

Copyright 2012, ABRACO

Trabalho apresentado durante o INTERCORR 2012, em Salvador/BA no mês de maio de 2012.

As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

Utilização do hipoclorito de sódio e xantana como estratégia para controle da biocorrosão em *looping* com escoamento turbulento

Sara H. Oliveira^a, Pulkra Silva^b, Diniz R. Lima Junior^c, Edvânia. S. Lima^d, Francisca P. França^e, Maria Alice G. A Lima^f, Severino L. Urtiga Filho^g.

Abstract

Corrosion is a serious problem in many branches of activities, mainly in industry, being responsible for huge losses. When corrosion of a material is influenced by microbial activity is termed biocorrosion. The mechanism of this process involves the growth of microorganisms on a surface with formation of biofilm, which aggregates unevenly promote an increase in the corrosion process the surface. When the preventive and physical methods are not sufficient to prevent the buildup of biofilms, use is generally the application of chemical substances with antimicrobial properties, surface-active properties and / or dispersing agents. This study was designed to investigate how the reaction of reduction of corrosion, through the use of the biocidal mixture of sodium hypochlorite with the xanthan gum used as dispersant and stabilizer. The material used was carbon steel coupons and seawater from the port complex SUAPE-PE, in *looping* with turbulent flow. The results showed that the xanthan and / or the association with sodium hypochlorite and xanthan reduced corrosion rates on the surfaces of carbon steel used in the dynamic system flow.

Keywords: biofilms, biocorrosion, carbon steel, seawater, biocides.

Resumo

A corrosão é um problema sério em diversos ramos de atividades, principalmente no industrial, sendo responsável por enormes prejuízos. Quando a corrosão de um material sofre influência da atividade microbiana é denominada de biocorrosão. O mecanismo deste processo envolve o crescimento de micro-organismos em uma superfície com formação de biofilmes, que agregados de forma não uniforme, promovem um aumento no processo corrosivo da superfície. Quando as medidas preventivas e os métodos físicos não são suficientes para evitar a acumulação de biofilmes, recorrem-se geralmente à aplicação de substâncias químicas com propriedades antimicrobianas, propriedades tensoativas e/ou dispersantes. Este trabalho teve a finalidade de investigar formas de diminuição da reação de corrosão, através da utilização da mistura do biocida hipoclorito de sódio com a goma xantana, utilizada como estabilizante e dispersante. O material utilizado foi cupons de aço carbono e água do mar proveniente do complexo portuário de SUAPE-PE, em *looping* com

^a PHD, Pesquisadora - UFPE

^b Mestre, Engenheira Química - UFPE

^c Mestrando, Engenheiro Mecânico - UFPE

^d Mestre, Professora - UFPE

^e PHD, Professora - UFRJ

^f PHD, Professora - UFPE

^g PHD, Professor - UFPE

regime de escoamento turbulento. Os resultados mostraram que a xantana e/ou a associação hipoclorito de sódio e xantana diminuíram as taxas de corrosão das superfícies dos aços carbono utilizados no sistema dinâmico de escoamento.

Palavras-chave: biofilmes, biocorrosão, aço carbono, água do mar, biocidas.

Introdução

O termo biocorrosão é usado para designar corrosão devido à presença e atividades de micro-organismos. Os micro-organismos podem acelerar as taxas de reações no processo de corrosão, ou alterar o mecanismo de corrosão. A colonização das superfícies, com consequente formação de biofilme, se inicia no instante em que a superfície metálica é imersa em água (1). Vários métodos têm sido usados para minimizar a acumulação de biofilmes nas superfícies: adição de biocidas na água “bruta” para matar os organismos que entram no sistema ou reduzir a taxa de crescimento de micro-organismos no interior do biofilme; remoção mecânica dos biofilmes nos substratos (escovas, pigs) e tratamentos de água para diminuir o número e tipos de organismos. Biocidas devem ser aplicados em dosagens intermitentes, injeções contínuas, ou uma combinação de ambos (2). A cloração é um meio comum de controlar a formação de biofilmes em utilitários e na indústria de processos (3). Dado que o transporte de cloro para o biofilme é de difusão controlada, a taxa na qual o cloro é transportado através do biofilme, depende da concentração do cloro na água bruta (demanda de cloro) e da turbulência do sistema. Cloro na água pode inativar células microbianas e oxidar nutrientes. Dentro do biofilme o cloro reage com componentes orgânicos e inorgânicos, detendo o material celular e inativando células. Em um biofilme maduro o cloro pode reagir com exopolissacarídeos (EPS) responsáveis pela integridade do biofilme (2). É bem fundamentado que é mais difícil eliminar bactérias em biofilmes com biocidas, do que matar os mesmos tipos de micro-organismos em meios líquidos, porque os biocidas não tem boa penetração nos biofilmes (4,5,2). Biofilmes ricos em EPS necessitam de uma maior demanda de cloro do que as células com pequenos EPS associados. O hipoclorito oxida EPS dentro do biofilme, resultando na despolimerização do EPS, dissolução e separação (2). Como maiores dosagens de biocidas representam, na maioria dos casos, em maiores taxas de corrosão, uma estratégia de combinação de biocida com dispersante é uma alternativa para controle dos biofilmes e conseqüentemente da biocorrosão (6,7). Este trabalho tem a finalidade de analisar os efeitos nos biofilmes e taxas de corrosão, da ação do biocida hipoclorito de sódio, do biodispersante xantana, e ação conjunta do biocida hipoclorito de sódio com biodispersante xantana.

