupos de microrganismos responsáveis pelo processo de biocorrosão assim como avaliada a taxa de corrosão.

Etapa Experimental

Materiais

Foi utilizado o metal do tipo aço-carbono AISI 1020 com dimensões de 30x25x 3mm.

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 [13].

Fluido de Processo

A água do mar utilizada foi proveniente de uma usina termoelétrica localizada em SUAPE-PE no Cabo de Santo Agostinho-PE. As amostras de água do mar foram sempre coletadas no mesmo local e analisadas sob o ponto de vista microbiológico sendo posteriormente depositadas em sistema estático aberto (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.[14].

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 para isolamento de *Pseudomonas* (*Pseudomonas* isolation ágar). A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a 30 ± 1ºC por 48 horas [15].

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[14].

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.[14].

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 para bactérias anaeróbias, utilizando o meio Postgate E modificado. A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a 30 ± 1ºC no período de 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 [14].

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): peptona de carne 5,0; extrato de carne 3,0; sacarose 20,0; agar 30,0 e pH 6,5. A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a 30 ± 1°C por 72 horas [14].

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 em Branco

Para avaliar o percentual da corrosão microbiológica nos cupons foi realizado um teste estéril, com adição de 0,5% de azida sódica ao meio com água do mar estéril e cupons desinfetados.

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]. Os biocupons foram analisados através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), perda de massa, taxa de corrosão e microrganismos sésseis. Determinou-se também a microbiota planctônicas durante o processo.

Microscopia Eletrônica de Varredura

Os cupons foram analisados no microscópio eletrônico de varredura marca JEOL, modelo 6460. As amostras foram analisadas sem nenhum pré-tratamento com ampliação de 400 e 500 vezes.

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 [16]. A retirada do biofilme foi realizada por raspagem com espátula apropriada.

Resultados e Discussão

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

A existência de biofilmes é uma das mais exemplares formas organizadas de vida microbiana, capaz de adaptação em condições ambientais extremas, como temperaturas entre -12°C e 110° C, valores de pH entre 0,5 e 13, pressões entre 0 e 1400 bar [17]. Estima-se que 90% dos microrganismos do planeta vivem sob a forma de biofilmes [2] e que quase não exista nenhuma superfície que não esteja ou não possa vir a estar colonizada por bactérias [18].

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 à forças hidrodinâmicas [8,9]. Um importante parâmetro a ser avaliado no estudo da biocorrosão é a quantificação das espécies microbianas presentes na superfície metálica.

Na Figura 1 e Tabela 1 pode-se observar a presença de diferentes grupos microbianos na superfície do metal em função do tempo de exposição. Importantes microrganismos responsáveis pelo processo de biocorrosão estão presentes. Nesta Figura destacam-se as Ferrobactérias que atingiram o valor máximo em 30 dias. Estas bactérias são capazes de produzir flóculos e depósitos de fouling (inorgânico e biológico) nos sistemas de águas industriais e produzem entupimentos na indústria extrativa de petróleo [19]. As concentrações dos anaeróbios e BRS aumentaram com o tempo, o que certamente deve-se ao decréscimo de oxigênio no sistema, em conseqüência de seu consumo pelos microrganismos aeróbios, formação de biopolímeros que impedem a passagem para a base do biofilme.