Metodologia

- **Materiais**

Corpos de prova

Foram utilizados cupons retangulares de aço carbono SAE 1010 com dimensões 100mm x 10mm x 3mm, área em torno de 27,96 cm².

Fluído de Processo

O fluido utilizado foi a água do mar coletada na região do Complexo Portuário de SUAPE, Ipojuca-PE. As amostras de água do mar foram sempre coletadas do mesmo local e analisadas sob o ponto de vista microbiológico, sendo posteriormente depositadas no sistema dinâmico (*looping*) fechado. O volume de água do mar, utilizado para cada equipamento foi de 13L.

Agentes químicos

Foram testados dois agentes químicos e uma mistura destes, ou seja: um biocida oxidante (hipoclorito de sódio - NaClO), um biopolímero produzido por micro-organismos (xantana), e o biocida (NaClO) associado ao biopolímero xantana; todos testados em dosagens intermitentes. Os agentes químicos e as concentrações utilizadas estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição dos agentes químicos e concentrações utilizadas.

Código agentes químicos	Agentes químicos	Concentração/tempo
AQ ₁	NaClO	1,0ppm/dia
AQ ₂	Xantana	1,0ppm/14dias
AQ ₁ + AQ ₂	NaClO com Xantana	1,0ppm NaClO/dia + 1ppm xantana/14 dias

O hipoclorito de sódio (NaClO) utilizado foi adquirido da empresa Vetec com as seguintes características: teor de cloro de 4 a 6%, massa específica de 1,1 g/cm³ e peso molecular de 74,5.

A xantana foi importada da China através da empresa Quimitêxtil LTDA com as características de pH: 7,5 e viscosidade (sol. 1% KCl) cps: 1544.

Equipamentos

Os experimentos foram conduzidos em sistema dinâmico (*looping*) fechado constituído de material não-metálico, policloreto de vinila (PVC), com 1,5” de diâmetro, conectado a um tanque de 20 litros de capacidade. A circulação da água foi realizada com auxílio de uma bomba de 1/2 HP de potência, vazão 0,0022 m³/s e velocidade de 2,7 m/s. A utilização deste valor foi escolhida para possibilitar o estabelecimento de um regime turbulento ($Re > 4000$), simulando condições de campo. Todos os ensaios foram realizados nesta vazão, para que se pudesse comparar a ação das diferentes condições do fluido. Estes ensaios foram realizados em ambiente naturalmente aerado e com temperatura de processo na faixa de (33±3)°C.

Os cupons de aço carbono foram presos às hastes plásticas por intermédio de parafusos também de plástico, de maneira a evitar a interferência de diferentes materiais daquele em estudo, o que propiciaria o processo de corrosão galvânica. Estes foram dispostos internamente ao longo dos tubos de PVC e posicionados a ficarem igualmente expostos ao fluxo de água circulante.

• Métodos

Descrição dos experimentos

Os cupons de aço carbono inseridos no sistema foram previamente tratados antes de cada experimento, através de jateamento com microesferas de vidro, lavagem com álcool isopropílico, e posteriormente acetona para remoção da matéria orgânica. Em seguida estes cupons foram secos em estufa à 70°C por 30 minutos, levados a dessecador por 20 minutos e pesados, para depois serem expostos aos meios (8).

Estes cupons foram expostos aos fluidos por um período de 28 dias para cada ciclo e agente químico analisado; o monitoramento destes foi feito com 14 e 28 dias. Neste período foram analisadas as concentrações celulares dos grupos microbianos presentes nos biofilmes (14 e 28 dias), a caracterização física do biofilme (28 dias) e as perdas de massa e taxas de corrosão (14 e 28 dias). A troca da água do mar dos sistemas ocorreu a cada 14 dias, tempo da exaustão dos nutrientes para os micro-organismos presentes na água (9).

As amostras, dos fluídos e cupons, foram removidas dos sistemas e colocados em recipientes apropriados para cada análise a ser realizada. Para quantificação dos micro-organismos sésseis aeróbios, estes cupons foram colocados em recipientes com 30 mL de solução fisiológica, e colocados em 30 mL de solução redutora, para análise de micro-organismos sésseis anaeróbios. Em seguida, estes recipientes para a quantificação celular foram submetidos a ultrassom por 15 segundos, para garantir a remoção e dispersão dos micro-organismos sésseis. Posteriormente, os biofilmes formados nas superfícies dos cupons foram removidos através da raspagem da superfície do metal com espátula estéril, nas soluções apropriadas. Todos os procedimentos foram feitos obedecendo às normas da técnica asséptica.

Análises microbiológicas dos micro-organismos sésseis

I - Quantificação de Bactérias Aeróbias Heterotróficas - Estas bactérias foram quantificadas conforme metodologia padrão (10).

II – Quantificação de *Pseudomonas sp.* – Este grupo microbiano foi quantificado conforme metodologia padrão (10).

III - Quantificação das Bactérias Precipitantes do Ferro – Foram quantificadas conforme metodologia descrita para esse tipo de bactéria (11).

IV - Quantificação de Bactérias Anaeróbias Heterotróficas - Foram quantificadas conforme metodologias (10,12).

V - Quantificação de Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) - A quantificação deste grupo microbiano foi realizada conforme metodologia descrita para esse tipo de bactéria (13).

Quantificação da Biomassa

A biomassa presente no biofilme foi estimada determinando o teor em sólidos voláteis totais. Estes foram obtidos após ignição da massa total do biofilme a 500°C±50°C, seguindo-se o método descrito no Standard Method of Analysis (14).

Perda de massa e taxa de corrosão

A perda de massa e taxa de corrosão foi realizada conforme metodologia para decapagem de cupons em aço carbono (8).

Resultados e discussão

Concentração celular de micro-organismos sésseis

A Figura 1 (a, b) apresentam as concentrações dos grupos de micro-organismos aeróbios, formados em biofilmes de cupons de aço carbono, nos tempos de estudo de 14 e 28 dias de exposição à água do mar em diferentes ciclos e tratamentos, em *looping* de escoamento turbulento; a Figura 2 (a, b) apresenta as concentrações dos micro-organismos anaeróbios nas mesmas condições. No ciclo I (controle), os cupons foram expostos à água do mar sem adição de biocida, no ciclo II, os cupons foram expostos ao biocida hipoclorito de sódio, no ciclo III, os cupons foram expostos ao biocida hipoclorito de sódio + biodispersante xantana e no ciclo IV os cupons ficaram expostos somente ao biodispersante xantana.