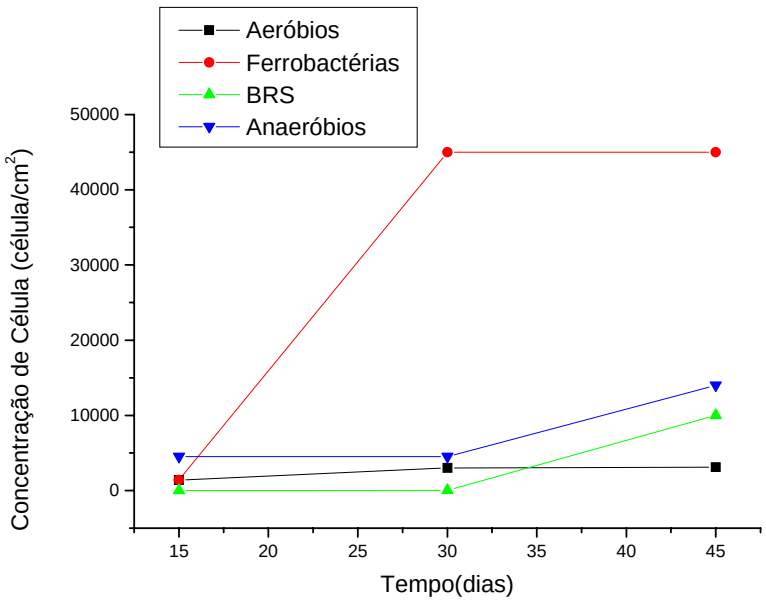

Figura 1 – Populações de bactérias aeróbias, anaeróbias, BRS e Ferrobactérias em biofilmes, formados sobre cupons de aço carbono AISI 1020, em função do tempo de exposição no sistema.

A população microbiana das *Pseudomonas aeruginosa* e Fungos filamentosos permaneceu estável nos tempos de exposição dos cupons a água do mar (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentração de *Pseudomonas aeruginosa* e *Fungos Filamentosos* presente nos cupons imersos na água do mar.

Análises Cupons	Concentração 15 dias	Concentração 30 dias	Concentração 45 dias
Pseudomonas (UFC/cm^2)	**Presença**	**3x10^2**	**2x10^2**
Fungos Filamentosos (UFC/ cm^2)	**4**	**4**	**6**

A formação de depósitos não uniforme na superfície do aço carbono AISI 1020 após 45 dias de exposição à água do mar é apresentada na Figura 2. Pode-se observar uma camada espessa de material aderido na superfície do metal provavelmente constituído por microrganismos, produtos de corrosão, substâncias poliméricas extracelulares, partículas orgânicas e inorgânicas que contribuíram no processo de biocorrosão dos cupons estudados [18, 20].

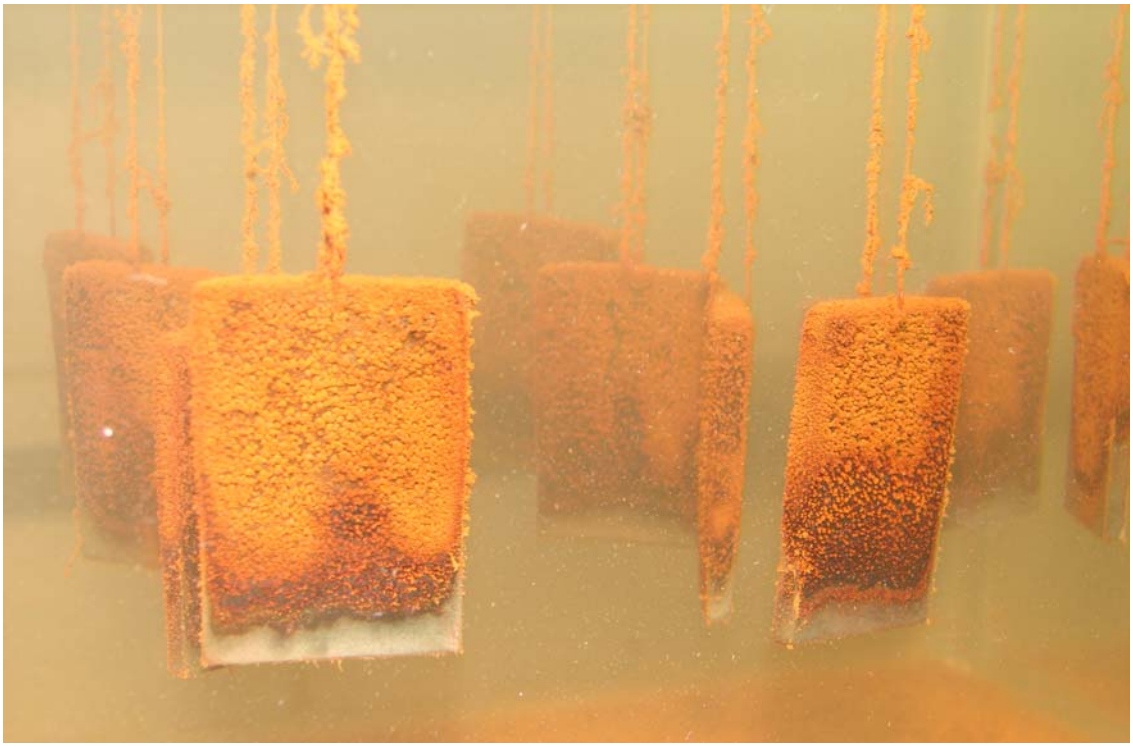

Figura 2 - Formação de biofilme em cupons de aço carbono AISI 1020 após 45 dias de exposição à água do mar.