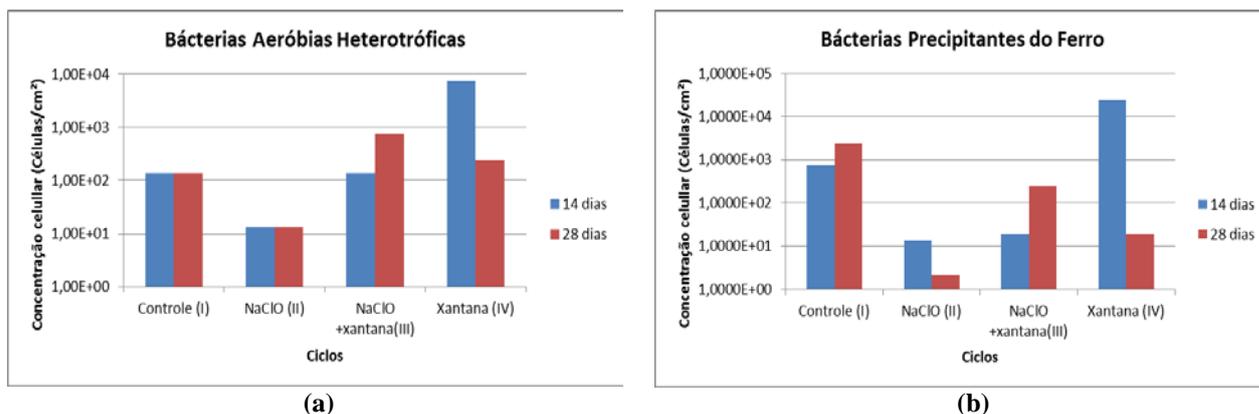


Figura 1 - Concentração celular das bactérias sésseis aeróbias (a) aeróbias heterotróficas (b) precipitantes do ferro nos tempos de 14 e 28 dias, nos diferentes ciclos estudados.

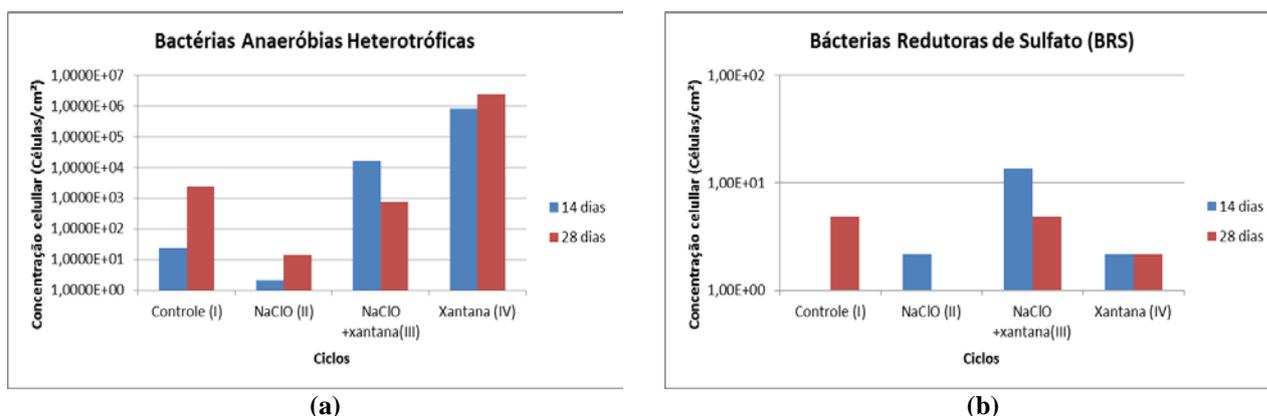


Figura 2 - Concentração celular das bactérias sésseis anaeróbias (a) anaeróbias heterotróficas (b) BRS nos tempos de 14 e 28 dias, nos diferentes ciclos estudados.

Através dos gráficos pode-se observar que a aplicação isolada do hipoclorito de sódio (ciclo I) ao *looping* de escoamento turbulento, diminuiu a concentração celular sésseis, em relação ao

controle, de todos os grupos de micro-organismos analisadas em 14 e 28 dias. O composto biocida, hipoclorito de sódio e xantana (ciclo III) e o biopolímero xantana isolado (ciclo IV), aumentaram a concentração celular séssil das bactérias aeróbias heterotróficas nesse tipo de escoamento. Já com as bactérias aeróbias precipitantes do ferro e com as bactérias anaeróbias BRS esses compostos reduziram a concentração celular séssil no sistema.

As bactérias anaeróbias heterotróficas não responderam bem ao tratamento com os compostos, hipoclorito de sódio com xantana (ciclo III) e xantana isolada (ciclo IV), pois no ciclo com hipoclorito com xantana (ciclo III) a concentração celular séssil aumentou com 14 dias, reduzindo ao valor do ciclo controle com 28 dias; e no ciclo onde foi aplicado a xantana isolada (ciclo IV) aumentou a concentração celular séssil nos dois tempos estudados.

As bactérias *Pseudomonas sp.*, mesmo estando presentes nas águas de alimentação de todos os ciclos do *looping*, não se implantaram aos ciclos controle (I), ciclo com hipoclorito isolado (II) e ciclo com o hipoclorito associado à xantana (IV). Já no ciclo com a xantana isolada (IV) estas bactérias foram quantificadas no biofilme retirado dos cupons ($1,1 \times 10^1$ cel/cm²), com o tempo final de 28 dias.

Quando se aplicou aos sistemas o biocida hipoclorito de sódio com xantana, a concentração celular subiu em relação ao biocida aplicado isoladamente. Este fato deve ter ocorrido, provavelmente, por a xantana ser um polissacarídeo aniônico, que pode ter provocado um aprisionamento de cátions do ácido hipocloroso, diminuindo a sua concentração e ação no meio.

Nos ciclos onde foram aplicados a xantana isoladamente, a concentração séssil de vários grupos de micro-organismos aeróbios diminuíram em relação ao ciclo controle, mas aumentaram em relação aos ciclos com compostos biocidas. Já as bactérias anaeróbias totais aumentaram as suas concentrações. Estes efeitos, provavelmente, devem-se ao fato da xantana ter uma composição que se assemelha aos exopolissacarídeos (EPS) expelidos por alguns micro-organismos (15). Com o aumento de EPS no biofilme, o crescimento das bactérias anaeróbias totais é favorecido.

O EPS é considerado fundamental para o início e manutenção da corrosão e é responsável pela agregação dos micro-organismos presentes no biofilme, conferindo-os maior resistência à ação de agentes químicos e físicos. Um dos pontos que favorece essa resistência relaciona-se ao caráter aniônico da maioria dos polissacarídeos presentes nos biofilmes, que propicia o aprisionamento de cátions presentes em alguns compostos químicos, diminuindo a ação nociva destes compostos aos micro-organismos presentes (16).

Taxas de corrosão em *looping* com regime de escoamento turbulento.

A Figura 3 apresenta as taxas de corrosão para os cupons em aço carbono em água do mar, no sistema com regime de escoamento turbulento com diferentes tratamentos e tempos de exposição de 14 e 28 dias.

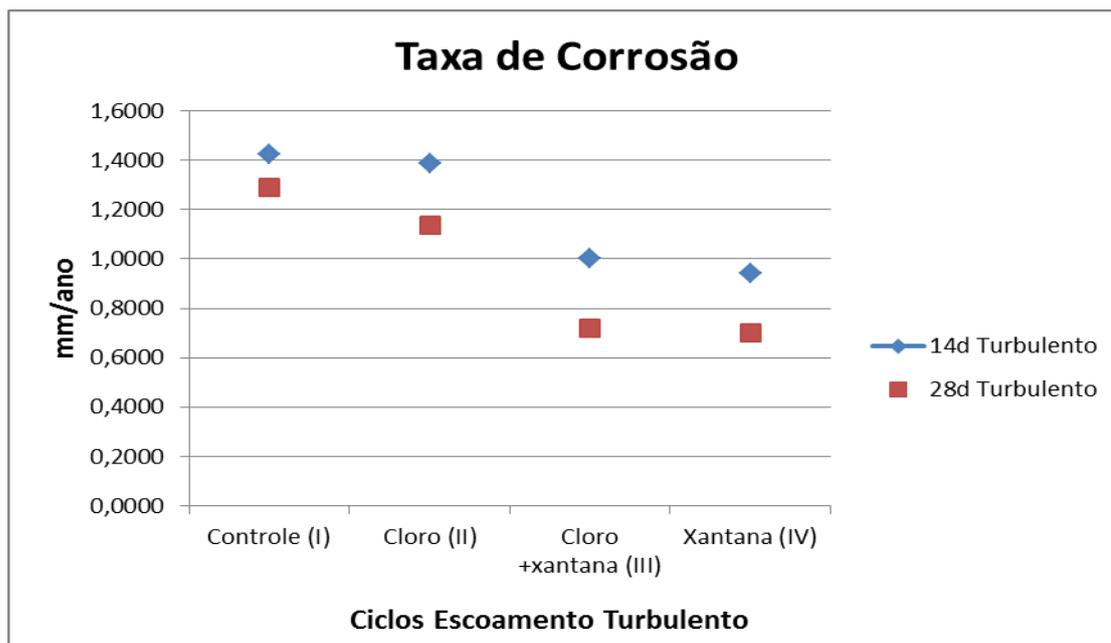


Figura 3 - Taxas de corrosão dos cupons em aço carbono expostos á agua do mar em 14 e 28 dias, no regime de escoamento turbulento e em diferentes ciclos de tratamento.