A Figura 3 mostra as fotomicrografias da superfície do aço AISI 1020 após 15 dias de exposição à água do mar, raspagem e tratamento do cupom. Observa-se material aderido à superfície metálica, sugerindo ser resíduo do biofilme formado. Sabe-se que a matriz polimérica dos biofilmes é responsável pela estrutura, morfologia, coesão, integridade funcional dos biofilmes, e a sua composição determina a maioria das suas propriedades físico-químicas e biológicas [21].

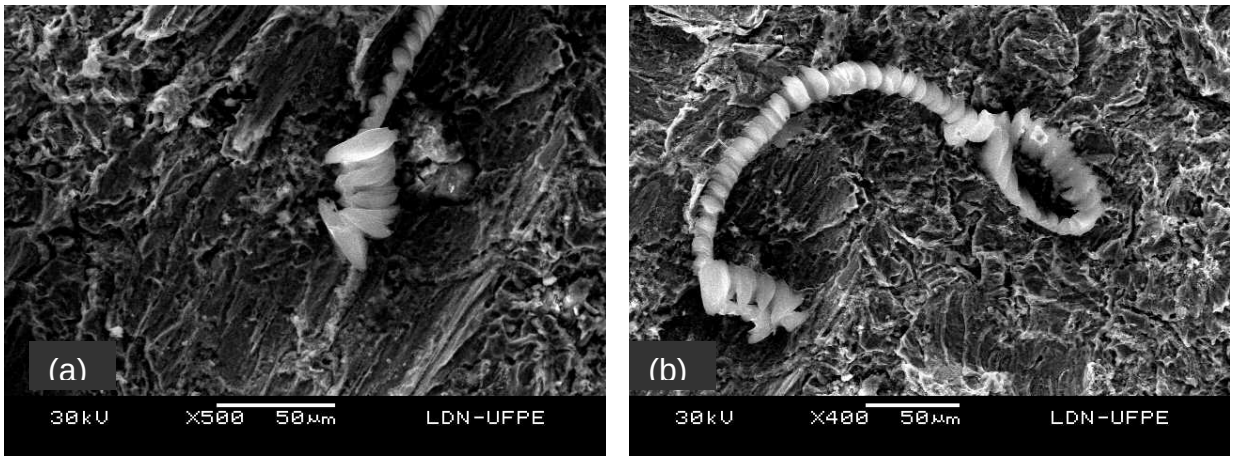

Figura 3- Fotomicrografias da superfície do aço AISI 1020 após 15 dias de exposição à água do mar.

Taxa de corrosão

As taxas de corrosão com seus respectivos desvios padrões são apresentados na Figura 4. Após o período de 45 dias de exposição à água do mar foi verificada uma taxa de corrosão classificada como moderada, segundo NACE-RP-07-75 [22]. Com base nos resultados da taxa de corrosão, na ausência da população microbiana (branco), que foi de 0,0722mm/ano, a parcela da corrosão induzida por microrganismos (CIM) foi de 18,14%.

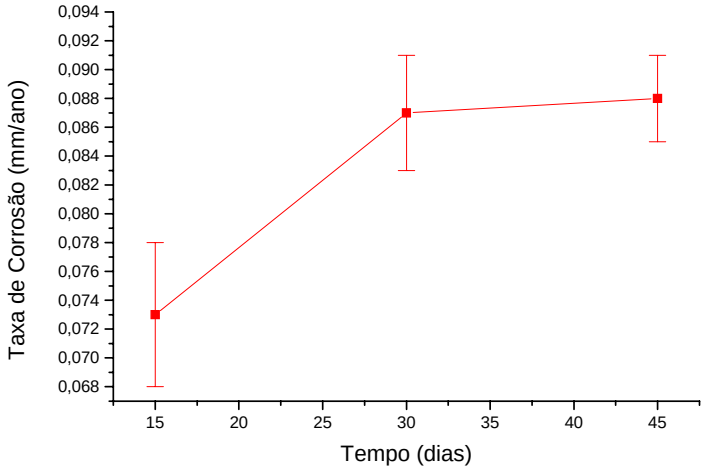

Figura 4-Taxa de corrosão em cupons de aço carbono AISI 1020 expostos a água do mar no sistema.

Conclusões

1. As concentrações das bactérias anaeróbias e BRS nos cupons aço carbono AISI 1020 aumentaram com o tempo, o que certamente deve-se ao decréscimo de oxigênio na base do biiofilme.

2. A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e os fungos filamentosos permaneceram estáveis nos tempos de exposição dos cupons de aço carbono AISI 1020 em água do mar.

3. As ferrobactérias apresentaram crescimento acentuado nos fluidos e nos cupons de aço carbono AISI 1020 influenciando mais ativamente no processo de biocorrosão.

4. Através da microscopia eletrônica de varredura na superfície dos cupons tratados observou-se resíduo de biofilme, caracterizando uma alta adesão do mesmo.

5. No aço carbono AISI 1020 o percentual da biocorrosão foi de aproximadamente 18,14%.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao apoio financeiro recebido pelo CNPq e ANEEL.

Referências bibliográficas

(1) GONZÁLEZ, J. E. G.; SANTANA, F. J. H.; MIRZA-ROSCA, J. C. Effect of Bacterial Biofilm on 316 ss Corrosion in natural seawater by eis. **Corrosion Science**, v. 40, n. 12, p. 2141-2154, 1998.

(2) COSTERTON, J. W.; CHENG, K. J.; GEESEY, G. G.; LADD, T. J.; NICKEL, J. C.; DASGUPTA, M; MARRIE, T. Bacterial biofilms in nature and disease. **Annual Reviews of Microbiolog,** v.41, p. 435-464, 1987.

(3) LAZAROVA, V.; MANEM, J. Biofilm characterization and activity analyses in water and wastewater treatment. Water Research, v.29, p. 2227-2245, 1995.

(4) 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.

(5) STOECKER II, J. G. Microbiological Influence and Electrochemical Types of Corrosion: Back to Basics. **Corrosion**, Paper no 259, Texas, 1994.

(6) NATISHAN, P. M.; JONES-MEEHAN, J.; LOEB, G. I.; LITTLE, B. J.; RAY, R.; BEARD, M. Corrosion behavior of some transition metals and 4340 steel metals exposed to sulphate-reducing bacteria. **Corrosion**, v. 55, n. 1, p. 1062-1068, 1999.

(7) LUTTERBACH, M. T. S.; DE FRANÇA, F. P. Biofilm Formation Monitoring in an Industrial Open Water Cooling System. **Revista de Microbiologia**, v.28, p.106-109, 1997.

(8) 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.

(9) DE FRANÇA, F. P.; FERREIRA, C. A.; LUTTERBACH, M. T. S. Effect of different salinities of a dynamic water system on biofilm formation. **Journal of Industrial Microbiology & Biotecnology**, v.25, p.45-48, 2000.

(10) FANG, H. H. P.; LI-CHONG XU; CHAN, K. Effects of toxic metals and chemical on biofilm and biocorrosion. **Water Research**, v. 36, p.4709-4716, 2002.

(11) ARMELIN, E.; IRIBARREN, J. I.; OCAMPO, C.; LIESA, F.; ALEMÁN, C.; RAMIS, X. Application of a polythiophene as anticorrosive additive for paints. **Progress in Organic Coatings**, n.53, p. 217-224, 2005.

(12) LUTTERBACH, M. T. S.; DE FRANÇA, F. P. Biofilm formation on brass coupons exposed to cooling water. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 14, n. 1, p. 81-87, 1997B.

(13) 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.

(14) 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.

(15) 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.

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

(17) FLEMMING, H. C. **Biofouling in water treatment**. In: FLEMMING, H. C. e GEESEY, G. G. eds. Biofouling and biocorrosion in industrial water systems, Heidelberg, Springer-Verlag, 1991. p. 47-80.

(18) 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.

(19) DAVIS, J. B. Petroleum Reservoir Plugging. *In*: **Petroleum Microbiology**, Amsterdam: Elsevier Publishing Co., p.444, 1967.

(20) 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.

(21) FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. Extracellular Polimeric Substances (EPS): The biofilm construction material. In: WEBER, J.; SAND, W. eds. **Biofouling and Material**: COST 520 Workshop. Bern: EDMZ, p. 2-18, 1999.

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