Pelo gráfico, pode-se verificar que no sistema turbulento houve um decréscimo nas taxas de corrosão ao longo do tempo em todos os ciclos estudados. Nesse sistema houve uma redução nas taxas de corrosão dos aços onde foram aplicados tratamentos com os agentes químicos (ciclo II, III e IV), em relação as taxas dos aços controle (ciclo I). Sendo que nos ciclos onde foi empregado o tratamento com xantana, associada ao hipoclorito (ciclo III) ou utilizada isoladamente (ciclo IV) houve reduções acentuadas nas taxas de corrosão dos aços. O decréscimo nas taxas de corrosão ao longo do tempo, provavelmente ocorreu devido a camada de produtos de corrosão formadas ao redor do aço, que o protegeu por efeito barreira (5,17).

Segundo pesquisador (5), a resistência à corrosão do aço em meio aquoso depende da formação de um filme de óxido/hidróxido de ferro não poroso. Os depósitos de materiais orgânicos e inorgânicos como fosfatos, fosfonatos, substâncias exopoliméricas, como proteínas, carboidratos e lipídeos, juntamente com cátions metálicos da superfície do aço, promovem mais estabilidade à camada protetora.

Pesquisadores (18), explicaram que o EPS pode interagir com íons de ferro e formar um complexo organometálico (Fe-EPS), que podem formar camadas 'protetoras', diminuindo a velocidade de reação da corrosão. Também disseram que componentes do EPS liberados nos meios, podem competir com as células bacterianas por sítios de ligação na superfície do metal, contribuindo assim para o processo de biocorrosão. Segundo estes pesquisadores, os componentes do meio, bem como a natureza dos micro-organismos podem influenciar na qualidade e composição química do EPS produzido. Eles relataram que o EPS produzido por algumas espécies contém ácidos úricos, sulfatos e piruvatos de natureza ácida.

Em estudo realizado pesquisadores (19), estudaram a eficácia do tratamento por choque utilizando um biocida comercial a base de glutaraldeído e sal quaternário de amônio, para avaliar a formação e eliminação de biofilmes em sistema dinâmico. O biocida diminuiu a

concentração celular séssil do sistema, mas as taxas de corrosão dos cupons não diminuíram em relação ao controle.

Quantificação da Biomassa nos cupons

A Tabela 2 apresenta as biomassas dos cupons no *looping* de escoamento turbulento em três ciclos. A quantificação de biomassa indicou redução na quantidade de massa nos ciclos (III e IV), onde houve tratamentos com agentes químicos.

Pesquisadora (20), fazendo caracterizações físicas de biofilmes, sem e com tratamento com biocidas, encontrou uma diminuição da biomassa quando no sistema em estudo foi aplicado o glutaraldeído e/ou o carbamato, resultados semelhantes ao encontrado neste experimento. A pesquisadora também avaliou a biomassa de diferentes biofilmes, encontrando uma fração inorgânica elevada na massa seca de um dos biofilmes, em relação à respectiva biomassa. Concluiu que este biofilme foi alimentado com água não filtrada, que elevou a fração inorgânica da massa seca deste biofilme.

Tabela 2– Caracterização física de biofilmes dos cupons do *looping* com escoamento turbulento.

Caracterização Física Biofilme	Ciclo I	Ciclo II	Ciclo III	Ciclo IV
Biomassa (mg)/cm ²	11,92±6,53	*	0,85±5,69	0,86±10,36

Ciclo I – Controle; Ciclo II – NaClO; Ciclo III – NaClO + xantana; Ciclo IV – Xantana; * - Não determinado.

De acordo com pesquisador (21), a água é a fração mais significativa da massa total do biofilme, podendo variar entre 70 a 95%, ou mais. Outros autores referem que a razão massa de água/massa de biofilme pode ir até próximo de 99% (22,23).

Conclusões

- A aplicação do hipoclorito de sódio ao sistema diminuiu a concentração celular séssil de todos os grupos de micro-organismos analisados.
- A aplicação do composto biocida hipoclorito de sódio com xantana, e a aplicação da xantana isolada, aumentaram a concentração celular séssil das bactérias aeróbias heterotróficas.
- A aplicação do composto biocida hipoclorito de sódio com xantana, e a aplicação da xantana isolada reduziram a concentração celular séssil das bactérias precipitantes do ferro e das BRS.
- As bactérias anaeróbias heterotróficas séssis não responderam bem ao tratamento com os compostos, hipoclorito de sódio com xantana e xantana isolada.
- A aplicação da xantana isolada estimulou o crescimento das bactérias *Pseudomonas sp.* séssis.

- Nos ciclos onde foram aplicados a xantana isoladamente, a concentração séssil de vários grupos de micro-organismos aeróbios diminuíram em relação ao ciclo controle, mas aumentaram em relação aos ciclos com compostos biocidas.
- Os tratamentos com agentes químicos foram eficazes na diminuição das massas de biofilmes nos cupons de aço carbono.
- Houve um decréscimo nas taxas de corrosão dos aços ao longo do tempo, em todos os ciclos e tratamentos estudados.
- Houve uma redução nas taxas de corrosão dos aços onde foram aplicados tratamentos com agentes químicos, em relação as taxas dos aços controle.

Referências bibliográficas

1. BORENSTEIN, S. W. **Microbiologically influenced corrosion handbook**. Cambridge, England: woodhead Publishing Limited, 1994, 288 p.
2. LITTLE, B. J.; LEE, J.S. **Microbiologically Influenced Corrosion**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2007, 279 p.
3. FRANKLIN, M.J. et al. Effect of chlorine and chlorine bromine biocide treatments on the number and activity of biofilm bacteria and on carbon steel corrosion. **Corrosion**, v.47, p.128–134, 1991.
4. FURTADO, M. Automação e novas alternativas para o controle microbiológico movimentam o mercado de sistemas de resfriamento de água. **Revista Química e Derivados**, 2007.
5. ZUO, R. Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.76, p.1245–1253, 2007.
6. OLIVEIRA, S. H. Estudo da utilização da xantana e hipoclorito de sódio como estratégia para controle da biocorrosão. 2010. 174 p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.
7. PERES, F. A. S. Tratamento de águas de refrigeração com peróxido de hidrogênio. **Quim. Nova**, v.31, n.7, p.1851-1855, 2008.
8. DANTAS E. **Geração de vapor e água de refrigeração, falhas – tratamentos – limpeza química**. Rio de Janeiro: Ecolab, 1988. 305p.

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 & Biotechnology**, v. 25, p. 45-48, 2000.
10. 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. 164 p.
11. CETESB, Contagens de colônias de bactérias que precipitam o ferro. **Norma L5.207**, p. 1-11, 1992.
12. VIEIRA, D. M.; DE FRANÇA, F. P. **Corrosion Review**, v.26, 2008.
13. POSTGATE, J. R. **The sulphate-reducing bacteria**. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1984.
14. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 17th edn. Washington, DC, 1989.
15. FATIBELLO, S. H. S. A. **Estudos sobre a ocorrência e caracterização das Partículas de Exopolímeros Transparentes (TEP) no reservatório de Barra Bonita e sua colonização por bactérias**. 2005. 128 p. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2006.
16. ALMEIDA, M. A. N.; SÉRVULO, E. F. C.; FRANÇA, F. P. Monitoramento da formação de biofilmes em torres de refrigeração. 2002. Trabalho apresentado ao **6ª COTEQ** - Conferência sobre tecnologia de equipamentos, Salvador, 2002.
17. VIDELA, H.A. **Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais**. 1. ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 2003. 148 p.
18. CHONGDAR, S.; GUNASEKARAN, G.; KUMAR, P. Corrosion inhibition of mild steel by aerobic biofilm. **Electrochim Acta**, v. 50, p. 4655–4665, 2005.
19. GONÇALVES, N. J.; SÉRVULO, E. F. C.; FRANÇA, F. P. Ação de biocida à base de glutaraldeído e sal quaternário de amônio no controle de microrganismos sésseis. 2002. Trabalho apresentado ao **6ª COTEQ** - Conferência sobre tecnologia de equipamentos, Salvador, 2002.
20. PEREIRA, M. O. **Comparação da eficácia de dois biocidas (carbamato e glutaraldeído) em sistemas de biofilme**. 2001. 211 p. Tese (Doutorado), Universidade do Minho, Braga, 2001.

21. FLEMMING, H-C. Biofilms and environmental protection. **Wat. Sci. Tech**, v. 27, p. 1-10, 1993.
22. CHRISTENSEN B. E.; CHARACKLIS W. G. **Biofilms**. New York: John Wiley & Sons, p. 93-130, 1990.
23. AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. The role of exopolymers produced by *Sphingomonas paucimobilis* in biofilm formation and composition. **Biofouling**, v. 16, n.1, p. 17-27, 2000.